

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATJA DEBELAK

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2015

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATJA DEBELAK

**VREDNOTENJE MIKROBIOLOŠKE KAKOVOSTI OKOLJA ZA PRIPRAVO
FARMACEVTSKIH IZDELKOV ZA PARENTERALNO UPORABO NA
ODDELKU ZA INTENZIVNO TERAPIJO KLINIČNEGA ODDELKA ZA
ANESTEZIOLOGIJO IN INTENZIVNO TERAPIJO OPERATIVNIH STROK V
UNIVERZITETNEM KLINIČNEM CENTRU LJUBLJANA**

EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL QUALITY OF THE ENVIRONMENT FOR
PREPARATION OF PARENTERAL MEDICATIONS IN INTENSIVE CARE UNIT OF
THE CLINICAL DEPARTMENT FOR ANAESTHESIOLOGY AND INTENSIVE
CARE OF OPERATIONAL BRANCHES AT UNIVERSITY MEDICAL CENTRE
LJUBLJANA

Ljubljana, 2015

Magistrsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo, na Katedri za socialno farmacijo, pod mentorstvom doc. dr. Igorja Locatellija, mag. farm. in v Univerzitetnem kliničnem centru Ljubljana pod somentorstvom asist. mag. Andreje Čufar, mag. farm., spec.

Mikrobiološke analize je opravil Laboratorij za diagnostiko bolnišničnih infekcij in nadzor sterilnosti, Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete, Univerze v Ljubljani.

Zahvala

Iskreno se zahvaljujem mentorju doc. dr. Igorju Locatelliju in somentorici asist. mag. Andreji Čufar za pomoč in usmerjanje pri pisanju magistrske naloge.

Prav tako se iskreno zahvaljujem farmacevtom iz Lekarne UKC Ljubljana, še posebej Simoni Mitrovič, Tanji Torkar in Mateju Vehovcu za nasvete, znanja, ki so mi jih predali in pomoč pri izvajanju eksperimentalnega dela.

Zahvala tudi Dragici Karadžić in ostalim zaposlenim iz Oddelka za intenzivno terapijo KOAIT, UKC Ljubljana.

Posebna zahvala gre družini, fantu Davidu in prijateljem za podporo tekom študija.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom doc. dr. Igorja Locatellija, mag. farm. in somentorstvom asist. mag. Andreje Čufar, mag. farm., spec.

Katja Debelak

Magistrska komisija

Predsednik: izr. prof. dr. Matjaž Jeras, mag. farm.

Mentor: doc. dr. Igor Locatelli, mag. farm.

Somentorica: asist. mag. Andreja Čufar, mag. farm., spec.

Član: doc. dr. Tomaž Bratkovič, mag. farm.

KAZALO VSEBINE

1 UVOD.....	1
1.1 Organizacija dela na Oddelku za intenzivno terapijo Kliničnega oddelka za anesteziologijo in intenzivno terapijo operativnih strok.....	1
1.2 Priprava farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo.....	2
1.3 Bolnišnične okužbe.....	7
1.3.1 Epidemiologija bolnišničnih okužb v enotah intenzivne terapije v Sloveniji.....	8
1.3.2 Preprečevanje bolnišničnih okužb.....	9
1.4 Vrste bakterij in plesni v bolnišničnem okolju	12
1.4.1 Vrste bakterij v bolnišničnem okolju	12
1.4.2 Plesni	15
2 NAMEN DELA	16
3 MATERIALI IN METODE	17
3.1 Izbira kliničnega okolja	17
3.2 Opazovanje pogojev in načina priprave farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo na Oddelku za intenzivno terapijo KOAIT.....	18
3.3 Mikrobiološki nadzor okolja.....	19
3.3.1 Metode za mikrobiološki nadzor zraka	19
3.3.2 Mikrobiološki nadzor snažnosti delovnih površin, površin vsebnikov in snažnosti rok z mokrimi brisi.....	22
3.3 Statistična analiza	25
4 REZULTATI IN RAZPRAVA	26
4.1 Opis pogojev in načina priprave farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo na Oddelku za intenzivno terapijo KOAIT.....	26
4.2 Mikrobiološki nadzor zraka	28
4.2.1 Mikrobiološki nadzor zraka s presesavanjem	28
4.2.2 Mikrobiološki nadzor zraka s sedimentacijskimi ploščami	31
4.2.3 Ukrepi po mikrobiološkem nadzoru zraka	34
4.3 Kontrola snažnosti delovnih površin	34
4.3.1 Primerjava snažnosti med nerazkuženimi in razkuženimi delovnimi površinami pred pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo	34
4.3.2 Primerjava učinkovitosti 0,25 % raztopine Surfanios citron in robčkov Klerwipe® -70/30	35

4.3.3 Primerjava snažnosti delovnih površin pred in po pripravi farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo	37
4.3.4 Ukrepi po kontroli snažnosti delovnih površin	39
4.4 Kontrola snažnosti rok	40
4.4.1 Učinkovitost samostojnega razkuževanja rok, v primerjavi z umivanjem in razkuževanjem v izolacijskih in čistih sobah	40
4.4.2 Primerjava izoliranih bakterijskih vrst med izolacijskimi in čistimi sobami	44
4.4.3 Primerjava snažnosti rok pred in po pripravi farmacevtskih izdelkov	45
4.4.4 Ukrepi po kontroli snažnosti rok	47
4.5 Kontrola snažnosti površin vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo	48
4.5.1 Pregled vzorčenih vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo	48
4.5.2 Primerjava snažnosti površin vsebnikov glede na material stične ovojnine	48
4.5.3 Primerjava snažnosti površin vsebnikov glede na mesto vzorčenja	49
4.5.4 Primerjava snažnosti površin vsebnikov v fazi pred pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo med izolacijskimi in čistimi sobami	50
4.5.5 Pregled snažnosti vsebnikov v fazi po pripravi farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo	52
4.5.6 Kontrola snažnosti površin odprtih večodmernih vsebnikov	53
4.5.7 Ukrepi po kontroli snažnosti površin vsebnikov	58
5 SKLEP	61
6 LITERATURA	63
7 PRILOGE	68

KAZALO SLIK

Slika 1: SAS Super ISO 180	21
Slika 2: Vzorčena mesta na mini-spiku	24
Slika 3: Površina rok z različno obarvanimi deli, glede na temeljitost higiene	25
Slika 4: Delovni pult	26
Slika 5: Oprema delovne površine	27
Slika 6: Zgradba mini-spika	54

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Razdelitev čistih prostorov v razrede, glede na maksimalno število prepuščenih delcev v fazi mirovanja in fazi delovanja.....	4
Preglednica II: Priporočene omejitve za mikrobiološki nadzor čistih prostorov med proizvodnim postopkom.	5
Preglednica III: ISO klasifikacija čistih prostorov.	5
Preglednica IV: Prikaz povezav med klasifikacijami treh standardov za čiste prostore.....	6
Preglednica V: Epidemiologija BO v EIT v Sloveniji.	9
Preglednica VI: Sestava krvnega agarja (podatki IMI).	20
Preglednica VII: Sestava gojišča SAB (podatki IMI).	21
Preglednica VIII: Sestava gojišča DG18 (podatki IMI).	22
Preglednica IX: Pregled površin, ki smo jih vključili v raziskavo.	24
Preglednica X: Rezultati mikrobiološkega nadzora zraka s presesavanjem v izolacijskih in čistih sobah.	29
Preglednica XI: Mikrobiološki nadzor zraka v izolacijskih in čistih sobah s sedimentacijskimi ploščami.	31
Preglednica XII: Spekter bakterijskih vrst v zraku izolacijskih sob.	32
Preglednica XIII: Spekter bakterijskih vrst v zraku čistih sob.	32
Preglednica XIV: Kontrola snažnosti delovnih površin pred pripravo farmacevtskih izdelkov v izolacijskih in čistih sobah.	35
Preglednica XV: Testiranje učinkovitosti 0,25 % raztopine Surfanios citron in robčkov Klerwipe®-70/30.	36
Preglednica XVI: Mikrobiološki rezultati kontrole snažnosti delovnih površin pred in po pripravi farmacevtskih izdelkov v izolacijskih sobah.	37
Preglednica XVII: Mikrobiološki rezultati kontrole snažnosti delovnih površin pred in po pripravi farmacevtskih izdelkov v čistih sobah.	38
Preglednica XVIII: Kontrola snažnosti rok pred delom v izolacijskih sobah.	40
Preglednica XIX: Spekter bakterijskih vrst na umitih in razkuženih rokah v izolacijskih sobah.	41
Preglednica XX: Spekter bakterijskih vrst na razkuženih rokah v izolacijskih sobah.	41
Preglednica XXI: Kontrola snažnosti rok pred delom v čistih sobah.	42
Preglednica XXII: Spekter bakterijskih vrst na umitih in razkuženih rokah v čistih sobah.	43
Preglednica XXIII: Spekter bakterijskih vrst na razkuženih rokah v čistih sobah.	43
Preglednica XXIV: Pregled vzorčenih površin vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo v izolacijskih in čistih sobah.	48
Preglednica XXV: Kontrola snažnosti površin vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo, glede na material stične ovojnine.	49
Preglednica XXVI: Kontrola snažnosti površin vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo, glede na mesto vzorčenja.	49
Preglednica XXVII: Mikrobiološki nadzor snažnosti površin vsebnikov pred začetkom dela v izolacijskih in čistih sobah.	50
Preglednica XXVIII: Spekter bakterijskih vrst na vsebnikih v izolacijskih sobah.	51

Preglednica XXIX: <i>Spekter bakterijskih vrst na vsebnikih v čistih sobah.</i>	51
Preglednica XXX: <i>Pregled vzorčenih površin odprtih vsebnikov v izolacijskih in čistih sobah.</i>	54
Preglednica XXXI: <i>Mikrobiološki nadzor snažnosti odprtih vsebnikov s pladnjev v izolacijskih in čistih sobah.</i>	55
Preglednica XXXII: <i>Spekter bakterijskih vrst na večodmernih odprtih vsebnikih v izolacijskih sobah.</i>	56
Preglednica XXXIII: <i>Spekter bakterijskih vrst na večodmernih odprtih vsebnikih v čistih sobah.</i>	56

POVZETEK

Na Oddelku za intenzivno terapijo Kliničnega oddelka za anesteziologijo in intenzivno terapijo operativnih strok UKC Ljubljana, se zdravijo bolniki, pri katerih poteka aplikacija zdravil po parenteralni poti. Postopki priprave parenteralnih izdelkov so tesno povezani s tveganjem za bolnišnične okužbe. Sterilnost izdelkov mora biti zagotovljena na vseh stopnjah njihove priprave, kar omogoča aseptični postopek, v nasprotnem primeru pa proizvajalec ne odgovarja za mikrobiološko kakovost pripravkov. Večino farmacevtskih izdelkov pripravljajo medicinske sestre v dveh tipih bolniških sob, izolacijskih in čistih. Akreditacijska presoja za pridobitev Mednarodne akreditacije DNV za bolnišnice je prostore, kjer poteka priprava zdravil, označila kot neustrezne.

Namen naloge je bil raziskati pogoje za pripravo ustreznih parenteralnih izdelkov, ki poteka v sobah na oddelku. V ta namen smo izvedli nadzor mikrobiološke kakovosti po standardnem operativnem postopku za mikrobiološki nadzor čistih prostorov, Lekarne Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana (UKCL). Osredotočili smo se na dejavnike, ki lahko vplivajo na mikrobiološko kakovost teh izdelkov.

Na začetku smo opazovali pogoje, v katerih poteka priprava sterilnih farmacevtskih izdelkov, in način dela medicinskih sester. Nato smo izvedli mikrobiološki nadzor okolja. Analizo vzorcev so izvedli na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete, UL. Mikrobiološko kakovost zraka v bolniških sobah smo ovrednotili z dvema metodama. Z mikrobiološkim nadzorom z mokrimi brisi smo preverili snažnost delovnih površin, snažnost rok medicinskih sester in snažnost površin vsebnikov.

Ugotovili smo, da kvaliteta zraka v sobah, kjer poteka priprava farmacevtskih izdelkov ni primerna. Prostor za pripravo zdravil mora biti ločen, zaprt in opremljen samo z opremo, ki jo potrebujemo v ta namen. Raztopina, ki jo uporabljajo za razkuževanje delovnih površin, se je izkazala kot neustrezna. Razkuževanje je nujno potrebno izvajati s sterilnimi alkoholnimi robčki. Pri pripravi zdravil moramo uporabljati rokavice, saj s tehniko umivanja in razkuževanja rok ne odstranimo vseh mikroorganizmov. Orokavičene roke mora osebe razkuževati z alkoholnimi robčki tako pred kot med pripravo zdravil. Razen uporabe rokavic je potrebna tudi uporaba zaščitnega pokrivala in maske. Vsebnike moramo pred shranjevanjem v omare obrisati z vlažno krpo. Nujno je razkuževanje vbodnih mest ter vratov ampul s posamezno pakiranimi sterilnimi alkoholnimi robčki. Štiriindvajset urno shranjevanje ostankov v večodmernih vsebnikih v nekontroliranem okolju ni sprejemljivo.

Te lahko uporabimo znotraj ene ure, kar velja tudi za aplikacijo sveže pripravljenega farmacevtskega izdelka.

KLJUČNE BESEDE

Mikrobiološka kakovost, bolnišnično okolje, farmacevtski izdelek za parenteralno uporabo, bolnišnične okužbe

ABSTRACT

Patients at the Intensive Care unit of the Clinical department for Anaesthesiology and Intensive Care of Operational Branches undergo medication administration by the parenteral route. The methods of preparation of parenteral medications are closely linked to the risk of hospital infections. Sterility of products must be ensured at all stages of preparation, which is ensured by the aseptic technique, otherwise the manufacturer is not responsible for the microbiological quality of products. Preparation of the majority of pharmaceutical medications is carried out by nurses in two types of hospital rooms (isolated and clean). Accreditation audit to obtain international accreditation DNV for hospitals characterized the premises, where the preparation of medications is executed, as inadequate.

The aim of this master's thesis was to investigate the conditions for the preparation of parenteral medications, which takes place in the rooms of the department. To this end, we conducted a microbiological quality control according to the standard operating procedure by the Pharmacy of University Medical Centre Ljubljana (UKCL) for microbiological control of clean rooms. We have focused on factors that may affect the microbiological quality of these products.

At the outset, we monitored the conditions in which the preparation of sterile pharmaceutical medications is executed and the medication preparation protocols used by nurses. Then we conducted microbiological environmental monitoring. The analysis of samples was carried out by the Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine UL. We evaluated the microbial air quality in patient rooms using two methods. The microbiological control with wet swabs tested cleanliness of work surfaces, cleanliness of hands of nurses and cleanliness of surfaces of containers.

We found that the air quality in rooms, where the preparation of pharmaceutical medications is executed, is not appropriate. The premises for the preparation of medicaments should be separated, closed off, housing only the equipment which may be required in the preparation thereof. The solution which is used to disinfect work surfaces has proven to be inadequate. Disinfection using sterile alcohol wipes is necessary. Gloves must be used during medicament preparation, as the technique of cleaning and disinfecting hands cannot remove all microorganisms. Gloved hands should be disinfected with alcohol wipes before and during preparation. In addition to gloves, disposable mob caps and masks

are also required. The containers must be stored in cabinets; containers must be cleaned with a damp cloth prior to storing. It is necessary to disinfect injection sites and necks of ampoules with a single packaged sterile alcohol wipe. 24-hour storage of residues in multi-dose containers in an uncontrolled environment is not acceptable. These residues may be used within one hour, which is also true for the application of the prepared pharmaceutical medication.

KEYWORDS

Microbiological quality, hospital environment, pharmaceutical preparation for parenteral use, hospital infections

SEZNAM OKRAJŠAV

<i>Okrajšava</i>	<i>Razlaga</i>
BO	bolnišnična okužba
CFU	kolonijska enota
DG18	trdno gojišče Dikloran-glicerol
DIAS	Mednarodna akreditacija DNV za bolnišnice (angl. <i>DNV International Accreditation Standard</i>)
DNV	Akreditacijska neodvisna ustanova Det Norske Veritas
EC GGMP	evropske smernice za dobro proizvodno prakso za humana in veterinarska zdravila (angl. <i>European community Guidelines to Good Manufacturing Practice, Manufacture of Sterile Medicinal Products</i>)
EIT	enota intenzivne terapije
ESBL	beta laktamaze razširjenega spektra (angl. <i>extended spectrum beta lactamases</i>)
f₀	opazovana frekvenca
f_p	pričakovana frekvenca
HEPA-filter	visoko učinkovit zračni filter za odstranitev delcev (angl. <i>High-efficiency particulate air filter</i>)
IMI	Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo
ISO 14644-1	mednarodni standard za klasifikacijo čistih prostorov glede na čistoto zraka
KOAIT	Klinični oddelek za anesteziologijo in intenzivno terapijo operativnih strok
LAF	komora z laminarnim pretokom zraka (angl. <i>Laminar air flow cabinet</i>)
MRSA	proti meticilinu odporni sevi <i>Staphylococcus aureus</i> (angl. <i>methicillin resistant Staphylococcus aureus</i>)
OR	razmerje obetov (angl. <i>Odds ratio</i>)
p	značilnost statističnega testa

PIC/S GPP	smernice za dobro pripravo farmacevtskih pripravkov v zdravstvenih ustanovah (angl. <i>Guide to Good Practices for the Preparation of Medical Products in Healthcare Establishments</i>)
RODAC	plošča RODAC (angl. <i>Replicate Organism Detection and Counting</i>)
SAB	trdno gojišče Sabouraud
SAS	prenosni vzorčevalnik zraka (ang. <i>Surface air system</i>)
SOP	standardni operativni postopek
UKC	Univerzitetni klinični center
UKCL	Univerzitetni klinični center Ljubljana
USP	ameriška farmakopeja (angl. <i>United States Pharmacopeia</i>)
VRE	enterokoki, odporni proti vankomicinu (angl. <i>Vancomycin-resistant enterococcus</i>)
ZZZS	Zavod za zdravstveno zavarovanje Slovenije
WHO	Svetovna zdravstvena organizacija (angl. <i>World Health Organization</i>)

1 UVOD

1.1 Organizacija dela na Oddelku za intenzivno terapijo Kliničnega oddelka za anesteziologijo in intenzivno terapijo operativnih strok

Na Oddelku za intenzivno terapijo Kliničnega oddelka za anesteziologijo in intenzivno terapijo operativnih strok (KOAIT) se zdravijo bolniki z vseh kirurških oddelkov Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana (UKCL). Opredelimo lahko dve najpomembnejši indikaciji za sprejem na ta oddelek, in sicer nestabilno stanje bolnikov z zmanjšanim delovanjem ali odpovedjo življenjsko pomembnih organov in stanje bolnikov, ki so zaradi nevarnosti za nastanek zdravstvenega zapleta potrebni posebnega načina nadzora s hitrim in ustreznim ukrepanjem. Na Oddelek za intenzivno terapijo KOAIT so sprejeti bolniki s kirurškega dela Centralnega urgentnega bloka ali preko Ambulante A Centralnega urgentnega bloka, bolniki s kirurških oddelkov zaradi poslabšanja zdravstvenega stanja, zaradi priprave na zahteven operativni poseg, po zahtevnih operativnih posegih, po reanimaciji, transplantaciji čvrstih organov (razen srca) ter bolniki Transplantacijskega centra Ljubljana za donorski program. Zdravstveno oskrbo zagotavljajo v šestih bolniških sobah, štirih velikih (številke sob: 1, 2, 9, 10) in dveh manjših (številki sob: 11, 12). Nahajajo se v dveh ločenih traktih, in sicer sobi 1 in 2 v enem, ostale štiri pa v drugem. Kapaciteta oddelka je 20 bolniških postelj, v izjemnih primerih je možno zagotoviti zdravljenje 24 bolnikov (1). Glede na infekcijsko stanje bolnikov so bolniške sobe organizacijsko razdeljene na čiste in izolacijske. Koliko bolniških sob je izolacijskih, je povsem odvisno od števila okuženih oziroma koloniziranih bolnikov, ki jih morajo nastaniti v njih. Posledica tega je, da se lahko izolacijska bolniška soba po generalnem čiščenju preoblikuje v čisto. Namen izolacijskih bolniških sob je preprečitev možnosti nastanka in širjenja kolonizacije z epidemiološko pomembnimi mikroorganizmi. Delovna skupina pri Ministrstvu za zdravje Republike Slovenije predvideva, za uspešno obvladovanje stanja v izolacijskih sobah, predpisane ukrepe, ki se nanašajo na higieno rok, uporabo osebne varovalne opreme, prevoz in način namestitve bolnika v bolniško sobo, konstrukcijo in ureditev prostorov, prezračevanje, nadzor nad kadrovsko zasedenostjo, obiskovalci, itd (2). Glede na način preprečevanja širjenja okužb, povezanih z zdravstvenimi postopki in/ali hospitalizacijo bolnika, ločimo kapljično, aerogeno in kontaktno izolacijo. Kapljična izolacija preprečuje prenos okužbe s kapljicami bolnika ob kašljanju, kihanju, govorjenju in aspiraciji. Vzpostavljena aerogena izolacija

preprečuje okužbe z vdihavanjem okuženega zraka. Ukrepi kontaktne izolacije pa preprečujejo neposreden prenos od okužene ali kolonizirane osebe in posreden prenos preko osebja z rokami, delovno obleko in stikom z okuženimi predmeti, pripomočki ter površinami (2). Na oddelku je najpogosteje vzpostavljena kontaktna izolacija za bolnike s kolonizacijo ali okužbo z večkratno odpornimi mikroorganizmi ali za bolnike z bolezenskimi znaki in kliničnimi simptomi, ki predstavljajo dejavnik tveganja za kolonizacijo z odpornimi mikroorganizmi MRSA (proti meticilinu odporni sevi *Staphylococcus aureus*, angl. *methicillin resistant Staphylococcus aureus*), ESBL (beta laktamaze razširjenega spektra, angl. *extended spectrum beta lactamases*, kot so *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* in drugi Gram negativni bacili), VRE (enterokoki, odporni proti vankomicinu, angl. *Vancomycin-resistant enterococcus*, kot sta *Enterococcus faecium* in *Enterococcus faecalis*) in *Acinetobacter baumannii*. Vsi omenjeni mikroorganizmi imajo zelo dolgo sposobnost preživetja v bolnišničnem okolju (3). Druga oblika izolacije je zaščitna ali protektivna. Z njo preprečujejo okužbe pri hospitaliziranih bolnikih s presaditvijo čvrstih organov in kostnega mozga (2). Čiste bolniške sobe pa so namenjene za nastanitev bolnikov, pri katerih ob sprejemu na oddlek ni znana prisotnost večkratno odpornih mikroorganizmov. Ob hospitalizaciji vedno odvzamejo presejalne kužnine, da lahko odkrijejo nosilce večkratno odpornih mikroorganizmov. Če so izvidi pozitivni, sledi takojšnja kontaktna izolacija in dekolonizacija bolnika, da se zmanjša možnost prenosa na druge (4).

1.2 Priprava farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo

Farmacevtski izdelki za parenteralno uporabo so sterilni pripravki, namenjeni za dajanje z injekcijo, infuzijo ali implantacijo v človeško ali živalsko telo mimo prebavil (5). Sterilnost izdelkov mora biti zagotovljena na vseh stopnjah njihove priprave, vse do končne aplikacije. Za zdravila, ki so namenjena za parenteralno uporabo, proizvajalci v povzetku glavnih značilnosti zdravil podajajo navodila za pripravo na aplikacijo, ki lahko zajema rekonstitucijo praška, redčenje koncentrata, dodajanje različnih nosilnih raztopin, topil, dodatkov ali pa izvesti prenos iz vsebnika v brizgo. V nekaterih primerih pa je za pripravo potrebno zgolj odstraniti zaščitno zaporke in namestiti prebodno iglo za neposredno aplikacijo. Proizvajalci navajajo tudi fizikalno in kemijsko stabilnost pripravljene raztopine, glede na pogoje shranjevanja (hladilnik, sobna temperatura). Glede

mikrobiološke stabilnosti proizvajalci navajajo, da je ta odvisna od pogojev priprave. Za ohranitev sterilnosti izdelka, ki ga pripravimo iz predhodno sterilnih sestavin, mora njihova priprava potekati po aseptičnem postopku, v nasprotnem primeru je za mikrobiološko kakovost pripravka odgovoren uporabnik sam. Farmacevtski terminološki slovar aseptični postopek opisuje kot postopek, s katerim se ohranja sterilnost izdelka z uporabo predhodno steriliziranih vhodnih surovin, naprav, pripomočkov in ovojnine, v pogojih, ki izključujejo kontaminacijo z mikroorganizmi (6).

Priprava velike večine farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo za potrebe bolnikov, ki se zdravijo v UKCL, poteka decentralizirano na kliničnih oddelkih, v nekontroliranih pogojih. Zdravstveno stanje bolnikov zahteva hitro pripravo in aplikacijo zdravil, zato ni mogoče vzpostaviti centralizirane priprave v bolnišnični lekarni. Aseptičnih pogojev za pripravo izdelkov za parenteralno aplikacijo pa na oddelku ni mogoče zagotoviti, saj kader, prostori in organizacija dela v sedanjih razmerah tega ne dopuščajo. Rekonstitucijo in pripravo zdravil za aplikacijo na oddelku izvajajo medicinske sestre. Pripravo zdravil v zdravstvenih ustanovah ureja Resolucija CM/ResAP (2011)¹ (angl. *Resolution CM/ResAP (2011)1*) (7), ki jo je sprejel Odbor ministrov Sveta Evrope leta 2011 v Strasbourgu. Gre za javno izjavo o zahtevah za zagotavljanje kakovosti in varnosti za zdravila, ki se pripravljajo v bolnišničnih ali javnih lekarnah za potrebe posameznih bolnikov, za katere zaradi njihovega zdravstvenega stanja na trgu ni na voljo ustreznega registriranega zdravila. Določba zajema magistralne pripravke, pripravke na zalogo, velja pa tudi za rekonstitucijo farmacevtskih pripravkov na kliničnih oddelkih. Na splošno naj bi rekonstitucija zdravil potekala v lekarni, ob predpostavki, da ta zagotavlja aseptične pogoje za varno pripravo sterilnih farmacevtskih izdelkov. Rekonstitucija farmacevtskih izdelkov z nizkim tveganjem pa se lahko izvaja tudi na kliničnih oddelkih, po pisnih navodilih farmacevta, o pripravi zdravil za parenteralno uporabo in zagotovilu, da je osebje, ki sodeluje pri rekonstituciji, ustrezno usposobljeno (7).

Centralizirana priprava v nadzorovanih in preverjenih aseptičnih pogojih v bolnišnični lekarni UKCL je zagotovljena le za tiste pripravke, ki so zahtevnejši za pripravo, kot so popolna parenteralna prehrana ter pripravki s citostatiki in radiofarmacevtiki. V lekarni se izdelujejo tudi oftalmiki, saj se lahko pripravijo v ustreznem času po naročilu z oddelka bolnišnice.

V proizvodnji sterilnih izdelkov veljajo posebne zahteve, da se zmanjša tveganje za kontaminacijo z mikroorganizmi, delci in pirogeni. Kvaliteta pripravka je odvisna od

pogojev, prostorov in naprav, v katerih pripravljamo izdelek za parenteralno uporabo, ter osebja, ki rokuje s pripravki. Splošna načela za proizvodnjo sterilnih farmacevtskih izdelkov so predstavljena v evropskih smernicah za Dobro proizvodno prakso, Dodatek 1 (EC GGMP, Annex 1, angl. *European community Guidelines to Good Manufacturing Practice, Manufacture of Sterile Medicinal Products, Annex 1*) (8). EC GGMP, Dodatek 1 je namenjen industrijski proizvodnji farmacevtskih pripravkov, za zdravstvene ustanove pa veljajo smernice za dobro pripravo farmacevtskih pripravkov v zdravstvenih ustanovah (PIC/S GPP, angl. *Guide to Good Practices for the Preparation of Medical Products in Healthcare Establishments*). Oba dokumenta povezuje Dodatek 1, ki se nanaša na sterilne farmacevtske pripravke (9). Ta ne ločuje priprave sterilnih farmacevtskih izdelkov v industriji napram centralizirani pripravi v bolnišnični lekarni, ampak velja za vsa območja, kjer poteka priprava sterilnih farmacevtskih izdelkov.

Priprava sterilnih farmacevtskih izdelkov mora potekati v čistih prostorih. V uporabi sta dva standarda za klasifikacijo čistih prostorov, in sicer EC GGMP in ISO 14644-1, uporabo ameriškega standarda US Federal Standard 209 E, ki razvršča čiste prostore v razrede od 1 do 100 000, pa so novembra 2001 uradno preklicali in jih nadomestili z ISO 14644-1 (10).

Čisti prostori so glede na standard EC GGMP razdeljeni v štiri razrede, glede na stopnjo čistosti zraka: A, B, C, D. Klasifikacija se nanaša na maksimalno dovoljeno število prisotnih delcev na kubični meter (m^3) zraka, za fazo mirovanja oziroma fazo delovanja (Preglednica I) in na priporočene omejitve za mikrobiološko nadzorovanje čistih prostorov med proizvodnim procesom (Preglednica II) (8, 10).

Preglednica I: *Razdelitev čistih prostorov v razrede, glede na maksimalno število prepuščenih delcev v fazi mirovanja in fazi delovanja.*

Razred	Faza mirovanja		Faza delovanja	
	Maksimalno dovoljeno število delcev na m ³ zraka			
	0,5 μm	5 μm	0,5 μm	5 μm
A	3 520	20	3 520	20
B	3 520	29	352 000	2 900
C	352 000	2 900	3 520 000	29 000
D	3 520 000	29 000	ni določeno	ni določeno

Preglednica II: Priporočene omejitve za mikrobiološki nadzor čistih prostorov med proizvodnim postopkom.

Razred	Priporočene zahteve za mikrobiološko kontaminacijo (a)			
	Vzorec zraka CFU/m ³	Petrijevke (premer 90 mm), CFU/4 ure (b)	Kontaktne ploščice (premer 55 mm), CFU/ploščo	Odtis rokavice 5 prstov CFU/rokavico
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

Opombe:

(a) To so povprečne vrednosti

(b) Posamezne petrijevke so lahko izpostavljene manj kot 4 ure.

Glede na standard ISO 14644-1 so čisti prostori razdeljeni v 9 razredov ISO (Preglednica III). Ti se nanašajo na maksimalno dovoljeno število prisotnih delcev med delovnim postopkom v zraku in ne upoštevajo prisotnosti mikroorganizmov (10).

Preglednica III: ISO klasifikacija čistih prostorov.

Razred	Največje dovoljeno število delcev v zraku (delci v vsakem m ³ , ki so po velikosti enaki ali večji od navedenih v razpredelnici)					
	Velikost delcev					
	0,1µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm
ISO 1	10	2				
ISO 2	100	24	10	4		
ISO 3	1000	237	102	35	8	
ISO 4	10000	2370	1020	352	83	
ISO 5	100000	23700	10200	3520	832	29
ISO 6	1000000	237000	102000	35200	8320	293
ISO 7				352000	83200	2930
ISO 8				3520000	832000	29300
ISO 9				35200000	8320000	293000

Za uporabo v farmacevtski industriji so aktualni razredi od ISO 5 do ISO 8, ki približno ustrezajo klasifikaciji EC GGMP. Preglednica IV prikazuje povezave med vsemi tremi omenjenimi standardi (EC GGMP, US Federal Standard 209 E, ISO 14644-1), in sicer glede na maksimalno dovoljeno število delcev/m³ zraka v fazi mirovanja po standardu EC GGMP (8, 10).

Preglednica IV: Prikaz povezav med klasifikacijami treh standardov za čiste prostore.

Klasifikacija čistega prostora	Razred čistega prostora glede na stopnjo čistote zraka			
GMP	A	B	C	D
ISO 1464-1	ISO 5	ISO 5/ISO 6	ISO 7	ISO 8
US Federal Standard 209 E	100	100/1000	10 000	100 000

Razreda ISO 5 in 100 ustrezata razredu A, razreda ISO5/ISO6 in 100/1000 razredu B, razreda ISO 7 in 10 000 razredu C, razreda ISO 8 in 100 000 pa razredu D.

Po evropskih smernicah za Dobro proizvodno prakso mora vhod v čiste prostore za osebje, opremo in material potekati skozi zračne zapore. Med posameznimi sosednjimi prostori mora biti razlika v tlakih med 10 in 15 pascalov (Pa). Filtriran dovod zraka mora ohranjati nadtlak glede na čisti prostor nižjega razreda. Čisti prostori morajo biti vzdrževani po predpisanem postopku čiščenja in oskrbljeni z zrakom ustrezne kvalitete, kar dosežemo s filtracijo skozi HEPA-filtre (angl. *High-efficiency particulate air filter*). Ti filtri odstranijo delce velikosti 0,3 μm z več kot 99,97 % učinkovitostjo (8, 10). Pripravki izdelani pod aseptičnimi pogoji morajo biti pripravljani v pogojih čistote razreda A (komora z laminarnim pretokom zraka (LAF angl. *Laminar air flow cabinet*)), v prostoru čistote razreda B ali pa je potrebno pripravek sterilizirati v končni ovojnini. Komora LAF je naprava, ki se v glavnem uporablja pri pripravi sterilnih farmacevtskih pripravkov. Zrak se filtrira skozi HEPA-filtre in piha s konstantno hitrostjo 0,36-0,56 m/s vertikalno ali horizontalno glede na pripravljavca farmacevtskih pripravkov. Čisti prostori imajo svoje zahteve tudi glede površin, ki morajo biti gladke in nepoškodovane, da se lahko enostavno očistijo in dezinficirajo, enako velja za tla z zaobljenimi koti. V prostorih je lahko le potrebna oprema za pripravo, da se zmanjša nabiranje prahu, turbulenca zraka in olajša čiščenje (8,10). Med aseptično pripravo izdelkov je lahko v čistem okolju prisotno le minimalno število oseb. Osebje, vključno s tistimi, ki se ukvarjajo s čiščenjem in vzdrževanjem, naj bi obiskovalo redna izobraževanja, ki so pomembna za pravilno izdelavo sterilnih izdelkov. Zavedati se mora visokega pomena osebne higiene, poročati o manjših okužbah, obolenjih in obiskovati redne medicinske preglede. Osebna varovalna oprema mora biti primerna, njena kvaliteta pa mora ustrezati glede na položaj znotraj določenega območja. V prostorih razreda A/B mora pokrivalo popolnoma pokriti lase in kjer je potrebno tudi brado oz. brke. Potrebno je nositi obrazno masko, sterilne in nepudrane gumijaste ali plastične rokavice ter sterilno obutev. Sterilna zaščitna obleka ne

sme puščati delcev in vlaken. Rokavice morajo biti med pripravo redno razkužene po vsakem koraku. Maska in rokavice se morajo zamenjati ob koncu vsake priprave (8).

1.3 Bolnišnične okužbe

Definicija bolnišničnih okužb (BO) v Zakonu o nalezljivih boleznih Republike Slovenije (Uradni list RS, št. 69/95 z dne 1. 12. 1995) se glasi: *»Bolnišnične okužbe so okužbe, ki so v neposredni vzročni zvezi z izpostavljenostjo pri postopkih diagnostike, zdravljenja, zdravstvene nege, rehabilitacije ali pri drugih postopkih v zdravstveni dejavnosti«* (11).

V zadnjem času se vse bolj uveljavlja izraz okužbe, povezane z zdravstveno oskrbo, ki natančneje opisuje, da ne gre le za okužbe v bolnišnicah, ampak v vseh zdravstvenih zavodih oz. zavodih, v katerih se izvaja zdravstvena dejavnost, kakor tudi pri bolnikih, ki potrebujejo stalno medicinsko oskrbo na domu. Najpomembnejši delež predstavljajo BO, saj običajno prizadenejo najranljivejše skupine bolnikov (12). BO je vsaka klinična mikrobna bolezen, ki jo je dobil bolnik med hospitalizacijo v bolnišnici in ni bila prisotna ali v času inkubacije ob sprejemu (13). Lahko se pojavi več kot 48 ur po sprejemu v bolnišnico, pri kirurških ranah do 30 dni po operativnem posegu, pri vsadkih do 12 mesecev po operativnem posegu in v manj kot 48 urah po odpustu iz bolnišnice, ko klinična slika bolezni med hospitalizacijo še ni bila izražena (13, 14). Vključuje tudi okužbe zdravstvenega osebja, ki dela v bolnišnici. Kolonizacije mikroorganizmov v/n gostitelju, ki se ne razmnožujejo in ne povzročajo obolenja ali znakov bolezni, ne opredeljujemo kot BO, lahko pa predstavlja povod za širjenje patogenih in oportunističnih mikroorganizmov in za razvoj BO kot bolezni (13). BO lahko povzročijo virusi, ki predstavljajo 5 % vseh BO, paraziti in glive, najštevilčnejše okužbe pa povzročajo bakterije (15). Med dejavnike tveganja sodijo dolžina bivanja v bolnišnici, oblika bolezni, imunska oslabelost bolnika ter vrsta in število invazivnih postopkov, kot so osrednji in periferni žilni katetri, urinski katetri, operacije, endoskopije, umetna ventilacija in drugo (13, 15). BO delimo na okužbe sečil, ki zavzemajo največji delež bolnišničnih okužb (40 %), okužbe kirurških ran, ki predstavljajo 20 do 25 % vseh okužb, bolnišnične pljučnice, katerih delež znaša 15 do 23 %, ter bakteriemije in sepse v obsegu 10 %, med katerimi je 5 % seps in ostalih okužb. Sepsa pogosto nastanejo zaradi vstavljenih žilnih katetrov in so v visokem deležu (20 do 50 %) usodne za bolnike (14, 16). Do okužb lahko pride preko infuzijskega sistema s kužninami z rok ali rokavic osebja, ki jih ne menjavajo po končanem posegu, nesterilnih instrumentov, nečiste kože na mestu vboda in

kontaminiranih infuzijskih tekočin (13, 15). V 65 % je koža glavni vir kolonizacije zunanje površine katetra. Kolonizacija notranjih površin katetrov se pojavi v 30 % in je posledica uporabe nesterilnih instrumentov. Okužbe z infuzijsko raztopino so redke (5 %) in so verjetnejše pri bolnikih z oslabljenim imunskim odzivom (15). Rizični dejavnik za razvoj okužbe predstavlja hospitalizacija na enotah intenzivne terapije (EIT), kjer je delež pojavnosti BO med 15 in 30 %, na ostalih oddelkih pa se BO pojavijo pri 1 do 10 % bolnikov (3). Glavna dejavnika za povečan odstotek pojavnosti BO na EIT sta večje število invazivnih posegov, katerim so bolniki izpostavljeni, in večje število težje bolnih bolnikov (15).

1.3.1 Epidemiologija bolnišničnih okužb v enotah intenzivne terapije v Sloveniji

Epidemiološko spremljanje BO kot del programa preprečevanja in obvladovanja BO, ki ga predpisuje Zakon o nalezljivih boleznih Republike Slovenije, omogoča ocenjevanje njihove prevalence, na podlagi tega pa nato ustrezno načrtovanje aktivnosti za njihovo preprečevanje in obvladovanje. Gre za zbiranje podatkov o pojavljanju in porazdelitvi okužb ter dejavnikov, ki zvišujejo ali znižujejo tveganje zanje. Sledi analiza teh podatkov in poročanje Komisiji za obvladovanje bolnišničnih okužb (2). V Preglednici V so predstavljeni rezultati štirih raziskav: Raziskave 1 (Presečna raziskava na enotah intenzivne nege in terapije iz leta 1996), Raziskave 2 (SLOPIC-slovenska raziskava 2001-BO v štiriindvajsetih slovenskih intenzivnih enotah), Raziskave 3 (Prva slovenska nacionalna enodnevna presečna raziskava v devetnajstih slovenskih bolnišnicah, oktober 2001) in Raziskave 4 (Druga slovenska nacionalna enodnevna presečna raziskava v enaindvajsetih slovenskih bolnišnicah, oktober 2011). V EIT se je gibal delež bolnikov z najmanj eno bolnišnično okužbo med 26 in 35,7 %. Najpogostejši povzročitelji bolnišničnih okužb so bili *Pseudomonas aeruginosa*, enterobakterije (*Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*), *Staphylococcus aureus*, koagulaza-negativni stafilokoki, *Enterococcus* spp., *Acinetobacter* spp. (12, 13, 17, 18, 19, 20).

Preglednica V: *Epidemiologija BO v EIT v Sloveniji.*

	Delež bolnikov z vsaj 1 okužbo na EIT [%]	Delež okužb krvi [%]	Najpogostejši povzročitelji BO (okužbe krvi*)	Delež BO, ki jih je povzročila bakterija [%]
Raziskava 1 [12, 13]	26	4,7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Enterobakterije <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Acinetobacter</i> spp.	29,5 18,2 18,2 6,8
Raziskava 2 [17, 18]	26,8	11,1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Enterobakterije <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Acinetobacter</i> spp.	23,8 30,2 13,6 10,2
Raziskava 3 [12, 13, 17, 20]	26,9	3,6	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Koagulaza-neg. stafilokoki</i> <i>Enterococcus</i> spp.* <i>Acinetobacter</i> spp.*	18,2 10,2 7,5 15,4 23,1
Raziskava 4 [19]	35,7	5,8	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterobacter cloacae</i>	17 10,6 9,3 8 7,7 5,8

1.3.2 Preprečevanje bolnišničnih okužb

Ukrepi za preprečevanje bolnišničnih okužb so higiena rok, izolacija bolnikov, uporaba ustreznih zaščitnih sredstev, principov razkuževanja in sterilizacije, uporaba sterilnih materialov in tekočin, ločitev nečistih, čistih poti in postopkov, evidentiranje BO, ustrezno rokovanje s perilom in odpadki, neoporečnost hrane in vode, zaščita zdravstvenih delavcev (cepljenje) in higiensko vzdrževanje bolnikovega okolja (3). Najpomembnejši in najosnovnejši koncept za preprečevanje BO je higiena rok (21). Mikroorganizme, ki naseljujejo roke, lahko razdelimo v štiri skupine. Stalno normalno mikrobno populacijo predstavljajo mikroorganizmi, ki prebivajo in se razmnožujejo na povrhnjici in varujejo kožo pred naselitvijo patogenih in oportunističnih mikroorganizmov (13).

Patogeni mikroorganizmi imajo sposobnost, da povzročijo bolezen pri gostitelju. Patogenost je odvisna od lastnosti bakterij (virulentnih dejavnikov) in gostiteljeve imunske odzivnosti. Virulentni dejavniki bakterij so zmožnost kolonizacije telesnih površin in vdiranje v globlje ležeča tkiva in organe ter tvorba toksinov, s katerimi okvarjajo

gostiteljeve celice. Patogene bakterije z virulentnimi dejavniki povzročajo okužbe, pri katerih nastanejo patološke spremembe in klinični znaki bolezni. Bolezensko stanje se pokaže tudi kot posledica pretiranega imunskega odziva gostitelja. Oportunistični mikroorganizmi so del normalne mikrobne flore in v fizioloških okoliščinah ne škodujejo gostitelju. Ob vstopu v telesne predele, kjer fiziološko niso prisotni, ter ob zmanjšani imunski odpornosti gostitelja, se njihova patogenost poveča in povzročajo oportunistične okužbe. Zaradi te sposobnosti se imenujejo pogojni oz. oportunistični patogeni (16).

Prevladujoča bakterijska vrsta stalne normalne mikrobne flore je *Staphylococcus epidermidis*, sledijo *Staphylococcus hominis* in drugi koagulaza-negativni stafilokoki, bakterije iz rodov *Corynebacterium*, *Propionibacterium* in *Micrococcus*. Svetovna zdravstvena organizacija (WHO, angl. *World Health Organization*) navaja, da se na kvadratnem decimetru površine kože rok zdravstvenih delavcev nahaja skupno od 390 do 46 000 bakterij, ki so sposobne tvoriti kolonije (CFU/dm²) (22). Prehodna normalna populacija mikrobov se pojavi na rokah zaradi prenosa mikroorganizmov iz dihal ali prebavil ter stika z drugimi bolniki, okoljem in kontaminiranimi instrumenti. Bakterije prehodne normalne mikrobne populacije so *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* in druge (13). WHO (22) poroča o raziskavah Daschnerja, ki navaja, da je lahko na rokah zdravstvenih delavcev v EIT *Staphylococcus aureus* pri 21 % osebja in da ima 21 % zdravnikov ter 5 % medicinskih sester negovalk na rokah več kot 1000 CFU te bakterije (22). Prehodno stalna populacija nastane, če je koža izpostavljena isti mikrobni populaciji okolja s sočasnimi spremembami na koži, kot so uničenje stalne populacije, spremembe vlažnosti, temperature, pH in rane. Po okvari kože so roke dovzetne za naselitev in razmnoževanje mikroorganizmov. Nekatere bakterije so lahko povzročitelji nalezljivih vnetij na rokah in tako predstavljajo rezervoar patogenih mikroorganizmov (13).

V EIT je stalna mikrobna populacija enaka kot pri delu na drugih oddelkih bolnišnice. Število prehodne populacije pa je višje kot na običajnih oddelkih, saj je prisotnih več oportunističnih bakterij (23).

Higiena rok vključuje več dejavnosti, med katerimi so higiensko umivanje, higiensko razkuževanje, uporaba rokavic, vzdrževanje zdrave kože rok in izvajanje tehnike nedotikanja (21). V prilogi se nahaja shematičen prikaz pravilnega higienskega umivanja in razkuževanja rok (Priloga 1) (24). Za zmanjšanje možnost naganja bakterij na rokah

niso dovoljeni nakit ter dolgi, umetni nohti (23). WHO (22) se sklicuje na raziskavo Hoffmana in sodelavcev iz leta 1985, ki je pokazala, da 40 % medicinskih sester na koži pod prstani goji Gram negativne bakterije, kot so *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella* spp. in *Acinetobacter* spp., ki se lahko tam nahajajo tudi do en mesec (22).

Mila odstranijo lipide, na katerih se drži umazanija, zemlja, različne organske snovi in ohlapno prilepljeni mikroorganizmi prehodne flore. Protimikrobna aktivnost alkoholnih razkužil pa temelji na denaturaciji proteinov mikroorganizmov. Najbolj učinkovite so raztopine 60-80 % alkohola. Uporaba alkoholov pa ni priporočljiva takrat, ko so roke vidno umazane. V tem primeru je nujno predhodno umivanje rok z vodo in milom. Učinkovitost alkoholnih razkužil je odvisna od tipa alkohola, kontaktnega časa, koncentracije, volumna in vlažnosti rok, ko se alkohol uporabi (22). Prisotnost vlage zniža koncentracijo alkohola in tudi bolj izsuši kožo (21). Vodljivost pri umivanju rok v bolnišničnem okolju je na splošno manjša od 50% (25). Razlogi so v pomanjkanju informacij, izobraževanja, časa zaradi visoke obremenitve z bolniki, kot tudi v intoleranci kože na milo. Razkuževanje rok z alkoholi pogosto nadomešča umivanje z milom in vodo (25). Znano je, da je tako razkuževanje rok hitrejše in učinkovitejše od higienskega umivanja pri odstranitvi mikroorganizmov, saj jih tako odstranimo 100 do 1000-krat več, razen v primeru spor mikroorganizmov, ki jih lahko odstranimo le fizično (21). Razkuževanje rok prav tako preprečuje izstopanje stalne mikrobne populacije iz globljih plasti kože (2). Girou in sodelavci (26) so ugotovili, da razkuževanje rok s 75 % alkoholom zmanjša mikrobiološko kontaminacijo v povprečju za 83 % (razlika v vrednosti median), v primerjavi z umivanjem rok z milom in vodo, pri katerem se zmanjša kontaminacija v povprečju za 58 % (razlika v vrednosti median). Podobno dokazuje tudi študija Zaragoze in sodelavcev (26), in sicer da razkuževanje zmanjša število CFU v povprečju za 88,2 %, umivanje z vodo in milom pa v povprečju za 49,6 %. Kac in sodelavci (27) so v francoski bolnišnici izvedli mikrobiološko vrednotenje higiene rok. Sodelovalo je 50 zdravstvenih delavcev, od katerih jih je bilo 30 iz EIT. Z odvzemom odtisov dlani so po stiku z bolnikom izolirali 295 CFU/dm², po stiku z okoljem 545 CFU/dm², pred umivanjem rok 305 CFU/dm², po umivanju rok 80 CFU/dm² in po razkuževanju rok 10 CFU/dm². Ugotovili so tudi, da ima na rokah prehodno mikrobno populacijo 15 % zdravstvenih delavcev (27).

Pomembno vlogo pri preprečevanju okužb imajo tudi rokavice, ki so del osebne zaščitne opreme. Zdravstveni delavci jih uporabljajo, da se zaščitijo pred okužbami ob stiku s

telesnimi tekočinami in izločki, za zaščito bolnika pred prenosom mikroorganizmov z rok zdravstvenih delavcev in za preprečevanje prenosa z bolnika na bolnika. Rokavice, ki jih uporabljamo v zdravstvu, so običajno iz lateksa, vinila, nitrila ali neoprena. Na EIT, kjer sta prisotna VRE ali MRSA, je zahtevana uporaba rokavic pri negi vseh bolnikov (26). Rokavice nadanemo vedno po predhodnem razkuževanju rok, po uporabi pa se morajo ponovno razkužiti (23). Sterilne ali nesterilne rokavice lahko uporabimo le pri enem bolniku, za en postopek (13).

1.4 Vrste bakterij in plesni v bolnišničnem okolju

1.4.1 Vrste bakterij v bolnišničnem okolju

V Prilogi 2 so predstavljene bakterijske vrste, ki jih lahko izoliramo v bolnišničnem okolju. Prikazani so barvanje po Gramu, s katerimi ločujemo različne sestave celične stene (Gram pozitivne - modrovijolične, Gram negativne - rdeče ali roza), potreba po kisiku za preživetje (aerobi - potrebujejo kisik, anaerobi - kisik jim škodi, fakultativni aerobi - pretežno anaerobna rast, fakultativni anaerob - pretežno aerobna rast), možnost tvorjenja spor in življenjski prostor.

Vrste bakterij v bolnišničnem okolju, ki najpogosteje povzročajo okužbe

Rod *Enterococcus*

- *Enterococcus faecalis* in *Enterococcus faecium* - okužbe izvirajo iz bolnikove črevesne flore, prenosa z bolnika na bolnika ali preko kontaminirane vode, hrane, ko ob invazivnih posegih zaidejo v primarno sterilno območje. Povzročijo 10 % vseh BO. Najpogosteje pride do okužb urinarnega trakta, sepse, endokarditisa, abdominalnega abscesa in okužb ran. Enterokoki hitro razvijejo odpornost na antibiotike, saj je več kot 50 % nekaterih bakterijskih vrst odpornih na ampicilin, več kot 25 % na aminoglikozide in več kot 20 % na vankomicin. Enterokoke, ki so odporne proti vankomicinu, imenujemo VRE (angl. *Vancomycin-resistant enterococcus*) (28). V bolnišničnem okolju lahko preživijo od 5 dni do 4 mesece (3).

Enterobakterije – rod *Enterobacter* in rod *Klebsiella*

- *Enterobacter cloacae* in *Klebsiella pneumoniae* - povzročata oportunistične okužbe sečil, kože, ran, dihal, meningitis in sepsa (16). Enterobakterije so odgovorne za več kot 70 % vseh okužb urinarnega trakta in od 30 do 35 % sepsa (28). Zelo hitro razvijejo odpornost proti antibiotikom, še posebej *Klebsiella pneumoniae* in *Escherichia coli*. Ta izhaja iz mutacije genov za beta laktamaze, ki jih enterobakterije izolačajo in tako inaktivirajo betalaktamske antibiotike prve in druge generacije. Po mutaciji genov so se razvile beta laktamaze z razširjenim spektrom delovanja (ESBL, angl. *extended spectrum beta lactamases*), ki so dodatno odporne proti penicilinom in cefalosporinom novejših generacij in pogosto tudi proti aminoglikozidom in kinolonom (29). Bakterijske vrste *Klebsiella* spp. lahko v bolnišničnem okolju preživijo od 2 ur do več kot 30 mesecev (3).

Rod *Pseudomonas*

- *Pseudomonas aeruginosa* - je najpogostejši povzročitelj oportunističnih okužb med nefermentativnimi bakterijami, med katere uvrščamo še rodova *Burkholderia* in *Acinetobacter*. V 30 % kolonizira prebavila hospitaliziranih bolnikov. Pri nevtropeničnih bolnikih lahko prehaja v kri in povzroči sepsa. Naseli se tudi v dihalih in povzroča pljučnico. Kot povzročitelj okužb ran in opeklin je na 2. mestu (16 % vseh okužb), takoj za stafilokoki. Povzroča tudi okužbe sečil. Tudi zunajbolnišnična okužba s *Pseudomonas aeruginosa* je nevarna za imunsko oslABLjene ljudi, saj lahko povzroči pljučnico, sepsa, lokalne okužbe kože, razjede roženice, endokarditis pri narkomanih in okužbe v zunanjem sluhovodu, ki se lahko razširijo v globlja tkiva možganskih živcev in kosti (16).
- *Pseudomonas mandelii* - povzroča enake okužbe kot *Pseudomonas aeruginosa*.

Rod *Acinetobacter*

- *Acinetobacter baumannii* - pri imunsko oslABLjenih bolnikih lahko pride do oportunističnih okužb respiratornega in urinarnega trakta ter sepse. Bakterijske vrste iz tega rodu povzročajo tudi okužbe ran in opeklin, kjer so na 4. mestu med vsemi možnimi povzročitelji (16,29). Do oportunističnih okužb pride največkrat v EIT (30).
- *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter schindleri* - BO so redke in so navadno povezane z vstavljenim žilnim katetrom (31).

Rod *Staphylococcus*

- *Staphylococcus epidermidis* - je najpomembnejši koagulaza-negativni stafilokok in predstavlja glavni vzrok za okužbe, ki se pojavijo pri vstavljenih katetrah ter protezah. Koagulaza-negativni stafilokoki (stalna normalna flora kože in sluznic) so oportunistični patogeni in lahko povzročijo okužbe pri novorojenčkih, dojenčkih, starejših ljudeh, imunsko oslabljenih bolnikih po invazivnih posegih v telo in bolnikih z vstavljenimi katetri. Najpogosteje okužijo kirurške rane, opekline ali pa pridejo v kri preko katetrov (16, 29, 32).
- *Staphylococcus aureus* - vir bakterije so bolniki z obsežnimi ognojki ali zdravi klicenosci (od 20 do 30 % odraslih oseb), ki jo najpogosteje nosijo v nosni sluznici. Ob okužbi lahko povzroči gnojne infekcije kože, kirurških ran, opeklin, vnetje srednjega ušesa in očesne veznice. Če pride do razširitve okužbe v kri, nastane bakteriemija, ki lahko vodi do endokarditisa, osteomielitisa, meningitisa, septičnega artritisa in sepse. Z vdihavanjem se lahko razvije tudi pljučnica (16).
- *Staphylococcus aureus*-MRSA - so proti meticilinu odporni sevi *Staphylococcus aureus* (angl. *methicillin resistant Staphylococcus aureus*). Ti sevi so odporni proti meticilinu, oksacilinu, kloksacilinu in vsem drugim betalaktamskim antibiotikom (cefalosporinom, monobaktamom, karbapenemom), vključno z eritromicinom, gentamicinom in rifampicinom. Največkrat sta učinkovita le vankomicin in teikoplanin (16). *Staphylococcus aureus* in sevi MRSA imajo sposobnost preživetja v bolnišničnem okolju od 7 dni do 7 mesecev (3).
- *Staphylococcus aureus*-iMLSb - pri tem sevu so ugotovili inducibilno odpornost proti klindamicinu. To pomeni, da je izolat v času testiranja za klindamicin občutljiv, med zdravljenjem pa lahko postane proti njemu odporen (33).

1.4.2 Plesni

Rutinsko vzorčenje zraka za obvladovanje oziroma preprečevanje glivičnih okužb v bolnišnicah ni predvideno. Literatura (34, 35) predpostavlja vzorčenje ob nadzoru postopkov čiščenja, učinkovitosti prezračevalnih oziroma filtracijskih sistemov, ki so lahko vir *Aspergillus* spp. ter ob ugotavljanju povezanosti med gradbenimi deli in pojavom invazivne aspergiloze. Prav tako ni določenih mejnih vrednosti koncentracij glivičnih spor v zraku, ki bi bile še sprejemljive za določen prostor. V osnovi velja, da mora biti koncentracija glivičnih spor v notranjih prostorih nižja in da mora biti sestava podobna kot v zunanjem okolju, vendar brez prisotnosti patogenih vrst. Število spor se spreminja in je odvisno od aktivnosti v prostoru, gradbenih, vzdrževalnih in obnovitvenih del v okolju, sprememb temperature, vlažnosti, svetlobe in zračnih tokov (34, 35).

Aspergillus fumigatus je oportunistična gliva in je najbolj patogena vrsta rodu *Aspergillus*, ki povzroči več kot 90 % vseh invazivnih aspergiloz. Kot saprofit živi v zemlji, najdemo pa jo tudi v stanovanjih, gradbenih elementih, na sobnih rastlinah, v vodi, hrani in tobaku. Okužbe po vdihavanju se pogosteje pojavijo pri imunsko oslabljenih osebah, saj pri zdravih ljudeh poteče alveolarna fagocitoza konidijev. Redkeje pride do okužb s prenosom spor preko ran, opeklin, vsadkov, z zaužitjem ali aspiracijo (34). Tveganje za invazivno aspergilozo se pri imunsko oslabljenih bolnikih poveča, če koncentracija spor *A. fumigatus* preseže 0,9 CFU/m³ (35).

Cladosporium spp. so najpogosteje izolirane glivične spore iz zraka. Najdemo jih tudi v zemlji, ruševinah, barvah, na tekstilu, rastlinah in drugih organskih materialih. Nekatere vrste lahko povzročajo pljučne mikoze (36).

Penicillium spp. predstavljajo ene izmed najpogosteje izoliranih glivičnih spor iz zraka. So široko zastopane v okolju, v zemlji, na rastlinah in v hrani (37). Več vrst (*P. marneffei*, *P. citrinum*, *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *P. decumbens*) povzroča oportunistične okužbe pri imunsko oslabljenih bolnikih (38).

2 NAMEN DELA

Namen magistrske naloge bo raziskati mikrobiološke pogoje na Oddelku za intenzivno terapijo KOAIT, kjer pripravljajo farmacevtske izdelke za parenteralno uporabo v dveh tipih bolniških sob, in sicer v izolacijskih in čistih. Ker so farmacevtski pripravki za parenteralno uporabo po definiciji iz Evropske farmakopeje sterilni pripravki, namenjeni za dajanje z injekcijo, infuzijo ali implantacijo v človeško ali živalsko telo, se bomo osredotočili na tiste dejavnike, ki lahko vplivajo na mikrobiološko kakovost teh farmacevtskih izdelkov in s tem ogrozijo njihovo kakovost in varnost bolnikov.

Na začetku bomo opazovali pogoje, v katerih poteka priprava sterilnih farmacevtskih izdelkov, in način dela medicinskih sester. Nato bo sledil mikrobiološki nadzor okolja.

Izvedli bomo mikrobiološko analizo zraka prostorov z dvema metodama, med potekom priprave terapije, in primerjali rezultate. Z mikrobiološkim nadzorom z mokrimi brisi bomo preverili snaznost rok medicinskih sester, ki pripravljajo farmacevtske izdelke, kontaminacijo površin vsebnikov zdravil, nosilnih raztopin ter dodatkov, s katerimi rokujejo, ter snaznost delovne površine, na kateri poteka priprava zdravil. Mikrobiološko analizo bodo izvedli na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete, Univerze v Ljubljani, in sicer v Laboratoriju za diagnostiko infekcij in nadzor sterilnosti.

Na ta način bomo ovrednotili vpliv mikrobiološke kakovosti okolja na varnost pripravljenih farmacevtskih izdelkov in posredno tudi bolnikov po njihovi aplikaciji. Pogoje in način priprave farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo bomo primerjali z že obstoječim Standardnim operativnim postopkom (SOP) Lekarne UKCL za pripravo zdravil za parenteralno uporabo, namenjenim zdravstvenim delavcem, ki pripravljajo farmacevtske izdelke za parenteralno uporabo na oddelkih bolnišnice. Na koncu bomo za vsako točko opazovanja predlagali tudi ustrezne ukrepe za izboljšanje ugotovljenega stanja.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 Izbira kliničnega okolja

UKC Ljubljana je javni zdravstveni zavod, ki izvaja zdravstveno dejavnost na sekundarni in terciarni ravni ter izobraževalno in raziskovalno dejavnost na področju zdravstva. Zdravstvena dejavnost na sekundarni ravni obsega specialistične ambulate in bolnišnično dejavnost, terciarna zdravstvena dejavnost pa obsega izvajanje najzahtevnejših zdravstvenih storitev, uvajanje novih zdravstvenih metod, oblikovanje kliničnih smernic, razvijanje specialističnih zdravstvenih dejavnosti in posredovanje znanja drugim zdravstvenim zavodom oz. ustanovam (39).

Na Oddelku za intenzivno terapijo KOAIT se zdravijo najtežji bolniki, ki zahtevajo zdravstveno oskrbo na terciarni ravni. So med najbolj ogroženimi ne le zaradi svoje bolezni, pač pa tudi zaradi načina izvajanja terapije, ki pogosto zahteva invazivne posege. Praviloma poteka pri njih aplikacija zdravil po parenteralni poti. Postopki priprave in aplikacije parenteralnih zdravil pa so tesno povezani s tveganjem za bolnišnične okužbe.

V letu 2013 je bila v okviru Splošnega dogovora, ki določa financiranje in obseg zdravstvenih storitev, sprejeta zahteva, da vse bolnišnice pristopijo k pridobitvi mednarodne akreditacije, v skladu z enim od standardov, ki določajo zahteve za vodenje kakovosti v sistemu zdravstvenega varstva. Dogovor so sprejeli vsi izvajalci zdravstvene dejavnosti, Ministrstvo za zdravje in Zavod za zdravstveno zavarovanje Slovenije (ZZZS). Za izvajalce, ki ne bi pristopili k pridobitvi mednarodne akreditacije, so predvideli zmanjšanje finančnih sredstev s strani ZZZS.

Deloma zaradi tega, deloma pa zaradi usmeritve vodstva k uvedbi ustreznega sistema vodenja kakovosti, je tudi UKCL pristopil k pridobitvi Mednarodne akreditacije DNV (Akreditacijska neodvisna ustanova Det Norske Veritas) za bolnišnice (DIAS, angl.: *DNV International Accreditation Standard*). Standard DIAS zahteva, da se morajo zdravila za parenteralno uporabo pripravljati v lekarni skladno z zahtevami Evropske farmakopeje in EC GGMP. Izjemoma se zdravila lahko pripravljajo na oddelku, ko priprava v lekarni ni mogoča, aplikacija zdravila pa je nujna. V tem primeru je treba pripravljeno zdravilo aplicirati takoj, kar pomeni največ v roku ene ure. Standard DIAS se glede priprave farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo sklicuje na ameriško farmakopejo (USP, angl. *United States Pharmacopeia*) (40).

Pri izvajanju presoje v UKCL so mednarodni presojevalci kot eno izmed večjih pomanjkljivosti izpostavili neustreznost prostorov, kjer poteka priprava zdravil za parenteralno uporabo na Oddelku za intenzivno terapijo KOAIT. Prostor, v katerem se na tem oddelku pripravljajo zdravila za parenteralno uporabo, predstavlja tveganje za zagotavljanje kakovosti zdravila, in sicer zaradi neustrezne temperature, mikrobiološke kontaminacije in motenja medicinskih sester med pripravo zdravil. Ugotovljene nepravilnosti mora UKCL pred naslednjo presojo odpraviti z ustreznimi ukrepi.

Med ukrepe, ki so bili v ta namen sprejeti, sodi tudi analiza mikrobiološke kakovosti okolja, v katerem poteka priprava farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo.

Bolniško sobo za vzorčenje in medicinsko sestro, ki je pripravljala terapijo, smo izbrali naključno ob prihodu na oddelek. Raziskava je bila anonimna. Vzorčili smo ob ponedeljkih in sredah v obdobju od 18. 8. 2014 do 27. 10. 2014. Priloga 3 prikazuje pregled čistih, Priloga 4 pa izolacijskih sob (kontaktna izolacija), ki smo jih vključili v raziskavo po datumih odvzemov vzorcev. Material za vzorčenje je bil predhodno naročen in dostavljen iz Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo (IMI) Medicinske fakultete, Univerze v Ljubljani.

3.2 Opazovanje pogojev in načina priprave farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo na Oddelku za intenzivno terapijo KOAIT

Ključne točke opazovanja so bile:

- **prostor** za pripravo sterilnih farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo,
- **pripomočki za delo** (oprema delovne površine),
- **priprava na delo** (higiena rok, osebna varovalna oprema, razkuževanje delovne površine in prebodnih mest gumijastih zamaškov vial, steklenic, plastenk in vratov ampul),
- **priprava farmacevtskih izdelkov** (tehnika, ravnanje z odpadno ovojnino, ravnanje z ostanki zdravil v večodmernih vsebnikih).

3.3 Mikrobiološki nadzor okolja

Mikrobiološki nadzor je potekal med pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo in je zajemal mikrobiološki nadzor zraka s sedimentacijskimi ploščami in presesavanjem zraka ter mikrobiološki nadzor z mokrimi brisi. Z brisi smo nadzorovali snažnost delovnih površin, površin vsebnikov zdravil, nosilnih raztopin, dodatkov in rok. Analizo smo posebej izvedli za čiste in izolacijske bolniške sobe za kontaktno izolacijo. Mikrobiološki nadzor smo izvajali skladno s SOP Lekarne UKCL (41). V celotnem postopku vzorčenja smo uporabljali sterilne rokavice iz lateksa, ki smo si jih med delom večkrat razkužili z alkoholnimi robčki KlerwipeTM-70/30 (prepojeni s sterilnim 70-% denaturiranim etanolom).

3.3.1 Metode za mikrobiološki nadzor zraka

Metode v osnovi razdelimo na aktivne (volumetrična metoda) in pasivne metode (sedimentacijska metoda) (42).

Pasivno vzorčenje zraka s sedimentacijsko metodo izkorišča silo gravitacije. Pomembni motilci postopka so stalni zračni tokovi v prostoru, ki močno vplivajo na smer usedanja delcev in tako zmanjšujejo vpliv gravitacije (43). Pasivno vzorčenje zraka izvajamo s petrijevimi ploščami, ki so napolnjene s trdnim hranilnim gojiščem (krvnim agarjem) in so na določenem mestu horizontalno izpostavljene zraku za določen čas. S to metodo ne dobimo kvantitativnih ampak le kvalitativne rezultate. Gre torej za orientacijske rezultate in ne za prikaz dejanske mikrobne kakovosti zraka (44). Zaradi nizke cene metodo še danes pogosto uporabljajo, vendar lahko s tem določamo le mikroorganizme, ki so pritrjeni na večje inertne delce, so suspendirani v vodnih kapljicah ali pa združeni v skupke. Ko delci presežejo velikost 5 μm , ne lebdijo več v zraku, ampak se posedajo (43, 45). To pa omogoča tej metodi uporabo za napoved možne kontaminacije površin (46).

Pri volumetrični metodi gre za aktivno zbiranje mikroorganizmov s presesavanjem zraka na hranilno gojišče. Prenosni vzorčevalniki zraka delujejo po različnih principih, najpogosteje so v uporabi tisti, ki izkoriščajo postopek filtracije. Zrak pride skozi vzorčevalnik s pomočjo črpalke, ventilatorja ali aspiratorja, zato lahko vzorčevalnik kalibriramo in določimo natančen volumen vzorca. Metoda nam poda kvalitativne in kvantitativne rezultate, in sicer kot število mikroorganizmov, ki so sposobni tvoriti kolonije na kubični meter zraka (CFU/m³). Vzorčevalniki so lahko bodisi enostopenjski,

pri čemer se zrak prečrpa neposredno na površino hranljivega gojišča (vzorčevalnik SAS, angl. *Surface air system*) ali večstopenjski, ki imajo vstavljene filtre velikosti od 0,3 do 15,0 µm za določanje mikroorganizmov. Volumen vzorčenja določimo z več poskusnimi meritvami. V primeru izbire prevelikega volumna vzorca je lahko gojišče preobremenjeno in določitev števila kolonij ni več mogoča (43). Kadar hočemo zajeti tudi spore gliv (*Aspergillus* spp.), so primernejši večji volumni vzorca, zato se v bolnišnicah priporoča vzorčenje najmanj 1000 l zraka (1 m³) (47).

Mikrobiološki nadzor zraka s sedimentacijskimi ploščami

Nadzor smo izvedli s petrijevskami, napolnjenimi s krvnim agarjem (Preglednica VI), ki nam jih je po predhodnem naročilu pripravil in dostavil IMI.

Preglednica VI: Sestava krvnega agarja (podatki IMI).

Osnovni medij za krvni agar (BBL 211037)	Mesni ekstrakt	2 g
	Pepton C	13 g
	Kvasni ekstrakt	5 g
	Natrijev klorid	5 g
	Agar	15 g
Destilirana voda		1000 ml
Defibrinirana ovčja kri		50 ml

Petrijevke s krvnim agarjem smo izpostavili 1 uro atmosferi v čistih in izolacijskih bolniških sobah, in sicer na zadnjem delu delovnega pulta, namenjenega pripravi farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo. Na delovni površini pulta dolžine 3 m smo izpostavili 2 krvna agarja. Petrijevkam s krvnim agarjem smo odstranili pokrove, jih odložili na delovno površino in nanje postavili petrijevke pod kotom 45° tako, da je bila površina krvnega agarja izpostavljena zraku. Po končani izpostavitvi smo petrijevke pokrili s pokrovom, jih zalepili s parafilmskim trakom in poslali v analizo v Laboratorij za diagnostiko bolnišničnih infekcij in nadzor sterilnosti na IMI.

Mikrobiološki nadzor zraka s presesavanjem

Za analizo smo uporabili prenosni vzorčevalnik zraka SAS Super ISO 180 (Slika 1) in ploščice RODAC (angl. *Replicate Organism Detection and Counting*) premera 55 mm, ki nam jih je po predhodnem naročilu pripravil in dostavil IMI. Moč vzorčevalnika zraka SAS je 180 l/min, kar pomeni, da prečrpa 180 l zraka v 1 minuti. Ima enostopenjsko vzorčevalno glavo z 219 luknjicami premera 1 mm (42).



Slika 1: SAS Super ISO 180 (48)

Za analizo zraka v vsaki bolniški sobi smo uporabili tri različna gojišča. Eno gojišče za rast bakterij (Preglednica VI) ter dve selektivni gojišči za rast gliv, in sicer Sabouraud agar (Preglednica VII) in Dikloran-glicerol agar (Preglednica VIII).

- Ploščica RODAC s krvnim agarjem

Sestava gojišča je enaka kot pri mikrobiološkem nadzoru zraka s sedimentacijsko metodo (Preglednica VI).

- Ploščica RODAC s selektivnim gojiščem Sabouraud agar (SAB agar) za rast gliv

Preglednica VII: Sestava gojišča SAB (podatki IMI).

Neopepton (BD 211681)	10 g
Dekstroza (BD 215530)	40 g
Agar-agar (Merck 1.01614.1000)	19 g
Mlečna kislina (Kemika 1316601)	2-3 kapljice
Destilirana voda	1000 ml

- Ploščica RODAC s selektivnim gojiščem Dikloran-glicerol agar (DG18) za rast gliv

Preglednica VIII: Sestava gojišča DG18 (podatki IMI).

Pepton (BD 211677)	5 g
Glukoza (BD 215530)	10 g
Kalijev dihidrogen fosfat - KH_2PO_4 (Merck 1.04873.0250)	1 g
Magnezijev sulfat hepta hidrat - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck 4.115158)	0,5 g
Glicerol (Merck 1.04092.1000)	220 g
Agar-agar (Merck 1.01614.1000)	15 g
Destilirana voda	1000 ml
Kloramfenikol 100 mg/ml	1 ml
2,6-dikloro-4-nitroanilin 0,2 % (dikloran, angl. <i>Dichloran</i>)	1 ml

Vzorčevalnik smo postavili na rob delovne površine. Ploščico RODAC smo odkrili, vstavili pod zunanji pokrov vzorčevalnika in pokrov ponovno privili. Na gojišče smo prečrpali 1000 l (1m^3) zraka. Nato smo ploščico RODAC odstranili, jo pokrili s pokrovčkom in zalepili s parafilmskim trakom. To smo ponovili pri vseh treh gojiščih. Ploščice RODAC smo nato poslali v analizo v Laboratorij za diagnostiko bolnišničnih infekcij in nadzor sterilnosti na IMI.

3.3.2 Mikrobiološki nadzor snažnosti delovnih površin, površin vsebnikov in snažnosti rok z mokrimi brisi

Bris je sestavljen iz palčke, ki je na eni strani ovita s sterilno vato, na drugi pa je pritrjena na zamašek epruvete, ki je napolnjena s 5 ml sterilne fiziološke raztopine. Kadar je površina, ki jo želimo vzorčiti, pred tem očiščena z razkužilom, moramo uporabiti bris s fiziološko raztopino, ki vsebuje ustrezne deaktivatorje dezinfekcijskih sredstev, s čimer preprečimo njihovo učinkovanje po odvzemu vzorca (49).

Na oddelku smo za kontrolo snažnosti površin in rok uporabili brise s 5 ml sterilne fiziološke raztopine, z dodanim deaktivatorjem. Vzorčili smo površine 20 cm^2 , in sicer najmanj 3x v cikcak liniji navpično in najmanj 2x vodoravno (49). Če je bila površina, ki smo jo vzorčili manjša, smo skušali zajeti največje možno območje. Po odvzemu vzorcev smo brise s spremnim listom oddali v analizo na IMI, v Laboratorij za diagnostiko infekcij

in nadzor sterilnosti. V Preglednici IX so prikazana vzorčena mesta površin, ki smo jih vključili v raziskavo.

Kontrola snaznosti površin

- **Delovne površine**

Z mokrimi brisi smo odvzeli vzorce z delovnih površin, namenjenih za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo. Vzorčili smo nerazkuženo delovno površino pred pripravo terapije, delovno površino razkuženo z 0,25 % delovno raztopino Surfanios citron, ki jo pripravlja galenski laboratorij Lekarne UKCL, ter delovno površino takoj po pripravi zdravil za parenteralno uporabo.

Surfanios citron[®] je čistilno in dezinfekcijsko sredstvo, ki ga glede na kemijsko sestavo uvrščamo med kvarterne amonijeve spojine. Aktivna komponenta z učinkom na mikroorganizme je kvarterna amonijeva sol, didecildimetil amonijev klorid, vsebuje pa še terciarni amin (N-(3-aminopropil)-N-dodecilpropan-1,3-diamin), kelatorje, neionogeni detergent, barvilo in dišavo (50). Namenjen je za redno čiščenje in razkuževanje nekritičnih površin kot so tla, stene, pohištvo, ter opreme in medicinskih pripomočkov, ki pridejo v stik z nepoškodovano kožo (51). Minimalni čas učinkovanja za baktericidno delovanje znaša 5 minut, za mikobaktericidno 15 minut, za fungicidno 15 minut in za virucidno 5 minut (52).

Za izvedbo primerjalne analize smo vzorčili še delovno površino, razkuženo z alkoholnimi robčki Klerwipe[®]-70/30, prepojenimi s sterilnim 70 % denaturiranim etanolom.

- **Vsebniki**

Izvedli smo mikrobiološki nadzor površin vsebnikov zdravil, ki jih je medicinska sestra uporabila pri pripravi terapije. Brise smo odvzeli s površin tistih, ki si jih je medicinska sestra pripravila na delovnem pultu za pripravo terapije. Vzorčili smo v fazi pred delom in po delu.

Odvzeli smo tudi vzorce površin odprtih večodmernih vsebnikov odloženih na za to namenjenem plastičnem pladnju, na robu delovnega pulta. Te vsebnike smo po vzorčenju zavrgli. Slika 2 prikazuje vzorčena mesta na mini-spiku.

Preglednica IX: *Pregled površin, ki smo jih vključili v raziskavo.*

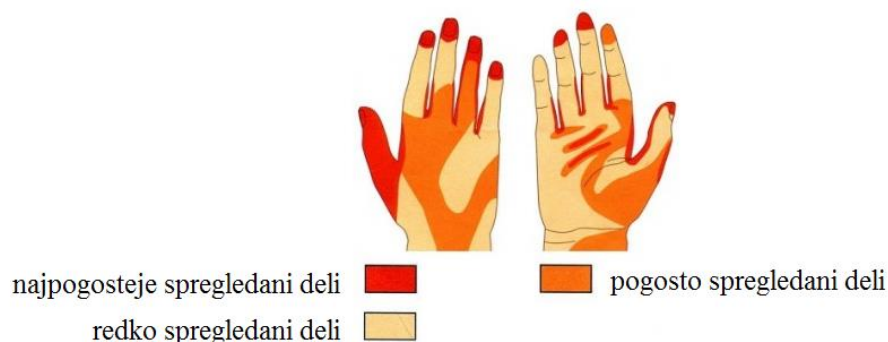
DELOVNE POVRŠINE	ZDRAVILA NA DELOVNI POVRŠINI ZA PRIPRAVO TERAPIJE	ODPRTI VEČODMERNI VSEBNIKI
• Delovna površina pred pripravo terapije-nerazkužena • Delovna površina pred pripravo terapije-razkužena • Delovna površina po pripravi terapije	• Vsebnik polietilenski • Vsebnik polietilenski s signaturo • Ampula steklena • Ampula steklena s signaturo • Ampula polietilenska s signaturo • Viala steklena • Viala steklena s signaturo • Viala gumijasti zamašek	• Viala steklena • Viala steklena s signaturo • Viala gumijasti zamašek • Spike pod pokrovčkom • Spike zunanost • Gumijasti zamašek pod spikom • Polietilenski vsebnik 2 % glicerol v 84 % etanolu • Ročka za odmerjanje 2 % glicerola v 84 % etanolu



Slika 2: *Vzorčena mesta na mini-spiku (53)*

Kontrola snažnosti rok

Z mokrim brisom smo vzorčili vsako roko posebej, in sicer s površin dlani in konic prstov, predvsem palce, kazalce in sredince. Vsem osebam smo vzorčili desno in levo roko. Pomembno je, da z brisom zajamemo območja, ki so najpogostejše spregledana pri umivanju in razkuževanju, predvsem med prsti, palec, konice prstov in v neposredni okolici morebitno prisotnega prstana in umetnih nohtov. Ta območja so na Sliki 3 prikazana z rdečo barvo.



Slika 3: *Površina rok z različno obarvanimi deli, glede na temeljitost higiene (54)*

Za kontrolo snažnosti rok smo odvzeli brise neorokavičenih rok medicinske sestre, ki je pripravljala terapijo za parenteralno aplikacijo. Brise smo jemali z umitih in razkuženih rok pred pripravo terapije, samo razkuženih rok pred pripravo terapije, nerazkuženih rok po pripravi terapije ter nerazkuženih rok po pripravi zdravila in njegovi takojšnji aplikaciji.

3.3 Statistična analiza

Statistično analizo podatkov smo izvedli s programskim paketom SPSS, in sicer z uporabo Pearsonovega hi-kvadrat testa ali Fisherjevega natančnega testa. Ugotavljali smo povezanost dveh kategoričnih spremenljivk. Uporabljena statistika temelji na primerjavi opazovanih frekvenc (f_o) s pričakovanimi (f_p). Ker smo podatke zapisali v obliki kontingenčne tabele 2x2, smo upoštevali Yatesovo korekturo. Namen te korekture je popraviti preveliko oceno, ki jo v primeru kontingenčne tabele 2x2 naredimo s Pearsonovim hi-kvadrat testom. Izračunane f_p morajo biti v vsaki celici večje od 5. Če je $f_p < 5$, pomeni, da je velikost vzorca premajhna, zato moramo v tem primeru rezultat interpretirati po Fisherjevem natančnem testu (55). Razlike med dvema kategoričnima spremenljivkama so bile statistično značilne, kadar je bila značilnost statističnega testa (p) manjša ali enaka 0,05. V primeru statistično značilnih razlik smo izračunali tudi razmerja obetov OR (angl. *Odds ratio*).

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 Opis pogojev in načina priprave farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo na Oddelku za intenzivno terapijo KOAIT

- **Prostor**

Delovni pult (Slika 4) za pripravo terapije, z dolžino približno treh metrov, se v vsaki bolniški sobi nahaja vzdolž oken z okenskimi policami. Okna se ne odpirajo. Na steni ob delovnem pultu ali nad njim je nameščena klimatska naprava. Ob delovnem pultu in pod njim so omare z medicinskimi pripomočki za delo, zdravili in infuzijskimi steklenicami. Delovna površina je gladka, izdelana iz nerjavnega jekla.

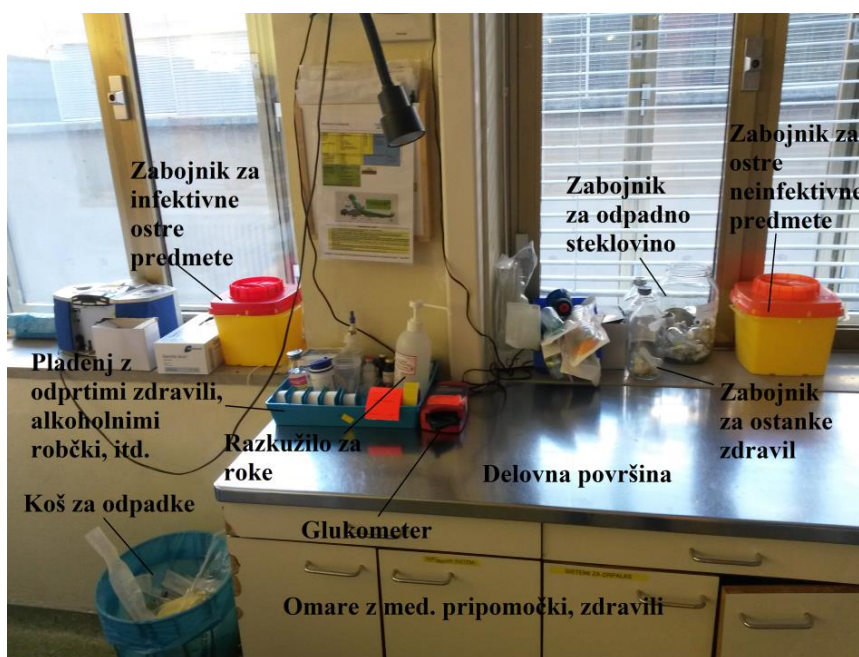


Slika 4: *Delovni pult*

V času priprave terapije je frekvenca gibanja zaposlenih v sobi zelo visoka. Prisotni so zdravniki in ostali zdravstveni delavci, ki so odgovorni za bolnike. Pogosto mora medicinska sestra zaradi nestabilnega stanja bolnikov prekiniti s pripravo farmacevtskih izdelkov, tudi v primeru že odprte vial. Zaradi takšnih situacij so zdravila daljši čas izpostavljena vplivu okolja, kar lahko privede do mikrobiološke kontaminacije farmacevtskega pripravka.

- **Pripomočki za delo**

Na delovnem pultu se nahaja zabojnik za ostre neinfektivne predmete, zabojnik za odpadno steklovino, zabojnik za ostanke zdravil, razkužilo za roke in v nekaterih sobah tudi vrečke za odpadno ovojnino. Na robovih delovnega pulta so nameščeni razkužilo za delovno površino (0,25 % raztopina Surfanios citron), papirnate brisače zloženske, glukometer, pladenj z laringoskopom in laringoskopskimi žlicami, pladenj z odprtimi večodmernimi vsebniki zdravil in nesterilnimi alkoholnimi robčki. V neposredni bližini delovnega pulta se nahajata zabojnik za infektivne ostre predmete in koš za odpadke.



Slika 5: *Oprema delovne površine*

- **Priprava na delo**

Pred pripravo farmacevtskih izdelkov si medicinske sestre umijejo roke z vodo in milom, nato pa jih razkužijo z raztopino 2 % glicerola v 84 % etanolu ali z drugim komercialno dostopnim razkužilom. Nekatere si roke le razkužijo. Medicinske sestre pri delu ne uporabljajo osebne varovalne opreme, kot so rokavice, kapa in maska.

Za razkuževanje delovne površine uporabljajo 0,25 % delovno raztopino Surfanios citron in papirnate brisače zloženske. Nekatere medicinske sestre površine razkužujejo s krožnimi gibi. Za razkuževanje prebodnih mest gumijastih zamaškov vial, steklenic, plastenk in vratov ampul uporabljajo nesterilne alkoholne robčke KMD Alcohol Prep Pad® (4,4 x 8,2 cm).

- **Priprava farmacevtskih izdelkov**

Odpadno ovojnino igel in brizg medicinske sestre odlagajo neposredno na delovni pult, v eni od sobi pa so imeli vrečke za ločevanje papirnate in plastične odpadne ovojnine kar na zadnjem delu delovnega pulta.

S tehniko nedotikanja prenašajo zdravila iz ampul ali vial v brizge, izvajajo rekonstitucijo praškov v vialah in prenos zdravila v brizge ter dodajajo zdravila v nosilno raztopino za infundiranje. Ostanke zdravil iz večodmernih vsebnikov shranjujejo na za to namenjenem pladnju na delovnem pultu, in sicer do 24 ur po prvem odprtju.

Rekonstitucija je postopek priprave, ki omogoča uporabo zdravil z dovoljenjem za promet v skladu z navodili, navedenimi v povzetku glavnih značilnosti zdravil ali v navodilu za uporabo (7). Običajno gre za učinkovino v obliki praška ali liofilizata, ki se ji doda ustrezno topilo, pri čemer nastane raztopina učinkovine primerna za injiciranje ali infundiranje.

4.2 Mikrobiološki nadzor zraka

4.2.1 Mikrobiološki nadzor zraka s presesavanjem

Z vzorčevalnikom SAS Super ISO 180 smo izvedli analizo v dveh izolacijskih (sobi 9 in 10) in dveh čistih sobah (sobi 1 in 2). Preglednica X prikazuje izolirane bakterijske vrste s krvnega agarja in plesni z dveh selektivnih gojišč za rast gliv ter njihove koncentracije v zraku (CFU/m³).

Preglednica X: Rezultati mikrobiološkega nadzora zraka s presesavanjem v izolacijskih in čistih sobah.

			Koncentracija [CFU/m ³]
Izolacijske sobe	Bakterijske vrste	<i>Staphylococcus aureus</i>	nepreštevno
		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
		<i>Staphylococcus hominis</i>	
		<i>Micrococcus luteus</i>	
		<i>Bacillus cereus</i>	
Čiste sobe	Bakterijske vrste	<i>Lactobacillus kalixensis</i>	18* > 1500 Od 48* do >1500 > 1500 > 1500
		<i>Penicillium</i> sp.	
		<i>Cladosporium</i> sp.	
		<i>Aspergillus fumigatus</i>	
Čiste sobe	Bakterijske vrste	<i>Staphylococcus hominis</i>	4-5 4-7 3
		<i>Staphylococcus caprae</i>	
		<i>Micrococcus luteus</i>	
		<i>Corynebacterium aurimucosum</i>	
		<i>Bacillus simplex</i>	
Čiste sobe	Plesni	<i>Penicillium</i> sp.	3
		<i>Cladosporium</i> sp.	
		<i>Aspergillus fumigatus</i>	

* Po generalnem čiščenju sobe. Bolnik je v sobi nastanjen 20 minut.

Ob primerjavi zračnih koncentracij bakterij med izolacijskimi in čistimi sobami vidimo, da so bile le-te zelo visoke v izolacijskih sobah. Bakterijske kolonije so nasičile ploščice RODAC, zato natančna določitev števila kolonij ni bila mogoča (nepreštevno). Na IMI so nam svetovali vzorčenje 200 dm³ zraka, vendar ponovne analize nismo izvedli. Koncentracija bakterij je bila nižja v čistih sobah, toda vrednosti iz sobe 1 so bile še vedno višje kot tiste v objavljenih raziskavah (56). Vse bakterijske vrste v sobi 1 so tvorile več kot 1500 CFU/m³. Izstopata vrednosti označeni z zvezdico iz sobe 2, kjer je bil 1 bolnik nastanjen komaj 20 minut. V raziskavi, ki je potekala v treh bolnišnicah na Poljskem od leta 2001 do 2002, so določili koncentracijo bakterij v razponu od 10² do 10³ CFU/m³. Ta je variirala glede na število bolnikov v bolniških sobah in stanje ohranjenosti stavbe (56). V praški bolnišnici je povprečna koncentracija bakterij v zraku znašala okrog 10² CFU/m³ (56). V ostalih evropskih bolnišnicah pa se je koncentracija bakterij v zraku gibala med manj kot 10 pa do 10² CFU/m³ (56). Te raziskave so torej pokazale precej nižje koncentracije bakterij v zraku, kot smo jih določili na Oddelku za intenzivno terapijo KOAIT. Meritve smo izvajali po deseti uri dopoldan, ko so na oddelku zaključili z nego bolnikov. Visoke koncentracije bakterij v zraku smo povezali s povečano aktivnostjo

osebja in pripravljanjem bolniških postelj. Literatura navaja, da se lahko po normalnem pripravljanju postelj koncentracija bakterij v zraku dvigne na 3530 CFU/m³, z bolj energičnim na 4945 CFU/m³ in z zelo energičnim celo na 6080 CFU/m³. Trideset minut po pripravi postelje pa se koncentracija bakterij vrne na prvotno vrednost (57).

V bolnišnicah na Poljskem so bakterijske vrste rodu *Staphylococcus* in *Micrococcus* predstavljale 58-78 % vseh izoliranih bakterijskih vrst (56), kar je primerljivo s stanjem na Oddelku za intenzivno terapijo KOAIT. Bakterijske vrste rodu *Staphylococcus* in *Micrococcus* so namreč v naši raziskavi predstavljale 60 % vseh izoliranih bakterijskih vrst v čistih in 66,7 % v izolacijskih sobah. Za bolnike je zelo nevarna prisotnost *Staphylococcus aureus*, ker lahko povzroča oportunistične okužbe.

V obeh tipih sob smo izolirali enake plesni, in sicer *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp. in *Aspergillus fumigatus*. Spore glivic iz rodov *Cladosporium* in *Penicillium* so med najpogostejše izoliranimi sporami iz zraka. *Aspergillus fumigatus* pa je oportunistična gliva in je najbolj patogena vrsta iz rodu *Aspergillus*. Povzroča več kot 90 % vseh invazivnih aspergiloz, še posebej pri imunsko oslabljenih bolnikih (34, 36, 37).

Količine izoliranih spor glivic v zraku so med sobami primerljive, le v čistih sobah smo določili več tistih iz rodu *Cladosporium*. Mejne vrednosti koncentracij glivičnih spor v zraku niso določene, velja le, da mora biti njihova koncentracija nižja in sestava podobna kot v zunanjem okolju, ob odsotnosti patogenih vrst (34). Vendar pa obstajajo tudi priporočila, ki so nastala na podlagi izvedenih raziskav (35).

Raziskava, ki so jo izvedli na Hematološki kliniki v Franciji navaja, da je povprečna koncentracija glivičnih spor v navadnih bolniških sobah brez HEPA-filtrov ali laminarnega pretoka zraka od 2,8 do 6 CFU/m³ (58). Okužbe pri imunsko oslabljenih bolnikih pa se lahko pojavijo že pri koncentracijah 1,0-3,0 CFU/m³, zato so priporočila za še dopustno koncentracijo spor nižja od 5,0 CFU/m³, za nekatere pa celo nižja od 1,0 CFU/dm³ (35). V UKCL je od oktobra 2007 do marca 2008 potekala raziskava o vrstni raznolikosti in koncentraciji plesni v zraku bolnišničnega in zunanjega okolja. V bolniških sobah KOAIT pa so določili povprečno koncentracijo vseh spor 5,0 CFU/m³ (1,3-7,8 CFU/m³). Povprečna koncentracija spor *Aspergillus* spp. je znašala 2,8 CFU/m³ (1,0-5,4 CFU/m³), *A. fumigatus* 5,4 CFU/m³, *Penicillium* spp. 1 CFU/m³ in *Cladosporium* spp. 2 CFU/m³ (34, 58).

Na Oddelku za intenzivno terapijo KOAIT pa smo določili naslednje povprečne koncentracije spor: *A. fumigatus* 3,0 CFU/m³, *Penicillium* sp. 4,3 CFU/m³ in *Cladosporium* sp. 4,5 CFU/m³. Rezultati naše raziskave so primerljivi z drugimi in so v okviru priporočljivih meja.

4.2.2 Mikrobiološki nadzor zraka s sedimentacijskimi ploščami

V izolacijskih in čistih sobah smo atmosferi izpostavili 18 petrijevk s krvnim agarjem. Preglednica XI predstavlja izid pasivnega vzorčenja zraka v izolacijskih in čistih sobah.

Preglednica XI: *Mikrobiološki nadzor zraka v izolacijskih in čistih sobah s sedimentacijskimi ploščami.*

	Število krvnih agarjev	Število pozitivnih	% pozitivnih	Število negativnih	% negativnih
Izolacijske sobe	18	18	100,0	0	0
Čiste sobe	18	16	88,9	2	11,1

V izolacijskih sobah so bile vse sedimentacijske plošče pozitivne, v čistih pa jih je bilo pozitivnih 16 (88,9 %). Razlike v frekvencah pozitivnih izidov med izolacijskimi in čistimi sobami niso statistično značilne ($p=0,486$, Pearsonov hi-kvadrat test)

Nato smo naredili še primerjavo izoliranih bakterijskih vrst med izolacijskimi in čistimi sobami. Izolirane bakterijske vrste smo v preglednici razvrstili na okoljske in tiste bakterijske vrste, ki so del stalne normalne človeške flore. Preglednica XII predstavlja spekter bakterijskih vrst, ki smo jih izolirali v zraku izolacijskih sob, Preglednica XIII pa spekter bakterijskih vrst v zraku čistih sob.

Preglednica XII: *Spekter bakterijskih vrst v zraku izolacijskih sob.*

	<i>Skupno število različnih bakterijskih vrst</i>	<i>Analiza zraka-izolacijske sobe</i>	<i>Število krvnih agarjev, na katerih se pojavi bakterija</i>	<i>Število mikroorganizmov, ki pade na agar iz m³ zraka [CFU/m³]</i>
Del stalne normalne človeške flore	7	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	2-4
		<i>Staphylococcus capitis</i>	1	5
		<i>Staphylococcus cohnii</i>	1	6
		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	4	5-32
		<i>Staphylococcus hominis</i>	2	3-5
		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7	4-26
		<i>Micrococcus luteus</i>	7	1-15
Okoljske	8	<i>Bacillus muralis</i>	1	2
		<i>Bacillus circulans</i>	2	4-5
		<i>Bacillus megaterium</i>	2	1-11
		<i>Bacillus pumilus</i>	1	1
		<i>Bacillus cereus</i>	2	1-2
		<i>Solibacillus(Bacillus)silvestris</i>	1	1
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	1
		<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1	1

Rdeče označene bakterijske vrste so del prehodne normalne mikrobne flore kože.

Preglednica XIII: *Spekter bakterijskih vrst v zraku čistih sob.*

	<i>Skupno število različnih bakterijskih vrst</i>	<i>Analiza zraka-čiste sobe</i>	<i>Število krvnih agarjev, na katerih se pojavi bakterija</i>	<i>Število mikroorganizmov, ki pade na agar iz m³ zraka [CFU/m³]</i>
Del stalne normalne človeške flore	9	<i>Staphylococcus capitis</i>	1	12
		<i>Staphylococcus hominis</i>	3	10-12
		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	9
		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	6-25
		<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	5
		<i>Staphylococcus caprae</i>	1	nepreštevno
		<i>Micrococcus luteus</i>	9	1-11
		<i>Enterococcus faecalis</i>	1	6
		<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1	3
Okoljske	3	<i>Sphingomonas spp.**</i>	1	9
		<i>Acinetobacter lwoffii</i>	2	1
		<i>Lactococcus plantarum</i>	1	16

Rdeče označene bakterijske vrste so del prehodne normalne mikrobne flore kože.

** dve ali več različnih bakterijskih vrst istega rodu

Orientacijski kriterij za vrednotenje rezultatov nadzora zraka s sedimentacijskimi ploščami navaja, da naj na petrijevkah, ki so izpostavljene v sobah za intenzivno nego, ne bi zraslo več kot 20-30 kolonij (49). V izolacijskih sobah je bila povprečna koncentracija bakterij v zraku 16 CFU/m³ (3-50 CFU/m³). V eni čisti sobi sta bila agarja negativna, v drugi pa števila ene bakterijske vrste nismo mogli določiti. Če odvezamemo te tri vrednosti, je povprečna koncentracija bakterij v zraku znašala 13 CFU/m³ (5-36 CFU/m³). Vrednosti v obeh tipih bolniških sob torej niso presegale priporočene koncentracije bakterij v zraku.

Poleg števila je zelo pomembna tudi vrsta bakterij v zraku. V izolacijskih sobah smo na 18 pozitivnih krvnih agarjih določili 15 bakterijskih vrst, na 16 pozitivnih agarjih v čistih sobah pa 13 ali več bakterijskih vrst. V izolacijskih sobah je bilo 46,7 % bakterijskih vrst, ki so del stalne normalne človeške flore, v čistih pa je bil ta odstotek višji in je znašal 75 %. Rod *Staphylococcus* smo našli v 85,7 % vseh izoliranih bakterijskih vrst, ki predstavljajo del stalne normalne človeške flore v izolacijskih sobah in v 66,7 % v čistih sobah. V zraku obeh tipov sob smo napogosteje izolirali *Micrococcus luteus* in *Staphylococcus epidermidis*. V izolacijskih sobah smo obe omenjeni bakterijski vrsti izolirali na sedmih pozitivnih krvnih agarjih, v čistih sobah pa *Micrococcus luteus* na devetih in *Staphylococcus epidermidis* na petih.

Tudi druge raziskave so pokazale, da so v bolnišničnih prostorih zastopani predvsem Gram pozitivni koki (56). V čistih sobah nismo izolirali bakterijskih vrst iz rodu *Bacillus*, v nasprotju z izolacijskimi sobami, v katerih so te predstavljale kar 75 % vseh okoljskih bakterijskih vrst. Bakterijske vrste, označene z rdečo barvo (*Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter lwoffii*), so oportunistične in lahko povzročijo okužbe pri imunsko oslabljenih bolnikih. Za njih so na IMI naredili tudi antibiogram, ki je pri dveh bakterijskih vrstah (*Enterococcus faecalis* in *Pseudomonas aeruginosa*) pokazal njihovo odpornost proti nekaterim antibiotikom. Literatura navaja, da Gram negativne bakterije običajno v zraku niso zastopane v izobilju, občasno se pojavljajo bakterijske vrste iz rodov *Acinetobacter*, *Aeromonas* in *Flavobacterium*, še posebej pa so pomembne tiste iz rodu *Pseudomonas* (56).

S sedimentacijsko metodo smo dobili le kvalitativne rezultate. Gre za orientacijske vrednosti in ne za prikaz dejanske mikrobne kakovosti zraka (44). Nizka cena in napoved možne kontaminacije površin pa dajeta tej metodi določeno prednost v uporabi (46).

4.2.3 Ukrepi po mikrobiološkem nadzoru zraka

Ugotovimo lahko, da kvaliteta zraka v sobah, kjer poteka priprava farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo, ni primerna. Sterilnost izdelkov mora biti zagotovljena na vseh stopnjah priprave do končne aplikacije. Za ohranitev sterilnosti izdelka, ki ga pripravimo iz predhodno sterilnih sestavin, mora njigova priprava potekati po aseptičnem postopku, v nasprotnem primeru je za mikrobiološko kakovost odgovoren uporabnik sam. EC GGMP navaja, da morajo biti pripravki, izdelani pod aseptičnimi pogoji, pripravljene v pogojih čistote razreda A (npr. LAF), in sicer v prostoru čistote razreda B ali pa je potrebno pripravek sterilizirati v končni ovojnini. V razredu čistote A je lahko koncentracija bakterij v zraku $<1 \text{ CFU/m}^3$. Ta vrednost velja za analizo zraka opravljeno z metodo presesavanja in s sedimentacijsko metodo, ko petrijevko napolnjeno z gojiščem izpostavimo atmosferi 4 ure ali manj (8, 10). Aseptičnih pogojev za pripravo izdelkov za parenteralno aplikacijo na oddelku torej ni mogoče zagotoviti.

Ustrezne ukrepe že predvideva SOP za pripravo zdravil z parenteralno uporabo, pri čemer navaja, da mora biti prostor za pripravo tovrstnih zdravil ločen od ostalih prostorov, zaprt, brez motenj iz okolice, primerne velikosti za vsaj dve delovni mesti in dobro osvetljen. Zagotavljati mora predpisano temperaturo (20-21 °C) in relativno vlažnost (45-55 %). V prostoru se lahko nahajata samo oprema in pribor, ki ju potrebujemo pri delu. Takšen prostor bi medicinskim sestram zagotovil posebno zbranost pri delu (59). Kot dodaten ukrep predlagamo postavitev komore LAF v ločen, nekvalificiran prostor, s čimer bi še dodatno zmanjšali tveganje za mikrobiološko kontaminacijo farmacevtskih pripravkov.

4.3 Kontrola snažnosti delovnih površin

4.3.1 Primerjava snažnosti med nerazkuženimi in razkuženimi delovnimi površinami pred pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo

Na oddelku smo skupno vzorčili 16 delovnih površin v fazi pred delom, in sicer od tega 10 nerazkuženih in 6 razkuženih. V Preglednici XIV so zbrani podatki o snažnosti delovnih površin v izolacijskih in čistih sobah pred pripravo farmacevtskih izdelkov.

Preglednica XIV: Kontrola snaznosti delovnih površin pred pripravo farmacevtskih izdelkov v izolacijskih in čistih sobah.

	ŠT. VSEH BRISOV	Število pozitivnih	% pozitivnih	Število negativnih	% negativnih
Nerazkužena delovna površina	10	7	70,0	3	30,0
Razkužena delovna površina	6	0	0	6	100,0

Vse razkužene delovne površine so bile 100 % negativne, nerazkužene pa so bile negativne v le 30 %. Razlike med nerazkuženimi in razkuženimi delovnimi površinami so statistično značilne ($p=0,011$, Fisherjev natančni test).

S tem smo predstavili pomembnost razkuževanja delovnih površin. Na oddelku so pri razkuževanju delovnih površin medicinske sestre zelo neusklajene. Nekatere jo razkužijo, druge pa razkuževanje kar opustijo.

4.3.2 Primerjava učinkovitosti 0,25 % raztopine Surfanios citron in robčkov Klerwipe®-70/30

To raziskavo smo izvedli sami, neodvisno od dela medicinskih sester. Zanimala nas je dezinfekcijska učinkovitost 0,25 % raztopine Surfanios citron napram alkoholnim robčkom Klerwipe®-70/30 (prepojeni s sterilnim, denaturiranim 70 % etanolom), ki jih pri aseptičnem postopku uporabljajo v Lekarni UKCL. Za raziskavo smo se odločili, ker je Surfanios citron® čistilno in dezinfekcijsko sredstvo namenjeno za redno čiščenje in razkuževanje nekritičnih površin, kot so tla, stene, pohištvo, pa tudi opreme in medicinskih pripomočkov, ki pridejo v stik z nepoškodovano kožo (51). Minimalni čas učinkovanja za njegovo baktericidno delovanje je 5 minut, za mikobaktericidno 15 minut, za fungicidno 15 minut in za virucidno 5 minut (52). Medicinske sestre to raztopino sicer uporabljajo za razkuževanje delovnih površin pri pripravi sterilnih farmacevtskih izdelkov, vendar pa ne upoštevajo časa, ki je potreben za baktericidno delovanje. Literatura navaja, da za brisanje čistih površin (pred aseptičnimi posegi in pred pripravo parenteralnega zdravljenja) zadošča alkohol (15). Baktericidno učinkovitost različnih koncentracij etanola so preučili na različnih mikroorganizmih. Na *Pseudomonas aeruginosa* deluje etanol baktericidno v koncentracijah od 30 do 100 %, in sicer v 10 sekundah. Gram pozitivne bakterije, kot so *Staphylococcus aureus* in *Streptococcus pyogenes* pa so nanj bolj odporne, saj jih v 10 sekundah ubije le višja koncentracija etanola, in sicer od 60 do 95 % (51).

Austin in Elia (60) sta mikrobiološko ovrednotila delo farmacevta in medicinske sestre pri pripravi parenteralnih izdelkov na kliničnem oddelku. Pri spremljanju farmacevta, so z vzorčenjem delovne površine s kontaktnimi ploščami v fazi pred delom določili 16.9 ± 4.157 CFU/kontakno ploščo. Po razkuževanju z alkoholnimi robčki (70 % izopropilni alkohol) pa so bile površine mikrobiološko negativne. V tej raziskavi medicinske sestre niso razkuževale delovnih površin pred pripravo farmacevtskih izdelkov, zato jih niso vzorčili.

Preglednica XV prikazuje rezultate testiranja učinkovitosti 0,25 % raztopine Surfanios citron in robčkov Klerwipe[®]-70/30.

Preglednica XV: Testiranje učinkovitosti 0,25 % raztopine Surfanios citron in robčkov Klerwipe[®]-70/30.

	Nerazkužena površina	0,25 % SURFANIOS CITRON	Alkoholni robčki KLERWIPE [™] -70/30
Število pozitivnih brisov	2	3	0
Število negativnih brisov	1	21	20
Izolirane bakterije, CFU/dm ²	<i>Enterococcus faecium</i> - VRE, 50CFU/dm ² <i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>Pneumoniae</i> -ESBL, 50CFU/dm ²	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , 50CFU/dm ² <i>Staphylococcus hominis</i> , 50CFU/dm ² <i>Aerococcus viridans</i> , 50CFU/dm ²	

Najprej smo za brisanje delovne površine z enosmernimi gibi uporabili 0,25 % raztopino Surfanios citron. Od 24 odvzetih brisov razkuženih površin, jih je bilo 21 (87,5 %) negativnih in 3 (12,5 %) pozitivni. Ob naslednjem obisku oddelka smo delovne površine razkužili z alkoholnimi robčki Klerwipe[®]-70/30. Vsi brisi so imeli negativen mikrobiološki izvid.

Razlike v učinkovitosti razkuževanja med 0,25 % raztopino Surfanios citron in robčki Klerwipe[™]-70/30 niso bile statistično značilne ($p=0,239$, Fisherjev natančni test).

Površine za pripravo zdravil za parenteralno uporabo bi morale biti 100 % nekontaminirane, saj predstavljajo preveliko tveganje za okužbo pripravka. Na podlagi našega vzorca lahko rečemo, da je razkuževanje nujno potrebno, saj smo na 2 nerazkuženih površinah izolirali *Enterococcus faecium*-VRE in *Klebsiella pneumoniae*-ESBL. Kljub razkuževanju z 0,25 % raztopino Surfanios citron smo na delovnih površinah

izolirali *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis* in *Aerococcus viridans* in s tem pokazali, da je izbira te raztopine za razkuževanje delovnih površin neustrezna.

4.3.3 Primerjava snažnosti delovnih površin pred in po pripravi farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo

Izolacijske sobe

V izolacijskih sobah smo vzorčili 7 delovnih površin za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo. Brise smo jemali v fazi pred delom in po njem. Preglednica XVI prikazuje rezultate mikrobiološkega nadzora snažnosti delovnih površin pred in po pripravi farmacevtskih izdelkov v izolacijskih sobah.

Preglednica XVI: Mikrobiološki rezultati kontrole snažnosti delovnih površin pred in po pripravi farmacevtskih izdelkov v izolacijskih sobah.

Delovna površina	IZOLACIJSKE SOBE		
	Pred		Po
1	Delovna površina pred delom-nerazkužena	NEGATIVNO	NEGATIVNO
	Delovna površina pred delom-razkužena	NEGATIVNO	
2	Delovna površina pred delom-razkužena	NEGATIVNO	ni podatka
3	Delovna površina pred delom-nerazkužena	<i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Staphylococcus haemolyticus</i> , 50 CFU/dm ²	<i>Micrococcus luteus</i> , 50 CFU/dm ²
4	Delovna površina pred delom-nerazkužena	NEGATIVNO	NEGATIVNO
5	Delovna površina pred delom-nerazkužena	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , 50 CFU/dm ²	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> , 50 CFU/dm ²
6	Delovna površina pred delom-razkužena	NEGATIVNO	NEGATIVNO
7	Delovna površina pred delom-nerazkužena	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , 50 CFU/dm ²	NEGATIVNO
	Delovna površina pred delom-razkužena	NEGATIVNO	

Iz Preglednice XVI je razvidno, da smo delovni površini 1 in 7 v fazi pred delom vzorčili pred razkuževanjem in nato še po razkuževanju. Nerazkužena delovna površina 1 je bila negativna, delovna površina 7 pa pozitivna. Po razkuževanju pa sta bili obe površini negativni.

Delovni površini 2 in 6 smo v fazi pred delom vzorčili samo po razkuženju in sta bili obe negativni. Ostale delovne površine (3, 4, 5) smo v fazi pred delom vzorčili nerazkužene. V

primeru dveh nerazkuženih delovnih površin, in sicer 3 in 5, sta medicinski sestri zdravila pripravljali na kontaminiranih površinah. Mikroorganizme stalne normalne flore kože smo določili tako na pozitivnih površinah pred delom, kot po njem.

Čiste sobe

V čistih sobah smo prav tako vzorčili 7 delovnih površin za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo. Brise smo tudi v tem primeru jemali v fazi pred delom in po njem. Preglednica XVII prikazuje rezultate mikrobiološkega nadzora snažnosti delovnih površin pred in po pripravi farmacevtskih izdelkov v čistih sobah.

Preglednica XVII: Mikrobiološki rezultati kontrole snažnosti delovnih površin pred in po pripravi farmacevtskih izdelkov v čistih sobah.

Delovna površina	ČISTE SOBE		
	Pred		Po
1	Delovna površina pred delom-nerazkužena	NEGATIVNO	NEGATIVNO
2	ni podatka		NEGATIVNO
	ni podatka		<i>Staphylococcus epidermidis</i> , 50 CFU/dm ²
3	Delovna površina pred delom-razkužena	NEGATIVNO	NEGATIVNO
4	Delovna površina pred delom-nerazkužena	<i>Staphylococcus pasteurii</i> , 50 CFU/dm ²	<i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Bacillus cereus</i> , 50 CFU/dm ²
5	Delovna površina pred delom-nerazkužena	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , 250 CFU	<i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Paenibacillus</i> spp., 50 CFU/dm ²
6	Delovna površina pred delom-nerazkužena	<i>Propionibacterium acnes</i> + <i>Staphylococcus lugdunensis</i> , 50 CFU/dm ²	<i>Filifactor villosus</i> , 50 CFU/dm ²
	Delovna površina pred delom-razkužena (krožni gibi)	NEGATIVNO	
7	Delovna površina pred delom-nerazkužena	<i>Staphylococcus capitis</i> , 50 CFU/dm ²	<i>Corynebacterium</i> spp., 50 CFU/dm ²

Delovno površino 6 smo v fazi pred delom vzorčili nerazkuženo in razkuženo. Na nerazkuženi smo določili bakterijske vrste stalne normalne flore kože in sluznic, z razkuževanjem pa smo dosegli negativen mikrobiološki izvid. Tekom dela se je ta delovna površina kontaminirala z okoljsko bakterijsko vrsto. Štiri delovne površine (1, 4, 5 in 7) smo v fazi pred delom vzorčili nerazkužene. Tri od teh so bile tako pred, kot po pripravi farmacevtskih izdelkov pozitivne. Izolirane bakterijske vrste pred pripravo so predstavljale del stalne normalne flore kože in sluznic, po pripravi pa so bile na površinah prisotne tudi

okoljske bakterijske vrste *Bacillus cereus* in *Paenibacillus* spp. Delovno površino 3 smo vzorčili razkuženo in je bila negativna tako pred, kot po delu.

Z nadzorom snažnosti delovnih površin smo pokazali, da lahko med pripravo farmacevtskih izdelkov pride do prenosa mikroorganizmov na delovno površino. Vir bakterijskih vrst stalne normalne flore kože so najverjetneje roke medicinskih sester, okoljske bakterijske vrste pa lahko izvirajo s površin vsebnikov, ovojnin igel, brizg ali drugih predmetov, prisotnih na delovnem pultu.

4.3.4 Ukrepi po kontroli snažnosti delovnih površin

Standardni operativni postopek predpisuje za razkuževanje delovnih površin alkoholne razkužilne robčke ter brisanje samo v eni smeri, in sicer od zgoraj navzdol ali od leve proti desni, nikoli pa s krožnimi gibi (59). Delovne površine, ki so jih medicinske sestre razkužile z 0,25 % raztopino Surfanios citron so se sicer izkazale kot učinkovito razkužene, vendar pa je vzorec le šestih delovnih površin premajhen, da bi lahko nedvoumno potrdili učinkovitost tega razkužila. Na to smo pomislili, ko smo delovne površine sami razkužili z 0,25 % raztopino Surfanios citron, pri čemer smo na večjem vzorcu ugotovili 12,5 % mikrobiološko pozitivnih delovnih površin. Prav tako se namembnost razkužila izključuje z njegovo uporabo na oddelku in s priporočili.

Na delovnem pultu so lahko prisotni samo tisti predmeti, ki so potrebni za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo. Stalno mesto na zadnjem delu delovne površine imajo zabojnik za ostre neinfektivne predmete, zabojnik za odpadno steklovino, zabojnik za ostanke zdravil, doza s sterilnimi alkoholnimi robčki za površine Klerwipe®-70/30 in posamično pakirani majhni sterilni alkoholni robčki. Vsekakor je neprimerno, da so na pultu prisotne vrečke za odpadno ovojnino, razkužilo za roke, 0,25 % raztopina Surfanios citron, papirnate brisače zloženske, glukometer, pladenj z odprtimi večodmernimi vsebniki zdravil in nesterilnimi alkoholnimi robčki, pladenj z laringoskopom in laringoskopskimi žlicami ter v neposredni bližini zabojnik za ostre infektivne predmete in koš za odpadke.

4.4 Kontrola snažnosti rok

Kontrolo snažnosti rok smo izvedli v obeh tipih sob v različnih fazah priprave farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo (pred delom, po delu, po delu in aplikaciji). V izolacijskih sobah smo zbrali 32 brisov desnih in levih rok. Roke smo vzorčili 7 medicinskim sestram v različnih fazah dela. Kar 31 (96,9 %) brisov je bilo pozitivnih. V čistih sobah pa smo zbrali 36 brisov, vzorčenih z rok 8 oseb v različnih fazah, od katerih jih je bilo 24 (66,7 %) pozitivnih.

4.4.1 Učinkovitost samostojnega razkuževanja rok, v primerjavi z umivanjem in razkuževanjem v izolacijskih in čistih sobah

Izolacijske sobe

V izolacijskih sobah si je polovica medicinskih sester roke pred pripravo umila in razkužila, polovica pa samo razkužila. Preglednica XVIII prikazuje rezultate vzorčenja površin rok v fazi pred pripravo farmacevtskih izdelkov v izolacijskih sobah.

Preglednica XVIII: Kontrola snažnosti rok pred delom v izolacijskih sobah.

	ŠT. VSEH BRISOV	Število pozitivnih	% pozitivnih	Število negativnih	% negativnih
samo razkužene roke	8	8	100	0	0
umite, razkužene roke	8	7	87,5	1	12,5

V izolacijskih sobah smo dobili pozitiven mikrobiološki izvid pri vseh vzorčenih brisih razkuženih rok. Medicinske sestre, ki so si pred pripravo farmacevtskih izdelkov roke najprej umile in nato pa še razkužile, so imele brise pozitivne v 87,5 %.

Preglednici XIX in XX predstavljata spekter bakterijskih vrst ter skupno in posamezno število bakterijskih kolonij na rokah po umivanju in razkuževanju (Preglednica XIX) oziroma samo po razkuževanju (Preglednica XX) v izolacijskih sobah.

Preglednica XIX: *Spekter bakterijskih vrst na umitih in razkuženih rokah v izolacijskih sobah.*

<i>Bakterijske vrste na umitih in razkuženih rokah pred delom (IZ sobe)</i>	<i>Št. brisov</i>	<i>Skupno število kolonij (število kolonij posamezne bakterijske vrste*) [CFU/dm²]</i>
<i>Bacillus cereus</i>	1	50
<i>Paenibacillus</i> spp.** <i>Bacillus</i> spp.**	1	50
<i>Bacillus thuringiensis</i>	1	50
<i>Bacillus</i> spp.** <i>Rhizobiuk radiobacter</i> <i>Bacillus megaterium</i>	1	650 600*
<i>Bacillus circulans</i>	1	50
<i>Bacillus infantis</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> <i>Bacillus circulans</i> <i>Bacillus simplex</i>	1	500 50*
<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Bacillus thuringiensis</i>	1	1050* 50*

Preglednica XX: *Spekter bakterijskih vrst na razkuženih rokah v izolacijskih sobah.*

<i>Bakterijske vrste na razkuženih rokah pred delom (IZ sobe)</i>	<i>Št. brisov</i>	<i>Skupno število bakterijskih kolonij [CFU/dm²]</i>
<i>Bacillus cereus</i>	1	50
<i>Rhizobiuk radiobacter</i>	1	50
<i>Bacillus pumilus</i> <i>Paenibacillus</i> spp.**	1	50
<i>Bacillus muralis</i>	1	50
<i>Paenibacillus urinalis</i>	1	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Bacillus licheniformis</i>	1	50
<i>Bacillus</i> spp.** <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	50

Rdeče označena bakterijska vrsta je del prehodne normalne mikrobne flore kože.

** dve ali več različnih bakterijskih vrst istega rodu

Po umivanju in razkuževanju rok ter samostojnem razkuževanju rok smo v vsaki skupini zbrali po osem brisov. Če primerjamo število brisov, na katerih smo določili več kot eno bakterijsko vrsto, vidimo, da so bili po umivanju in razkuževanju takšni štirje (50 %), po samostojnem razkuževanju pa trije (37,5 %). Prav tako je bilo v primeru umitih in razkuženih rok na treh od štirih brisov z več kot eno bakterijsko vrsto določenih od 500 do 1050 bakterijskih kolonij (*Bacillus megaterium* 600 CFU/dm², *Staphylococcus epidermidis* 1050 CFU/dm², *B. infantis*+*B. thuringiensis*+*B. circulans*+*B. simplex* 500 CFU/dm²). Na ostalih brisih umitih in razkuženih rok ter samostojno razkuženih rok pa je bilo izoliranih 50 CFU/dm².

Po umivanju in razkuževanju so bile na rokah množično zastopane bakterijske vrste iz rodu *Bacillus*, pri čemer jih je bilo manj na razkuženih rokah. Predstavnik stalne normalne flore kože je bil le *Staphylococcus epidermidis*, ki se je pojavil na rokah po aplikaciji obeh

načinov higiene, vendar pa pogosteje samo na razkuženih rokah. Prisotnosti bakterijske vrste *Paenibacillus urinalis* na rokah medicinskih sester ob rokovanju s sterilnimi farmacevtskimi pripravki nismo pričakovali in je nedopustna.

Čiste sobe

V čistih sobah smo vzorčili 12 razkuženih rok ter 8 umitih in razkuženih rok. Preglednica XXI prikazuje mikrobiološke rezultate brisov vzorčenih rok v fazi pred pripravo farmacevtskih izdelkov v čistih sobah.

Preglednica XXI: *Kontrola snažnosti rok pred delom v čistih sobah.*

	ŠT. VSEH BRISOV	Število pozitivnih	% pozitivnih	Število negativnih	% negativnih
samo razkužene roke	12	5	41,7	7	58,3
umite, razkužene roke	8	7	87,5	1	12,5

Samo razkužene roke so bile v 41,7 % mikrobiološko pozitivne, umite in razkužene roke pa v 87,5 %. Razlike v frekvencah pozitivnih izidov med razkuževanjem ter kombinacijo umivanja in razkuževanjem niso bile statistično značilne ($p=0,07$, Fisherjev natančni test). Kljub temu iz našega vzorca vidimo, da je bilo razkuževanje rok učinkovitejše kot kombinacija umivanja in razkuževanja.

Preglednici XXII in XXIII prikazujeta spekter bakterijskih vrst in skupno število bakterijskih kolonij na rokah po umivanju in razkuževanju (Preglednica XXII) ter samo po razkuževanju (Preglednica XXIII), v čistih sobah.

Preglednica XXII: *Spekter bakterijskih vrst na umitih in razkuženih rokah v čistih sobah.*

Bakterijske vrste na umitih in razkuženih rokah pred delom (Č sobe)	Št. brisov	Skupno število bakterijskih kolonij [CFU/dm²]
<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	2	50
<i>Brevibacterium</i> spp.**	1	50
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	50
<i>Lactobacillus</i> spp.**	2	50
<i>Staphylococcus</i> spp.**	1	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	50

Preglednica XXIII: *Spekter bakterijskih vrst na razkuženih rokah v čistih sobah.*

Bakterijske vrste na razkuženih rokah pred delom (Č sobe)	Št. brisov	Skupno število bakterijskih kolonij [CFU/dm²]
<i>Paenibacillus</i> spp.**	3	50
<i>Bacillus circulans</i>	1	50
<i>Burkholderia cepacia</i> <i>Paenibacillus</i> spp.**	1	50

** dve ali več različnih bakterijskih vrst istega rodu

Na pozitivnih brisih po umivanju in razkuževanju rok smo določili tako bakterijske vrste, ki so del stalne normalne flore kože in sluznic človeka, kot tudi okoljske bakterijske vrste. Na samo razkuženih rokah pa smo izolirali le okoljske bakterijske vrste.

Ugotovitve glede uporabljene tehnike higiene rok

Tehnika umivanja rok z vodo in milom, v kombinaciji z alkoholnim razkuževanjem, bi se teoretično morala izkazati učinkovitejša kot samostojno razkuževanje. Z umivanjem namreč odstranimo lipide, na katerih se drži umazanija, zemlja, različne organske snovi, ohlapno prilepljeni mikroorganizmi prehodne flore in spore, razkuževanje rok pa dodatno odstrani od 100 do 1000-krat več mikroorganizmov (21, 22). Prav tako pa preprečuje tudi izstopanje stalne mikrobne populacije iz globljih plasti kože (2). Vendar z našo raziskavo tega nismo potrdili. V izolacijskih sobah ni bilo bistvene razlike v frekvencah pozitivnih mikrobioloških izvidov po kombinaciji umivanja in razkuževanja ter samostojnega razkuževanja. V čistih sobah pa smo določili več pozitivnih brisov po umivanju in razkuževanju. Vzrok za to smo našli v nepravilni tehniki higienskega umivanja rok. Roke moramo po umivanju dobro osušiti, v nasprotnem primeru prisotnost vlage zniža koncentracijo alkohola, s tem pa se zmanjša njegova učinkovitost razkuževanja (21). Neučinkovitost razkuževanja po umivanju rok se je pokazala v obeh tipih sob, saj smo izolirali več bakterijskih vrst kot po samem razkuževanju, pri čemer so nekatere tvorile zelo visoko število kolonij.

Medicinske sestre so si v približno 50 % le razkužile roke. Uporaba alkoholov ni priporočljiva takrat, ko so roke vidno umazane. V teh primerih je potrebno roke predhodno umiti z vodo in milom. Doslednost pri umivanju rok v bolnišničnem okolju je na splošno manjša od 50 %, zato razkuževanje rok z alkoholi pogosto nadomešča umivanje z milom in vodo (25).

4.4.2 Primerjava izoliranih bakterijskih vrst med izolacijskimi in čistimi sobami

Primerjava izoliranih bakterijskih vrst po umivanju in razkuževanju rok

Preglednici XIX in XXII predstavljata spekter bakterijskih vrst ter skupno in posamezno število bakterijskih kolonij na rokah medicinskih sester po umivanju in razkuževanju v izolacijskih (Preglednica XIX) in v čistih sobah (Preglednica XXII).

Na rokah medicinskih sester v izolacijskih sobah so bile skoraj v celoti zastopane okoljske bakterijske vrste (*Bacillus*). V čistih sobah smo jih izolirali le na treh brisih (*Paenibacillus amylolyticus* in *Brevibacterium* spp.), saj je prevladovala stalna normalna flora kože.

V čistih sobah so na umitih in razkuženih rokah bakterijske vrste skupno tvorile po 50 CFU/dm². V izolacijskih sobah pa so nekatere bakterijske vrste na treh od sedmih brisov tvorile od 500 CFU/dm² do 1050 CFU/dm². Kac in sodelavci (27) so z odvzemom odtisov dlani 50 zdravstvenim delavcem, od katerih jih je bilo 30 iz EIT, po stiku z okoljem določili 545 CFU/dm², pred umivanjem rok 305 CFU/dm², po umivanju pa 80 CFU/dm². Izredno visoke vrednosti v naših preiskovanih izolacijskih sobah, v primerjavi z omenjeno raziskavo (27), nam nakazujejo nepravilno izvedeno tehniko higienskega umivanja in razkuževanja rok ali pa stik z okoljem (npr. dotikanje držala za papirnate brisačke zloženke) pred mikrobiološkim vzorčenjem rok.

Primerjava bakterijskih vrst po razkuževanju rok brez predhodnega umivanja

Preglednici XX in XXIII prikazujeta spekter bakterijskih vrst in skupno število bakterijskih kolonij na rokah po razkuževanju v izolacijskih (Preglednica XX) in čistih sobah (Preglednica XXIII).

V izolacijskih sobah smo odvzeli 8 brisov in na vseh določili 100 % pozitiven mikrobiološki izvid. V čistih sobah smo vzorčili 12 rok, pri čemer je bilo 5 brisov (41,7 %) pozitivnih. Dokazali smo, da so razlike v frekvencah pozitivnih brisov rok po razkuževanju v izolacijskih in čistih sobah statistično značilne ($p=0,015$, Fisherjev natančni test).

Če primerjamo Preglednici XX in XXIII vidimo, da je bil v izolacijskih sobah spekter izoliranih bakterijskih vrst širši kot v čistih. V izolacijskih sobah smo določili veliko bakterijskih vrst *Bacillus*. Od bakterijskih vrst normalne človeške flore pa sta se v izolacijskih sobah pojavila *Staphylococcus epidermidis* in *Paenibacillus urinalis*. Prisotnost bakterijske vrste *Staphylococcus epidermidis* je pričakovana, nedopustna pa je izolacija *Paenibacillus urinalis*, ki je normalno zastopan v človeškem urinu in se je na rokah pojavlja kot prehodna normalna flora. V čistih sobah smo določili samo okoljske bakterijske vrste. Girou in sodelavci (26) so ugotovili, da razkuževanje rok s 75 % alkoholom zmanjša mikrobiološko kontaminacijo rok v povprečju za 83 %, raziskava Zaragoze in sodelavcev (26) pa je pokazala zmanjšanje števila bakterijskih kolonij za 88,2 %. Kac in sodelavci (27) so na razkuženih rokah zdravstvenih delavcev določili 10 CFU/dm², kar predstavlja petkrat nižjo vrednost kot smo jo določili v naši raziskavi.

4.4.3 Primerjava snažnosti rok pred in po pripravi farmacevtskih izdelkov

Izolacijske sobe

V izolacijskih sobah smo pri pripravi farmacevtskih izdelkov spremljali 7 oseb. Priloga 5 prikazuje mikrobiološke rezultate snažnosti rok za vsako osebo posebej, in sicer v fazi pred in po delu.

Tri osebe (oseba 2, oseba 3, oseba 4), ki so si pred delom roke samo razkužile, so imele pozitiven mikrobiološki izvid tako po razkuževanju, kot po zaključku priprave zdravila. Osebe 1, 5, 6 in 7 pa se so na delo pripravile z umivanjem in razkuževanjem rok. V tem primeru je bila samo desna roka osebe 1 mikrobiološko negativna, po pripravi oz. aplikaciji pripravljenega izdelka, pa so bili vsi brisi rok pozitivni.

Po pregledu izoliranih bakterijskih vrst pred in po delu vidimo, da se bakterije, ki smo jih izolirali pred delom, niso pojavile tudi po delu. Pojavnost vsaj ene enake bakterijske vrste pred in po delu smo opazili le pri osebah 2, 5 in 7, in sicer na njihovih desnih rokah. Vzroki za takšno raznolikost so v omejitvah tehnike jemanja brisov, saj je z vatirano palčko nemogoče zajeti enaka brisna mesta, v prenašanju mikroorganizmov med delom ter v izstopanju stalne bakterijske flore iz globljih plasti kože.

Kritične bakterijske vrste smo v preglednicah označili z rdečo barvo. Pri osebi 3 smo po pripravi zdravila izolirali *Staphylococcus aureus*-iMLSb, ki na razkuženih rokah pred delom ni bil prisoten. Izpostaviti moramo še osebo 4, ki smo jo spremljali pri pripravi dveh

izdelkov. Po izdelavi prvega zdravila smo vzorčili obe roki in na desni določili *Paenibacillus urinalis*. Sledilo je razkuževanje rok in ponovno vzorčenje. Ta bakterijska vrsta se je ponovno pokazala na desni roki, kar kaže na neučinkovitost razkuževanja. Po pripravi drugega farmacevtskega zdravila pa smo izolirali še *Staphylococcus aureus*-MRSA.

Čiste sobe

V čistih sobah smo pri pripravi terapije za parenteralno uporabo spremljali 8 zdravstvenih delavcev. Priloga 6 prikazuje mikrobiološke rezultate snažnosti rok za vsako osebo posebej, v fazi pred in po delu.

Štiri osebe (oseba 4, 5, 7, 8) so si pred pripravo roke umile in razkužile, tri (osebe 1, 3, 6) pa samo razkužile. Roke so si prav tako razkužile osebe 5, 6, 8, in sicer pred pripravo drugega farmacevtskega izdelka. Ker smo s svojim delom posegali v delo medicinskih sester in s tem motili proces priprave, v več primerih nismo mogli pridobiti podatkov o snažnosti rok. Tako npr. osebi 2 pred začetkom priprave farmacevtskega izdelka nismo uspeli odvzeti brisa rok, ker je nestabilno bolnikovo zdravstveno stanje zahtevalo čim hitrejšo aplikacijo zdravila. Podobno se je zgodilo tudi pri osebi 8, po delu. Pri dveh medicinskih sestrah, ki sta pripravljali po dva pripravka (osebi 5 in 6), smo izpustili vzorčenje rok po pripravi prvega, da nismo ovirali procesa izdelave.

Osebe 1, 3 in 6 so si roke učinkovito razkužile, zato je bil pri njih mikrobiološki izvid negativen. Po delu sta imeli osebi 1 in 6 pozitivne brise desne in leve roke, kar kaže na prenos mikroorganizmov iz okolja in prodiranje stalne normalne flore iz globljih plasti kože. Osebi 3 smo odvzeli brisa rok po aplikaciji pripravljenega zdravila in izolirali višjo koncentracijo *Staphylococcus epidermidis* (150-400 CFU/dm²). Tudi Kac in sodelavci (27) so na rokah zdravstvenih delavcev po stiku z bolnikom izolirali 295 CFU/dm². Oseba 4 je imela po umivanju in razkuževanju rok mikrobiološko negativno samo levo roko, po pripravi farmacevtskega izdelka pa obe. Ta primer nam je pokazala, da z brisom ne moremo zajeti enakih brisnih mest. Menimo, da je bil negativen mikrobiološki izvid desne roke najverjetneje lažno negativen, saj smo pred delom na njej izolirali eno bakterijsko vrsto. Podobno se je pokazalo tudi pri osebi 7, ki je imela obe roki po umivanju in razkuževanju mikrobiološko pozitivni, po delu pa je bil izvid leve roke negativen. Izpostaviti moramo še osebo 8, pri kateri smo po delu izolirali *Paenibacillus urinalis*. Bakterijska vrsta ni bila prisotna na rokah pred pripravo farmacevtskega izdelka, zato

predpostavljamo, da jo je medicinska sestra dobila ob stiku z okoljskim predmetom, ki je bil kontaminiran.

4.4.4 Ukrepi po kontroli snažnosti rok

Ker s tehniko umivanja z milom ali razkuževanja z alkoholom ne moremo odstraniti vseh mikroorganizmov, se morajo pri pripravi farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo uporabljati rokavice, ki so del osebne varovalne opreme. Pri pripravi je poleg rokavic potrebna še uporaba zaščitnega pokrivala in zaščitne maske. Medicinske sestre si morajo pred pripravo nadeti zaščitno pokrivalo, ki mora pokrivati vse lase in zaščitno masko, ki ščiti pripravek pred mikrobno floro in kapljičnim prenosom (17, 59). Že dihanje po gumijastih zamaških vial in iglah brez pokrovčkov predstavlja potencial za mikrobiološko kontaminacijo pripravkov (61). Nato si morajo razkužiti roke, in sicer v skladu s pravili higienskega razkuževanja, si nadeti zaščitne nitrilne rokavice in orokavičene roke razkužiti s sterilnimi razkužilnimi alkoholnimi robčki za površine Klerwipe®-70/30 (15, 59).

Na oddelku uporabljajo pri negi bolnikov preiskovalne rokavice iz lateksa pakirane po sto, ki pa so zelo slabe kvalitete. Ob brisanju z alkoholom se njihova površina spremeni in postane zelo porozna. Sterilne rokavice iz lateksa, ki jih uporabljajo v lekarni za delo v aseptičnem okolju so sicer boljše kvalitete, vendar tudi te prepuščajo alkohol, zato pri delu uporabljajo dvojno orokavičenje. Te rokavice so za delo na oddelkih predrage. Nitrilne rokavice so cenejše in predstavljajo kompromis. Brisanje z alkoholom na njih ne povzroča vidnih sprememb, mikrobiološki brisi pa so negativni. To je pokazala interna raziskava, ki so jo izvedli na Nevrološki kliniki Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana, in sicer v obdobju od aprila do septembra 2012. Nitrilne rokavice, razkužene z alkoholnimi razkužilnimi robčki, so bile v 95 % mikrobiološko negativne, po razkuževanju z razkužilom za roke pa v 68 %. Na podlagi teh rezultatov smo izključili uporabo razkužil za orokavičene roke in predlagamo uporabo sterilnih razkužilnih alkoholnih robčkov.

Naša raziskava na oddelku za intenzivno terapijo KOAIT je pokazala tudi, da se med delom roke kontaminirajo, zato je med pripravo potrebno brisanje rokavic po vsaki stopnji, ki lahko predstavlja tveganje za kontaminacijo (npr. po razkuževanju delovne površine, vbodnih mest prebodnih zamaškov, odpiranju stične ovojnine, v katerih so igle in brizge, itd.).

4.5 Kontrola snažnosti površin vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo

4.5.1 Pregled vzorčenih vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo

Preglednica XXIV prikazuje vzorčenje površin vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo, predhodno shranjenih v omari in število odvzetih brisov s posamezne površine, v obeh tipih bolniških sob.

Preglednica XXIV: *Pregled vzorčenih površin vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo v izolacijskih in čistih sobah.*

	Mesto vzorčenja							
	Vsebnik polietilenski	Vsebnik polietilenski + sign.	Ampula steklena	Ampula steklena + sign.	Ampula polietilenska + sign.	Viala steklena	Viala steklena + sign.	Viala-gumijasti zamašek
Število brisov	10	9	8	9	8	9	9	11

Preglednica XXIV nam prikazuje, katere vsebnike, glede na material stične ovojnine in mesto vzorčenja smo v raziskavi obravnavali. Vzorčili smo vsebnike iz polietilena (običajno platenke nosilnih raztopin in ampule zdravil ter dodatkov) in stekla (ampule zdravil, viala elektrolitov, zdravil, dodatkov). Na vsebnikih smo z brisom zajeli površine brez signatur ali površine vsebnikov vključno s papirnatimi signaturami ter gumijaste zamaške vial.

V Prilogi 7 so predstavljeni vsebniki, ki smo jih vzorčili v izolacijskih sobah, v Prilogi 8 pa so vzorčeni vsebniki iz čistih sob.

Vsebnike, ki smo jih vzorčili, so si medicinske sestre pripravile na delovnem pultu neposredno pred pripravo farmacevtskih izdelkov.

4.5.2 Primerjava snažnosti površin vsebnikov glede na material stične ovojnine

Snažnost površin vsebnikov (predhodno shranjeni v omari) smo primerjali glede na material stične ovojnine. Vsebnike so medicinske sestre uporabile za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo. Združili smo vsebnike glede na material

stične ovojnine iz izolacijskih in čistih sob, in sicer po obeh fazah vzorčenja (pred/po delu). V Preglednici XXV so predstavljeni rezultati mikrobiološkega nadzora površin vsebnikov z brisi, glede na material stične ovojnine.

Preglednica XXV: *Kontrola snažnosti površin vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo, glede na material stične ovojnine.*

	ŠT. VSEH BRISOV	Število pozitivnih	% pozitivnih	Število negativnih	% negativnih
Vsebniki polietilenski	27	12	44,4	15	55,6
Vsebniki stekleni	35	13	37,1	22	62,9

Razlike v frekvencah pozitivnih mikrobioloških izidov med polietilenskimi in steklenimi vsebniki niso bile statistično značilne ($p=0,561$, Pearsonov hi-kvadrat test)

4.5.3 Primerjava snažnosti površin vsebnikov glede na mesto vzorčenja

Za primerjavo snažnosti površin vsebnikov glede na mesto vzorčenja smo oblikovali 2 skupini podatkov. Vsebnike smo glede na mesto vzorčenja razdelili na tiste s signaturo (vzorčeni površini vsebnika in signature) in tiste brez nje (vzorčene samo površine vsebnikov). Vključili smo vsebnike (predhodno shranjene v omari) iz obeh tipov bolniških sob, in jih vzorčili pred in po pripravi izdelkov za parenteralno uporabo. Preglednica XXVI prikazuje rezultate mikrobiološkega nadzora površin vsebnikov glede na mesto vzorčenja.

Preglednica XXVI: *Kontrola snažnosti površin vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo, glede na mesto vzorčenja.*

	ŠT. VSEH BRISOV	Število pozitivnih	% pozitivnih	Število negativnih	% negativnih
Vsebniki s signaturo	35	19	54,3	16	45,7
Vsebniki brez signature	36	6	16,7	30	83,3

Petintrideset vsebnikov smo vzorčili po površini stične ovojnine, vključno s signaturami, 36 pa le po površini, brez signatur. Vsebniki vzorčeni po površini stične ovojnine, vključno s signaturami so bili pozitivni v 54,3 %, vzorčeni samo po površini stične ovojnine pa v 16,7 %. Razlike v frekvencah pozitivnih mikrobioloških izidov med vzorčenjem površin brez signature in s signaturo so bile statistično značilne ($p=0,002$, Pearsonov hi-kvadrat test), zato smo izračunali tudi razmerje obetov ($OR=5,9$). S tem napovednim modelom

tveganja smo pokazali, da obstajajo 5,9-krat večji obeti za pozitiven mikrobiološki izid v primeru vzorčenja vsebnikov s signaturo, kot pri tistih brez nje.

Razkuževanje signatur je težavno, saj lahko pride pri tem do njihove omočitve in odstopanja. Posledica je izpostavitve adhezivnih površin signatur, ki niso obdelane z dezinficiensom in nalaganja mikroorganizmov na odstopljenih robovih. Cockcroft in sodelavci (62) so dokazali, da so površine signatur pomemben rezervoar mikroorganizmov, saj je bilo od 30 vzorčenih signatur kar 20 (66,6 %) mikrobiološko kontaminiranih. Zunanja površina signatur je bila 100 % kontaminirana, hkrati vzorčena zunanja in notranja adhezivna površina 90 %, površina robov signatur pa 10 %. Izolirali so bakterijske vrste iz rodov *Staphylococcus*, *Aerococcus* in *Bacillus*, na dveh signaturah pa so bile prisotne plesni in kvasovke (62).

4.5.4 Primerjava snaznosti površin vsebnikov v fazi pred pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo med izolacijskimi in čistimi sobami

V izolacijskih sobah smo pred pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo vzorčili 20 površin vsebnikov (predhodno shranjeni v omari), v čistih pa 37. Preglednica XXVII prikazuje izide mikrobiološkega nadzora vsebnikov v fazi pred delom, tako za izolacijske kot čiste sobe.

Preglednica XXVII: *Mikrobiološki nadzor snaznosti površin vsebnikov pred začetkom dela v izolacijskih in čistih sobah.*

	ŠT. VSEH BRISOV	Število pozitivnih	% pozitivnih	Število negativnih	% negativnih
Vsebniki-izolacijske sobe	20	8	40,0	12	60,0
Vsebniki-čiste sobe	37	14	37,8	23	62,2

V obeh tipih bolniških sob je bil delež kontaminiranih vsebnikov v fazi pred začetkom dela približno enak. Razlike v kontaminaciji površin vsebnikov niso bile statistično značilne ($p=0,873$, Pearsonov hi-kvadrat test). Vsebniki so bili v obeh tipih sob shranjeni v za to namenjenih omarah. Vsekakor smo pričakovali večji obseg kontaminacije vsebnikov v izolacijskih sobah, saj so ob rokovanju izpostavljeni širšemu spektru bakterijskih vrst. Če pogledamo spektre bakterijskih vrst izoliranih s površin vsebnikov pred delom, vidimo, da so bile v obeh tipih bolniških sob prisotne bakterijske vrste stalne normalne kožne flore, ki

predstavljajo približno enak delež. Preglednica XXVIII prikazuje spekter izoliranih bakterijskih vrst v izolacijskih sobah, bakterijske vrste iz čistih sob pa so predstavljene v Preglednici XXIX.

Preglednica XXVIII: Spekter bakterijskih vrst na vsebnikih v izolacijskih sobah

Bakterije na površini vsebnikov pred pripravo terapije v IZ sobah	Število brisov	Skupno število bakterij [CFU/dm²]
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	50
<i>Paenibacillus</i> spp.**	2	50
<i>Propionibacterium acnes</i> <i>Rhizobiuk radiobacter</i>	1	50
<i>Micrococcus luteus</i> <i>Staphylococcus sciuri</i>	1	>10 000
<i>Staphylococcus hominis</i>	1	50

Preglednica XXIX: Spekter bakterijskih vrst na vsebnikih v čistih sobah.

Bakterije na površini vsebnikov pred pripravo terapije Č sobah	Število brisov	Skupno število bakterij [CFU/dm²]
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	50
<i>Micrococcus luteus</i>	1	50
<i>Brevibacterium</i> spp.**	1	50
<i>Staphylococcus succinus</i>	1	50
<i>Bacillus</i> spp.**	1	50
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	50
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	50
<i>Paenibacillus</i> spp.**	1	50
<i>Bacillus circulans</i>	1	50

** dve ali več različnih bakterijskih vrst istega rodu

V obeh tipih sob smo izolirali približno enak delež bakterijskih vrst stalne normalne flore kože. V izolacijskih sobah so bile prisotne naslednje bakterije, ki so del stalne normalne flore kože: *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus hominis*. V čistih pa *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus haemolyticus*, in *Staphylococcus saprophyticus*. Predstavniki okoljskih bakterijskih vrst so bili iz rodov *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacterium*, *Agrobacterium*. *Staphylococcus sciuri* in *Staphylococcus succinus* pa sta naravno prisotna na koži in sluznici živali.

V okviru raziskave smo izvajali le mikrobiološki nadzor površin vsebnikov zdravil, ne pa tudi pripravljenih raztopin, ki so jih sicer obravnavali v drugih raziskavah. V preglednem članku sta Austin in Elia (63) analizirala 8 poročil od leta 1973 do 2006 in ugotovila 5 % (151/2976) kontaminacijo parenteralnih zdravil za individualno potrebo bolnikov, pripravljenih na bolnišničnih oddelkih (63). Bakteriemijske, povzročene s kontaminiranimi parenteralnimi raztopinami naj bi bile redke in se skoraj v celoti povezujejo z okužbami centralnih venskih katetrov. Vendar pa jih ne kaže podcenjevati, saj se lahko pojavijo tudi v primerih, ko bolnik nima vstavljenega katetra, še večjo verjetnost za njihovo pojavnost

pa predstavlja priprava zdravil na bolnišničnih oddelkih (64). Bakteriemije, povezane s kontaminiranimi parenteralnimi raztopinami, običajno povzročajo bakterijske vrste iz družin *Klebsiella*, *Enterobacter* in *Serratia*. (65). V kolikšnem obsegu je vzrok primarne bakteriemije kontaminirana parenteralna raztopina, ki jo pripravi medicinska sestra na oddelku, je raziskoval Macias s sodelavci v Mexico Cityju (64). Če je bila enaka bakterijska vrsta izolirana tako v vzorcu krvi, kot v infuzijski raztopini, so tako bakteriemijo označili kot povzročeno s kontaminirano parenteralno raztopino. Bolnikom, katerim so po razvitih simptomih bakteriemije v vzorcih krvi določili Gram negativne bakterije, so naredili mikrobiološko analizo aplicirane infuzijske raztopine. Določili so 11 % (7/62) primarnih bakteriemij, povzročenih z okuženo parenteralno raztopino, ki niso bile povezane z okužbo centralnega venskega katetra. V teh infuzijskih raztopinah in v krvnih vzorcih so določili *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marscescens*, *Acinetobacter lwoffii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri* in *Pseudomonas fluorescens*. V 1 infuzijski raztopini so zasledili koagulaza-negativni stafilokok, vendar pa so v krvi bolnika izolirali drugo bakterijo. V tem primeru torej okužena parenteralna raztopina ni povzročila bakteriemije pri bolniku. Gram pozitivne bakterije (koagulaza-negativni stafilokoki, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*) so najpogostejše povzročiteljice primarnih bakteriemij, ki so povezane z okužbami centralnih venskih katetrov (64).

Na površinah vsebnikov, ki smo jih vzorčili, nismo izolirali bakterijskih vrst, ki so v literaturi navedene kot pomembni dejavniki za razvoj bakteriemij. Da bi se izognili mikrobiološki kontaminaciji zdravil, se morajo medicinske sestre posluževati tehnike nedotikanja. Ta narekuje izogibanje dotikanju površin, kot so vrh brizge, namestitveni del igle, ki se spoji z vrhom brizge, itd. (59).

4.5.5 Pregled snažnosti vsebnikov v fazi po pripravi farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo

V izolacijskih sobah smo vzorčili površine 8 vsebnikov (predhodno shranjeni v omari) po pripravi farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo. Za te vsebnike smo preverili ali imamo rezultate o njihovi mikrobiološki čistoti pred delom. Trije med njimi so bili tako pred delom, kot po njem neoporečni, 1 pa je bil v obeh fazah kontaminiran. V fazi pred delom smo na njihovi površini izolirali *Micrococcus luteus* in *Staphylococcus sciuri*, po

njem pa *Staphylococcus epidermidis*. Za 4 vsebnike nismo imeli podatkov o kontaminaciji pred delom. Trije od teh so bili po delu mikrobiološko negativni 1 pa pozitiven, in sicer z izoliranim *Staphylococcus aureus*-MRSA. Po pregledu mikrobiološkega izvida, z dne 17. 9. 2014, smo ugotovili, da smo bakterijsko vrsto izolirali z gumijastega zamaška viala Controloc s 40mg praška, po pripravi, in da je oseba, ki je rokovala s tem vsebnikom imela bakterijo MRSA izolirano na brisih rok v fazi po pripravi tega zdravila.

V čistih sobah smo prav tako vzorčili 8 površin vsebnikov (predhodno shranjeni v omari) po delu. Podatkov o čistosti za fazo pred delom nismo imeli. Dva vsebnika sta bila po pripravi farmacevtskega izdelka za parenteralno uporabo kontaminirana s *Staphylococcus epidermidis*.

Od 16 vsebnikov, ki smo jih vzorčili v izolacijskih in čistih sobah po delu, smo samo za 4 vsebnike imeli zagotovljene podatke o snažnosti površin pred delom. Vzrok za to je bila časovna omejenost dostopnosti medicinskih sester pri pripravi farmacevtskih izdelkov. Naša raziskava je morala potekati čim manj moteče, zato se je pogosto dogajalo, da po vzorčenju brisov rok pred delom nismo uspeli vzorčiti tudi vsebnikov zdravil, ki jih je medicinska sestra pred delom pripravila na delovni površini in jih kasneje uporabila.

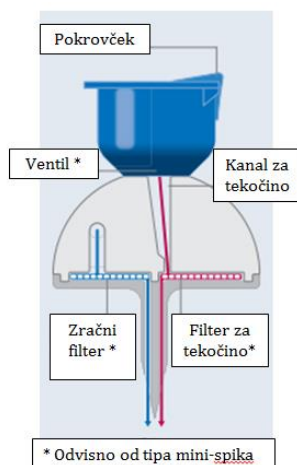
Od 16 vsebnikov, ki smo jim vzeli bris, so bili po delu 4 pozitivni, pri čemer smo imeli samo za 1 podatek o njegovi čistosti pred delom. Dvanajst vsebnikov je bilo po delu mikrobiološko negativnih, vendar pa smo imeli le za 3 med njimi podatke o njihovem stanju pred delom. Vsi 3 so bili negativni, zato lahko s precejšno verjetnostjo sklepamo, da je bilo tudi vseh 9 preostalih vsebnikov pred delom negativnih.

Vzorec vsebnikov je bil premajhen, da bi lahko preverili ali se kontaminacija površin vsebnikov med delom poveča.

4.5.6 Kontrola snažnosti površin odprtih večodmernih vsebnikov

Odprti večodmerni vsebniki imajo v bolniških sobah svoje mesto na plastičnem pladnju, ki se nahaja na robu delovnega pulta. Vzorčili smo viala in polietilenske vsebnike, opremljene z nastavki mini-spike (Mini-Spike[®]), nekateri pa so bili tudi brez njih. Nastavki mini-spike so namenjeni odmerjanju iz večodmernih vsebnikov z injekcijsko brizgo. Vgrajen imajo 0,45 µm zračni filter, nekateri pa tudi 5 µm filter za tekočino ali ventil. Zgradba mini-spika je predstavljena na Sliki 6. Uporaba mini-spika zmanjšuje zračno

kontaminacijo pripravka, zmanjša tveganje za kontaminacijo igle, ki prebada gumijasti zamašek in je v stiku s tekočino ter poenostavlja delovni postopek (66).



Slika 6: Zgradba mini-spika (66)

Vzorčili smo mini-spike (pod pokrovčkom, krilca in gumijasti zamašek pod spikom), ki so bili nameščeni na vialah in polietilenskih vsebnikih ter površino vial (steklo, steklo s signaturo, gumijasti zamašek). V to kategorijo smo vključili tudi vzorčenje površine vsebnika z razkužilom za roke (2 % glicerol v 84 % etanolu) ter ročke za njegovo odmerjenje. Preglednica XXX prikazuje pregled vzorčenih površin odprtih vsebnikov in število odvzetih brisov s posamezne površine, tako v izolacijskih kot čistih sobah.

Preglednica XXX: *Pregled vzorčenih površin odprtih vsebnikov v izolacijskih in čistih sobah.*

	Mesto vzorčenja							
	Spike-pod pokrovčkom	Spike-zunaj (krilca)	Spike-gumijasti zamašek	Viala steklena	Viala steklena+ sign.	Viala gumijasti zamašek	Razkužilo-ročka	Razkužilo-površina vsebnika
Število brisov-izolacijske sobe	2	2	2	1	3	4	2	1
Število brisov-čiste sobe	7	6	4	3	2	3	1	0

V izolacijskih sobah smo vzorčili 2 viali Arterenola (prva odprta 5 ur, druga pa 52 ur), 4 vial 2M magnezijevega sulfata (odprte 5, 22, 24 in 28 ur), 1 površino vsebnika z razkužilom za roke in 2 ročki za njegovo odmerjanje. Katera vzorčena mesta vsebnikov so bila pozitivna, je navedeno v Prilogi 9.

V čistih sobah smo vzorčili površini 2 vial Arterenola (odprti 3 ure in 24 ur), 1 vialo Dipeptivena (neznan čas odprtja), 3 vial kalijevega klorida 1M (2 odprti 24 ur, 1 pa 17

ur), 1 vsebnik natrijevega klorida Braun (odprt 3 ure), 1 vialo 20 % natrijevega klorida (odprta 3 ure), 1 vsebnik glukoze Braun (odprt 3 ure), 1 vialo Propofola (neznan čas odprtja) in 1 ročko za odmerjanje razkužila. Pozitivna vzorčena mesta vsebnikov so navedena v Prilogi 10.

Časa odprtja nismo navedli le za viali Propofola in Dipeptivena, ki smo ju vzorčili v prvih dneh raziskave. Po alarmantnem mikrobiološkem izvidu kontaminirane površine vsebnika s Propofolom, smo se dogovorili za kontinuirano zbiranje informacij o času prvega odprtja vsebnikov. V dokumentu Standardizirani posegi zdravstvene nege je navedeno, da mora biti vsebnik za večkratno uporabo označen z datumom in časom prve uporabe ter podpisom osebe, ki je z njim rokovala (67). Ker vsebnikov medicinske sestre niso označevale, smo jih o času odprtja povprašali. Zato predpostavljamo, da ni nujno, da so naveden časi njihovega odprtja točni. Stanje se je bistveno izboljšalo po prvem sestanku z medicinskimi sestrami v septembru 2014, vendar te napake nismo uspeli v celoti odpraviti. V izolacijskih sobah sta bili 2 viali (33,3 %) od 6 vzorčenih odprti več kot 24 ur, v čistih sobah pa so bili vsi vsebniki vzorčeni znotraj 24 ur po prvem odprtju. Standardizirani posegi zdravstvene nege navajajo, da uporabnost odprtega zdravila običajno poteče v 24 urah (67).

Primerjava mikrobiološke snažnosti površin odprtih večodmernih vsebnikov med izolacijskimi in čistimi sobami

Preglednica XXXI prikazuje mikrobiološki nadzor snažnosti odprtih večodmernih vsebnikov, posebej za izolacijske in čiste sobe. V izolacijskih sobah smo vzorčili 6 vial, 1 površino vsebnika z razkužilom za roke in 2 ročki za njegovo odmerjanje. Skupno smo zbrali 17 brisov. V čistih sobah pa smo vzorčili 8 vial, 2 polietilenska vsebnika in 1 ročko za odmerjanje razkužila in pri tem skupno zbrali 26 brisov.

Preglednica XXXI: *Mikrobiološki nadzor snažnosti odprtih vsebnikov s pladnjev v izolacijskih in čistih sobah.*

	ŠT. VSEH BRISOV	Število pozitivnih	% pozitivnih	Število negativnih	% negativnih
Odpri večodmerni vsebniki v izolacijskih sobah	17	8	47,1	9	52,9
Odpri večodmerni vsebniki v čistih sobah	26	7	26,9	19	73,1

Vidimo, da smo večji obseg kontaminacije večodmernih vsebnikov določili v izolacijskih sobah, kjer je znašala 47,1 %. Razlike v frekvencah pozitivnih mikrobioloških izvidov med izolacijskimi in čistimi sobami niso bile statistično značilne ($p=0,176$, Pearsonov hi-kvadrat test).

Spodnji preglednici predstavljata spekter bakterijskih vrst izoliranih s površin večodmernih odprtih vsebnikov v izolacijskih (Preglednica XXXII) in v čistih sobah (Preglednica XXXIII)

Preglednica XXXII: *Spekter bakterijskih vrst na večodmernih odprtih vsebnikih v izolacijskih sobah.*

Bakterijske vrste na površini večodmernih odprtih vsebnikov v izolacijskih sobah	Število brisov	Skupno število bakterij [CFU/dm²]
<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Paenibacillus urinalis</i>	1	50
<i>Staphylococcus arlettae</i>	1	50
<i>Acinetobacter schindleri</i>	1	50
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	50
<i>Staphylococcus hominis</i>	1	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	50

Preglednica XXXIII: *Spekter bakterijskih vrst na večodmernih odprtih vsebnikih v čistih sobah*

Bakterijske vrste na površini večodmernih odprtih vsebnikov v čistih sobah	Število brisov	Skupno število bakterij (število posamezne bakterije*) [CFU/dm²]
<i>Micrococcus luteus</i>	1	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	50
<i>Filifactor villosus</i>	1	50
<i>Micrococcus luteus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	50
<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Micrococcus luteus</i>	1	100* 50*
<i>Staphylococcus caprae</i>	1	50

Rdeče označene bakterijske vrste so del prehodne normalne mikrobne flore kože.

S površin večodmernih vsebnikov v izolacijskih sobah izolirane bakterijske vrste predstavljajo del normalne flore človeka in so: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis* in *Paenibacillus urinalis*. Predstavniki normalne flore človeka v čistih sobah pa so bili: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus caprae*, *Micrococcus luteus* in *Enterobacter cloacae*. Od predstavnikov okoljskih bakterijskih vrst smo našli le *Staphylococcus arlettae*, *Acinetobacter schindleri* in *Filifactor villosus*. V obeh tipih sob smo izolirana po 1 bakterijsko vrsto, ki je del prehodne normalne in ne stalne flore kože, ki bi jo lahko z veliko verjetnostjo pričakovali na površini odprtega vsebnika. V Preglednicah XXXII in XXXIII smo jih označili z rdečo

barvo. *Paenibacillus urinalis* smo izolirali na ročki za odmerjanje razkužila za roke (2 % glicerol v 84 % EtOH), *Enterobacter cloacae* pa na gumijastem zamašku odprte večodmerne viala z 20 mg Propofola. Na razkužilu, ki je namenjeno razkuževanju rok med pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo se *Paenibacillus urinalis* vsekakor ne bi smel pojaviti. Njegovo prisotnost na ročki za odmerjanje razkužila lahko povežemo s kontaminacijo rok, ki je bila posledica stika z bolnikom. Na vsaki bolniški postelji je nameščeno razkužilo za roke, namenjeno za uporabo po stiku z bolnikom, vendar očitno sestre po stiku z bolnikom uporabljajo tudi razkužilo z delovnega pulta. *Enterobacter cloacae* je del stalne normalne flore distalnega dela ileuma in debelega črevesa in se je na gumijastem zamašku viala prav tako najverjetneje pojavil po kontaktni kontaminaciji.

V okviru raziskave smo izvajali mikrobiološki nadzor površin večodmernih vsebnikov, ne pa tudi raztopin, ki so ostale v odprtih vsebnikih.

V nekaterih raziskavah so kontrolirali vsebine večodmernih odprtih vsebnikov in ugotovili precejšnje razlike v stopnji njihove kontaminacije, in sicer od 0 do 27 %. Tako so leta 2001 v bolnišnici v Hannovru, po poročanju o 2 smrtnih žrtvah po injiciranju infuzijske raztopine okužene s *Pseudomonas aeruginosa*, izvedli enomesečno mikrobiološko analizo vseh odprtih večodmernih vsebnikov. Skupno so pregledali 227 tovrstnih vsebnikov, pri čemer jih je bilo le 50 % označenih z datumom in uro prvega odprtja, od teh pa jih je bilo 15 odprtih več kot 24 ur. Sedemtrideset % vsebnikov je bilo opremljenih z mini-spiki. Na oddelkih intenzivnih enot so analizirali 109 vsebnikov, od teh jih je bilo 51 (47 %) označenih in kar 11 odprtih več kot 24 ur. Po mikrobiološki analizi so določili 2 (0,9 %) kontaminirana vsebnika. Obe viali sta bili z različnih intenzivnih enot. Ena je bila odprta dan pred analizo, druga pa še dan dlje. V obeh primerih so izolirali *Staphylococcus epidermidis* (1 raztopina v viali in 1 konica mini-spika) (68). Prav tako so v raziskavi, ki je potekala leta 2006 v bolnišnici Namazi v Iranu (69) iz kar 44,4 % kontaminiranih raztopin v odprtih večodmernih vsebnikih izolirali *Staphylococcus epidermidis*. Bakterijska kontaminacija vseh preverjenih večodmernih vsebnikov pa je bila 5,6 % (36 vsebnikov od 637) (69).

V naši raziskavi smo *Staphylococcus epidermidis* določili 3x na krilcih mini-spika, 1x na površini viala in 1x na gumijastem zamašku, na mestu, kjer ga je mini-spike prebadal. V zadnjem primeru obstaja visoko tveganje, da je bil *Staphylococcus epidermidis* prisoten tudi na konici mini-spika, na katero bi se lahko prenesel pri prebadanju kontaminiranega

gumijastega zamaška. Nobeno poročilo o okužbah, ki so bile povezane z večodmernimi vsebniki zdravil med leti 1983 do 2002, ni navajalo *Staphylococcus epidermidis* kot njihovega povzročitelja. Najpogosteje je prisotnost *Staphylococcus epidermidis* v krvi posledica katetrške kontaminacije in ne kontaminacije parenteralnega pripravka (68).

Za pripravo nekaterih vrst zdravil velja večja verjetnost za povzročitev okužbe. Naprimer zdravila, ki vsebujejo lipide, kot je Propofol, podpirajo hitro rast bakterij že pri sobni temperaturi. Od leta 1983 do 2002 so 7-krat poročali o okužbah po aplikaciji kontaminiranega Propofola iz večodmernega vsebnika. Za nas je bilo najzanimivejše poročanje iz leta 2002, in sicer o Propoforu kontaminiranim z *Enterobacter cloacae*. Do bakteriemije po aplikaciji kontaminiranega zdravila je prišlo pri 4 bolnikih, za 2 pa je bila usodna (68). Tudi v naši raziskavi smo določili *Enterobacter cloacae* na gumijastem zamašku Propofola. Viala je bila odprta, neopremljena z mini-spikom in neoznačena, zato je velika verjetnost, da je bakterija bila prisotna tudi znotraj vsebnika, v raztopini. V povzetku glavnih značilnosti Propofola je zapisano, da je potrebno odprte vsebnike po uporabi takoj zavreči (70). Na podlagi navodil proizvajalca in naše raziskave smo dokazali, da je hranjenje tega zdravila na našem oddelku z vidika mikrobiološke stabilnosti zelo sporno.

Uporaba mini-spika s filtrom naj bi preprečila kontaminacijo zdravila, vendar pa je raziskava (68) opravljena v bolnišnici nemškega mesta Hannover pokazala, da lahko kljub temu pride do kontaminacije. Zato lahko zaključimo, da prisotnost spika daje osebjem lažni občutek varnosti in lahko vodi k nepravilnemu rokovanju z vialami.

4.5.7 Ukrepi po kontroli snaznosti površin vsebnikov

Zdravila, nosilne raztopine in dodatki za pripravo zdravil za parenteralno uporabo morajo biti spravljeni v omarah po tem, ko jih predhodno obrišemo z vlažno krpo. Tako mehansko odstranimo prašne delce, ki kontaminirajo površino tekom proizvodnje in transporta. Razkuževanje z alkoholom, ki se izvaja pred vnosom v čiste prostore ni smiselno, saj so vsebniki v omarah skladiščeni daljše obdobje.

Nujno pa je razkuževanje vbodnih mest prebodnih vial, steklenic, plastenk ter vratov ampul. Tudi za gumijaste zamaške vial, ki so zaščiteni s plastičnimi pokrovčki ali aluminijastimi zaporkami, proizvajalec ne zagotavlja sterilnosti, saj ti niso zrakotesni.

Cockcroft in sodelavci (62), so testirali mikrobiološko kontaminacijo površin zaščitnih pokrovčkov, ki so v stiku z vbodnimi mesti vsebnikov in dokazali, da je kontaminacija

sicer možna, vendar ni tako pogosta. Od 52 testiranih zaščitnih pokrovčkov, so bili le 4 kontaminirani z bakterijskimi vrstami *Aerococcus* in *Bacillus* ter s plesnimi.

Medicinske sestre morajo s posamezno pakiranim sterilnim alkoholnim robčkom z enkratno potezo obrisati mesto vboda ali odloma ampule in počakati vsaj 30 sekund, da se površina posuši (59). Cockcroft in sodelavci (62) so ugotovili tudi, da je smiselno počakati še dodatnih 30 sekund, saj po izpostavitvi 70 % etanolu v tem času preživi manj kot 0,1 % bakterij (*Escherichia coli*, *Staphylococcus albus* in *Staphylococcus aureus*). Z istim delom robčka lahko potegnemo po površini samo enkrat, saj s tem preprečimo možnost prenosa delcev in bakterijskih spor na že očiščeno površino (59, 62).

Medicinske sestre morajo odpreti stično ovojnino igel in brizg skladno s tehniko nedotikanja. Odpadno ovojnino morajo zbirati na za to namenjenem pladnju in ga po končani pripravi odstraniti (59).

Shranjevanje ostankov vsebine v vialah je jasno opredeljeno s Standardnim operativnim postopkom Lekarne UKCL (59). Štiriindvajset urno shranjevanje ostankov v vialah je dovoljeno le v primeru priprave zdravila za parenteralno uporabo v kontroliranem okolju, torej v komori z laminarnim pretokom zraka, saj lahko le tako zagotovimo mikrobiološko stabilnost zdravila. Seveda pa moramo pri tem upoštevati čas in temperaturo shranjevanja osnovne raztopine v skladu z navodili proizvajalca. Kadar je zdravilo za parenteralno uporabo pripravljeno v nekontroliranem okolju, kot je bilo to na našem oddelku, se lahko ostanki v viali uporabljajo le še 1 uro po njenem odprtju. Pomemben je tudi čas od priprave do aplikacije zdravila. V primeru priprave zdravila v nekontroliranem okolju je še sprejemljiva njegova aplikacija znotraj 1 ure po pripravi, ob pripravi v kontroliranem okolju pa znotraj 24 ur. SOP Lekarne UKC Ljubljana je glede shranjevanja ostankov v vialah in času aplikacije parenteralnega zdravila po pripravi napisan po zgledu ameriške farmakopeje (USP, angl. United States Pharmacopeia), konkretnije splošnega poglavja 797 za pripravo sterilnih farmacevtskih izdelkov. Časovna omejitev aplikacije zdravila znotraj 1 ure po njegovi pripravi naj bi izključila porast bakterijske populacije v primeru kontaminacije farmacevtskega izdelka z majhnim številom mikroorganizmov. V kontaminiranem pripravku se replikacija mikroorganizmov začne znotraj 1 do 4 ur, temu pa sledi njihova eksponentna rast (61).

Združenje strokovnjakov za nadzor okužb in epidemiologijo (APIC, angl. *Association for professionals in Infection Control and Epidemiology*) Združenih držav Amerike ne podpira

vnaprejšnje priprave parenteralnih farmacevtskih izdelkov v nekontroliranem okolju (noč pred ali uro pred aplikacijo), ampak zagovarja njihovo pripravo čim bližje času aplikacije. Prav tako priporoča uporabo enoodmernih vsebnikov, če je to le mogoče. Uporaba večodmernega vsebnika, naj bo omejena le na enega bolnika, ostanke v viali pa je nato treba zavreči. Vedno je treba obvezno upoštevati tudi proizvajalčeva navodila za shranjevanje in uporabo (61).

5 SKLEP

Sterilnost parenteralnih izdelkov mora biti zagotovljena na prav vseh stopnjah njihove priprave. Za ohranitev njihove sterilnosti moramo vzpostaviti ustrezne pogoje, sterilne vhodne surovine, naprave, pripomočke in ovojnine, ki izključujejo kontaminacijo. Priprava večine farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo za potrebe bolnikov poteka decentralizirano na kliničnem oddelku, in sicer v nekontroliranih pogojih. Zdravstveno stanje bolnikov zahteva hitro pripravo in aplikacijo zdravil, zato ni mogoče vzpostaviti njihove centralizirane priprave v bolnišnični lekarni. Aseptičnih pogojev na oddelku prav tako ni mogoče zagotoviti, saj kader, prostori in organizacija dela tega ne dopuščajo. Ob izvajanju akreditacijske presoje za pridobitev Mednarodne akreditacije DNV za bolnišnice, so presojevalci izpostavili neustreznost prostorov, v katerih poteka priprava parenteralnih zdravil na oddelku. Pogoji v bolniških sobah, v katerih na Oddelku za intenzivno terapijo KOAIT poteka priprava farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo, ne zagotavljajo njihove kakovosti z vidika mikrobiološke kontaminacije.

Na podlagi mikrobiološkega nadzora smo ugotovili naslednje nepravilnosti in posledično predlagali navedene ukrepe:

- Kvaliteta zraka v prostorih, v katerih poteka priprava farmacevtskih izdelkov ni ustrezna. Z analizo s sedimentacijskimi ploščami smo v izolacijskih sobah določili 3-50 CFU/m³ (100 % pozitivni agarji), v čistih sobah pa 5-36 CFU/m³ (88,9 % pozitivnih agarjev). Sto % pozitivni so bili tudi agarji pri analizi z metodo presesavanja zraka. Prostor za pripravo zdravil mora biti ločen, zaprt, brez motenj iz okolice in primerne velikosti za vsaj dve delovni mesti, poleg tega pa mora zagotavljati predpisano temperaturo. V njem se lahko nahaja samo oprema, ki jo potrebujemo za pripravo farmacevtskih izdelkov. K dodatnemu zmanjšanju tveganja za mikrobiološko kontaminacijo bi pomembno prispevala postavitve komore LAF v tak prostor.
- Razkuževanje delovnih površin je nujno potrebno. Nerazkužene delovne površine so bile namreč v kar 70 % pozitivne.
- Izbira 0,25 % raztopine Surfanios citron, ki ga medicinske sestre uporabljajo za razkuževanje delovnih površin, se je izkazala kot neustrezna. Kljub njegovi uporabi je bilo 12,5 % delovnih površin mikrobiološko pozitivnih. Razkuževanje delovnih površin mora biti izvedeno s sterilnimi alkoholnimi robčki (npr. Klerwipe®-70/30), saj so bile po razkuževanju z njimi analizirane površine 100 % negativne.

- Na delovnem pultu so lahko prisotni izključno tisti predmeti, ki jih potrebujemo za pripravo farmacevtskih izdelkov. Tako so bile npr. vzorčene površine vsebnika razkužila za roke 100 % kontaminirane.
- S tehniko umivanja in razkuževanja rok ali samostojnega razkuževanja ne moremo odstraniti vseh mikroorganizmov. V kar 87,5 % primerih so bile roke medicinskih sester po umivanju in razkuževanju mikrobiološko pozitivne. Po razkuževanju brez predhodnega umivanja so bile roke medicinskih sester v izolacijskih sobah 100 %, v čistih pa 41,7 % pozitivne.
- Pri pripravi parenteralnih zdravil morajo medicinske sestre obvezno uporabljati nitrilne rokavice. Orokavičene roke morajo razkuževati z alkoholnimi robčki, in sicer pred in med pripravo, na vsaki stopnji, ki lahko predstavlja tveganje za kontaminacijo. Kljub uporabi rokavic morajo medicinske sestre uporabljati tehnike nedotikanja. Poleg tega morajo uporabljati tudi zaščitna pokrivala in maske.
- Vsebniki morajo biti shranjeni v za to namenjenih omarah, potem, ko jih predhodno obrišejo z vlažno krpo. Ugotovili smo, da so bili vsebniki, ki so bili shranjeni v omarah, v približno 40 % kontaminirani.
- Izkazalo se je, da različni materiali stične ovojnine ne vplivajo na stanje kontaminacije vsebnikov. Nasprotno pa so se signature izkazale kot rezervoar mikroorganizmov. Kontaminiranih je bilo 44,4 % polietilenskih in 37,1 % steklenih vsebnikov. Vsebniki, ki smo jim vzorčili signature, so bili pozitivni v 54,3 %, tisti brez nje pa v le 16,7 %.
- Nujno potrebno je razkuževanje vbodnih mest ter vratov ampul, in sicer s posamezno pakiranimi sterilnimi alkoholnimi robčki, z enkratnim potegom, saj smo na dveh gumijastih zamaških določili *Enterobacter cloacae* in *S. aureus*-MRSA. Nato je potrebno počakati najmanj 30 sekund, da se površina posuši.
- Shranjevanje ostankov v večodmernih vsebnikih v nekontroliranem okolju ni sprejemljivo. Štiriindvajset urno shranjevanje je dovoljeno le v primeru priprave farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo v kontroliranem okolju (LAF). Na Oddelku za intenzivno terapijo KOAIT, lahko ostanke v večodmernih vsebnikih uporabijo znotraj ene ure po njihovem odprtju, kar velja tudi za samo aplikacijo pripravljenega farmacevtskega izdelka. Opozoriti je treba tudi na dejstvo, da APIC Združenih držav Amerike zagovarja pripravo parenteralnih zdravil na bolnišničnih oddelkih čim bližje času aplikacije.

6 LITERATURA

1. Svilenković G: Predstavitev Kliničnega oddelka za anesteziologijo in intenzivno terapijo operativnih strok Oddelek za intenzivno terapijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, 2011. (Interno gradivo)
2. Delovna skupina pri Ministrstvu za zdravje: Strokovne podlage za izdelavo programa za obvladovanje in preprečevanje bolnišničnih okužb, ki so povezane z zdravstvom oziroma zdravstveno oskrbo, Ljubljana, 2009, http://www.mz.gov.si/fileadmin/mz.gov.si/pageuploads/mz_dokumenti/delovna_podrocja/zdravstveno_varstvo/zdravstveno_varstvo_v_posebnih/NAKOBO_junij_2010/MZ_Smernice_2009_ORIG_SKUPNO_010610.pdf (Dostopano: april 2014).
3. Mrvič T: Osnove preprečevanja okužb povezanih z zdravstveno oskrbo, www.mf.uni-lj.si/dokumenti/65020b895e2421faefcd2cda30c1dfb8.ppt (Dostopano: april 2015).
4. Slemenjak J, Miklavčič V, Muzlovič I, Trampuž A: Odkrivanje nosilcev MRSA v intenzivni enoti. Obzornik zdravstvene nege 2003; 37: 193-197.
5. European Pharmacopoeia 5.0: 614, 445-447. <http://lib.njutcm.edu.cn/yaodian/ep/EP5.0/> (Dostopano: april 2015).
6. Farmacevtski terminološki slovar, 2013, <http://isjfr.zrc-sazu.si/sl/terminologisce/slovarji/farmacevtski#v> (Dostopano: april 2015).
7. Resolution CM/ResAP(2011)1 on quality and safety assurance requirements for medicinal products prepared in pharmacies for the special needs of patients, 2011, [https://wcd.coe.int/ViewDoc.jsp?Ref=CM/ResAP\(2011\)1&Language=lanEnglish&Ver=original&BackColorInternet=DBDCF2&BackColorIntranet=FDC864&BackColorLogged=FDC864](https://wcd.coe.int/ViewDoc.jsp?Ref=CM/ResAP(2011)1&Language=lanEnglish&Ver=original&BackColorInternet=DBDCF2&BackColorIntranet=FDC864&BackColorLogged=FDC864) (Dostopano: april 2015).
8. Annex 1: Manufacture of Sterile Medicinal Product. EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use (EU GMP), 2008, http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-4/2008_11_25_gmp-an1_en.pdf (Dostopano: april 2015).
9. Guide to Good Practices for the Preparation of Medical Products in Healthcare Establishments (PIC/S GPP), 2008, http://www.picscheme.org/pdf/23_pe0103-revisedgppguide.pdf (Dostopano: april 2015).
10. Lubej M, Srčič S: Komore z laminarnim pretokom zraka in izolatorji, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2012: 1-11. (Interno gradivo)
11. Zakon o nalezljivih boleznih-ZNB (uradno prečiščeno besedilo) (ZNB-UPB1), 2006, Uradni list RS, št. 33/2006, <http://www.uradni-list.si/1/objava.jsp?urlid=200633&stevilka=1348>, (Dostopano: april 2015).
12. Klavs I, Kolman J, Lejko Zupanc T, Kotnik-Kevorkijan B, Korošec A, Serdt M, Mreža SNPRBO: Prevalenca bolnišničnih okužb v slovenskih bolnišnicah za akutno oskrbo, Medicinski razgledi 2013; 52: SUPPL 6: 11-16.
13. Dragaš AZ, Škerl M: Higiena in obvladovanje okužb, Založba ZRC, ZRC SAZU, Ljubljana, 2004: 23-25, 73-80.

14. Damjan D: Čiste roke kot ključni dejavnik preprečevanja bolnišničnih okužb, Diplomsko delo, Maribor, 2012.
15. Gubina M, Dolinšek M, Škerl M: Bolnišnična higiena, Medicinska fakulteta, Katedra za mikrobiologijo in imunologijo, Ljubljana, 1998: 6-7, 36-37, 44-46, 54-56, 191-192.
16. Gubina M, Ihan A: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Medicinski razgledi, 2002: 61, 65-66, 139-145, 147-153, 179-184, 201-203, 225-232, 247-250, 255-259, 405-408.
17. Grmek Košnik I, Hvalič Touzery S, Skela Savič B: Okužbe povezane z zdravstvom: zbornik prispevkov z recenzijo, 4. simpozij Katedre za temeljne vede, Visoka šola za zdravstveno nego Jesenice, Jesenice, 2013: 32-40.
18. Muzlovič I, Jereb M: Bolnišnične okužbe v slovenskih intenzivnih enotah, SLOPIC-slovenska raziskava 2001. Bolnišnične okužbe v enoti intenzivnega zdravljenja 2002: 11-17.
19. Klavs I: Zaključno poročilo raziskovalnega projekta, Slovenska nacionalna presečna raziskava bolnišničnih okužb, 2013. <http://www.dlib.si/details/URN:NBN:SI:DOC-OTP3NJXW> (Dostopano: april 2015).
20. Klavs I, Bufon Lužnik T, Škerl M, Grgič-Vitek M, Lejko Zupanc T, Dolinšek M, Prodan V, Vegnuti M, Kraigher A, Arnež Z: Prevalence and risk factors for hospital-acquired infections in Slovenia - results of the first national survey, 2001. J Hosp Infect. 2003; 54: 149-157.
21. Prosen M, Perme J: Higiena rok in nadzor higiene rok v povezavi s preprečevanjem okužb, povezanih z zdravstvom, Medicinski razgledi 2013;52: SUPPL 6: 161-165.
22. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care (Advanced Draft), 2006, http://www.who.int/patientsafety/information_centre/Last_April_versionHH_Guidelines%5b3%5d.pdf?ua=1 (Dostopano: april 2014).
23. Lužnik Bufon T: Bolnišnična higiena in nadzor okužb v enotah za intenzivno terapijo: delovni zvezek, Sekcija za klinično mikrobiologijo in hospitalne infekcije Slovenskega zdravniškega društva, Ljubljana, 1998: 20-26.
24. Služba za zdravstveno nego UKCL, Komisija za preprečevanje bolnišničnih okužb UKCL: Plakat o umivanju in razkuževanju rok, 2005, <http://design-ivan-mori.weebly.com/umivanje-rok.html> (Dostopano: 28. 1. 2015).
25. Lucet JC, Rigauda MP, Mentreb F, Kassisc N, Deblangya C, Andremonct A, Bouvetd E : Hand contamination before and after different hand hygiene techniques: a randomized clinical trial. J Hosp Infect. 2002; 50: 276-280.
26. Beggs CB, Shepherd SJ, Kerr KG: Increasing the frequency of hand washing by healthcare workers does not lead to commensurate reductions in staphylococcal infection in a hospital ward. BMC Infectious Diseases 2008; 8: 114.
27. Kac G, Podglajen I, Gueneret M, Vaupré S, Bissery A, Meyer G: Microbiological evaluation of two hand hygiene procedures achieved by healthcare workers during routine patient care: a randomized study. J Hosp Infect. 2005; 60: 32-39.
28. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA: Medical microbiology, 3rd edition, St. Louis [etc.] : Mosby, cop., 1998: 175-188, 206-208, 232-244, 258-263, 291-295.

29. Ministrstvo za zdravje-Nacionalna komisija za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb: Priporočila za preprečevanje širjenja ESBL pozitivnih bakterij in karbapenemaza pozitivnih bakterij, 2010, http://www.mz.gov.si/fileadmin/mz.gov.si/pageuploads/mz_dokumenti/delovna_podrocja/zdravstveno_varstvo/zdravstveno_varstvo_v_posebnih/NAKOBO_oktober_2010/PRIPOROCILA_ESBL_26.10.10.pdf (Dostopano: april 2015).
30. Ružič-Sabljić E: Praktikum iz mikrobiologije za študente farmacije, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, 2010: 47-57.
31. Visca P, Seifert H, Towner KJ: *Acinetobacter* Infection – an Emerging Threat to Human Health. *IUBMB Life* 2011; 63(12): 1048–1054.
32. Foster T: *Staphylococcus*. *Medical Microbiology*, 4th edition, 1996, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8448/?report=reader> (Dostopano: april 2015).
33. Štrumbelj I, Ribič H, Pirš M: Kratka pojasnila ob prehodu na evropske smernice za antibiogram – EUCAST, 2014, <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz/dokumenti/Kratka%20pojasnila%20ob%20prehodu%20na%20-%20EUCAST%20v001.pdf> (Dostopano: april 2015).
34. Kavčič T: Primerjava vrstne raznolikost in koncentracij plesni v zunanem in bolnišničnem okolju ter genotipizacija plesni *Aspergillus fumigatus*, Diplomsko delo, Ljubljana, 2009.
35. Matos T, Kavčič T: Vrstna raznolikost in koncentracije plesni v zraku bolnišničnega in zunanjega okolja. *Zdravniški Vestnik* 2010; 79: 117–126.
36. Bensch K, Braun U, Groenwald JZ, Crous PW: The genus *Cladosporium*. *Studies in Mycology* 2012; 72: 1.
37. Visagie CM, Houbraken J, Frisvad JC, Hong SB, Klaassen CHW, Perrone G, Seifert KA, Varga J, Yaguchi T, Samson RA: Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Stud Mycol.* 2014; 78: 343–371.
38. Ortiz A, Gallegor G, Esteban J, Gadea I, Reyero A, Fortes JR, Caramelo C: Peritoneal Catheter Colonization by *Penicillium* sp: Case Report and Review of *Penicillium*-Related Complications in Peritoneal Dialysis. *Am J Kidney Dis.* 1999; 33(3): 1-4.
39. Statut Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana, 2007, <http://www.kclj.si/dokumenti/statut.pdf>, (Dostopano: april 2015).
40. DNV: Mednarodna akreditacija DNV za bolnišnice, maj 2013 http://www.mz.gov.si/fileadmin/mz.gov.si/pageuploads/kakovost/akreditacije/DNV-DS-HC102__Hospital_Standard__Guidelines_and_Guidance__V3_0.pdf (Dostopano: april 2015).
41. Lekarna UKCL Standardni operativni postopek, Mikrobiološki nadzor, Ljubljana, 2012. (Interno gradivo)
42. Asefa DT, Langsrud S, Gjerde RO, Kure CF, Sidhu MS, Nesbakken T, Skaar I: The performance of SAS-super-180 air sampler and settle plates for assessing viable fungal particles in the air of dry-cured meat production facility. *Food Control* 2009; 20: 997–1001.

43. Morris G Kokki MH, Anderson K, Richardson MD: Sampling of *Aspergillus* spores in air. *J Hosp Infect.* 2000; 44: 81–92.
44. Pasquarella C, Pitzurra O, Savino A: The index of microbial air contamination. *J Hosp Infect.* 2000; 46: 241–256.
45. Stetzenbach LD, Buttner MP, Cruz P: Detection and enumeration of airborne biocontaminants. *Curr Opin Biotechnol.* 2004; 15: 170–174.
46. Setlhare G, Malebo N, Shale K, Lues R: Identification of airborne microbiota in selected areas in a health-care setting in South Africa. *BMC Microbiol.* 2014; 14: 100.
47. Thio CL, Smith D, Merz WG, Streifel AJ, Bova G, Gay L, Miller CB, Perl TM: Refinements of Environmental Assessment During an Outbreak Investigation of Invasive Aspergillosis in a Leukemia and Bone Marrow Transplant Unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2000; 21(1): 18-23.
48. Cherwell Laboratories: Air Sampler Calibration, http://www.cherwell-labs.co.uk/products/sas-microbial-monitoring-equipment/calibration.html?utm_campaign=applegate.co.uk&utm_medium=referral&utm_source=applegate.co.uk (Dostopano: april 2015).
49. Seme K: Kontrola snažnosti površin z brisi in odtisi (Navodila za odvzem vzorcev). Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, Ljubljana. (Interno gradivo)
50. Farmadent d.o.o.: Varnostni list Surfanios citron, 2005, http://www.farmadent.si/sites/default/files/surfanios_citron.pdf (Dostopano: april 2015)
51. Rutala WA, Weber DJ, HICPAC: Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities 2008; 52-53, http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/Disinfection_Nov_2008.pdf (Dostopano: april 2015).
52. Laboratoires Anios: Brošura za Surfanios citron <http://www.equipmedical.com/files/fck/file/Fiche-technique-surfanios.pdf> (Dostopano: april 2015)
53. German Healthcare Export Group e.V.: Mini-Spike®, <http://www.gheg.de/products/mini-spike-mini-spike-v-withdrawal-and-injection-spikes-for-multi-dose-vials/> (Dostopano: april 2015).
54. Colorado Farm To Market: Food Safety, <http://cofarmtomarket.com/food-regulations-licensing/safety/> (Dostopano: april 2015).
55. Field A: Discovering statistics using SPSS : (and sex and drugs and rock 'n' roll), 3. izdaja, SAGE, London, 2009: 688-698.
56. Pastuszka JS, E. Marchwińska-Wyrwał E, Wlazło A: Bacterial Aerosol in Silesian Hospitals: Preliminary Results. *Polish Journal of Environmental Studies* 2005; 14 (6): 883-890.
57. Čokl B: Intrahospitalne infekcije v zvezi s klimatizacijo. *Obzornik zdravstvene nege* 1979; 12 (3): 151-156.

58. Alberti C, Bouakline A, Ribaud P, Lacroix C, Rousselot P, Leblanc T, Derouin F: Relationship between environmental fungal contamination and the incidence of invasive aspergillosis in haematology patients. *J Hosp Infect.* 2001; 48: 198–206.
59. Lekarna UKCL: Standardni operativni postopek, Pravilna in varna uporaba zdravil, Priprava zdravil za parenteralno uporabo, Ljubljana, 2012. (Interno gradivo)
60. Austin P, Elia M: Improved aseptic technique can reduce variable contamination rates of ward-prepared parenteral doses. *J Hosp Infect.* 2013; 83: 160-163.
61. Dolan SA, Felizardo G, Barnes S, Cox TR, Patrick M, Ward KS, Arias KM: APIC position paper: Safe injection, infusion, and medication vial practices in health care. *Am J Infect Control.* 2010; 38: 167-172.
62. Cockcroft MG, Hepworth D, Rhodes JC, Addison P, Beaney A: Validation of liquid disinfection techniques for transfer of components into hospital pharmacy clean rooms. *Hospital Pharmacist* 2001; 8: 226-232.
63. Austin P, Elia M: A systematic review and meta-analysis of the risk of microbial contamination of aseptically prepared doses in different environments. *J Pharm Pharm Sci.* 2009; 12 (2): 233-242.
64. Macías AE, Huertas M, de Leon SP, Munoz JM, Chavez AR, Sifuentes-Osornio J, Romero C, Bobadilla M: Contamination of intravenous fluids: A continuing cause of hospital bacteremia. *Am J Infect Control.* 2010; 38: 217-221.
65. Macías AE, Bruckner DA, Hindler JA, Muñoz JM, Medina H, Hernández I, Guerrero FJ: Parenteral infusions as culture media from a viewpoint of nosocomial bacteremia. *Rev Invest Clin.* 2000; 52 (1): 39-43.
66. B.Braun: Mini-Spike®, <http://www.bbraun.com/cps/rde/xchg/bbraun-com/hs.xsl/products.html?id=00020742770000000158&prid=PRID00000619> (Dostopano: april, 2015).
67. Šmitek J, Krist A: Venski pristopi, odvzemi krvi in dajanje zdravil, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, 2008: 116-125.
68. Mattner F, Gastmeier P: Bacterial contamination of multiple-dose vials: A prevalence study. *Am J Infect Control.* 2004; 32: 12-16.
69. Motamedifar M, Askarian M: The prevalence of multidose vial contamination by aerobic bacteria in a major teaching hospital, Shiraz, Iran, 2006. *Am J Infect Control.* 2009; 37: 773-777.
70. Centralna baza zdravil: Povzetek glavnih značilnosti zdravila, Propofol Claris 20 mg/ml emulzija za injiciranje ali infundiranje, [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/B9418688EC129736C12579EC00200769/\\$File/s-009055.pdf](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/B9418688EC129736C12579EC00200769/$File/s-009055.pdf) (Dostopano: april 2015).

7 PRILOGE

Priloga 1: Shematičen prikaz tehnike higienskega umivanja in razkuževanja rok.

• UMIVANJE ROK
• RAZKUŽEVANJE ROK
KC

 Nohti so kratko prstriženi. Prstanov med delom ne nosimo!	 1 Roke zmočimo z mlačno vodo.	 2 1 Nanesemo milo ali nanesemo razkužilo.
 3 2 Umivamo ali razkužimo dlan ob dlan, gib naredimo 5 do 10 krat.	 4 3 Umivamo ali razkužimo prstne blazinice in nohte, gib naredimo 5 do 10 krat.	 5 4 Umivamo ali razkužimo palca obeh rok, gib naredimo 5 do 10 krat.
 6 5 Umivamo ali razkužimo medprstne prostore, gib naredimo 5 do 10 krat.	 7 6 Umivamo ali razkužimo hrbtišče leve in desne roke, gib naredimo 5 do 10 krat.	 8 Umijemo tudi zapestje, gib naredimo 5 do 10 krat.
 9 Roke speremo od konic prstov navzdol.	 10 Roke po umivanju dobro osušimo. Razkužilo na rokah izhlapi/ne brišemo!	 Najpogostejše slabo umita ali slabo razkužena mesta na rokah!

PRIPRAVILA: SLUŽBA ZA ZDRAVSTVENO NEGO KLINIČNEGA CENTRA LJUBLJANA
 POTRDILA: KOMISIJA ZA PREPREČEVANJE BOLNIŠNIČNIH OKUŽB KC, November 2005

Priloga 2: Vrste bakterij v bolnišničnem okolju

Rod	Bakterijska vrsta	Gram [+/-]	Toleranca na O ₂	Spore [DA/NE]	Življenjski prostor
Bacillus	<i>B. amyloliquefaciens</i>	+	aerob, fakultativni anaerob	DA	zemlja, voda, površina rastlin, prebavila živali.
	<i>B. cereus</i>				
	<i>B. circulans</i>				
	<i>B. infantis</i>				
	<i>B. licheniformis</i>				
	<i>B. megaterium</i>				
	<i>B. muralis</i>				
	<i>B. pumilus</i>				
	<i>B. (Solibacillus) silvestris</i>				
	<i>B. simplex</i>				
	<i>B. thuringiensis</i>				
Streptococcus	<i>S. parasanguinis</i>	+	aerob	NE	stalna normalna flora ustne sluznice.
	<i>S. castoreus</i>				
Enterococcus	<i>E. faecalis</i>	+	aerob	NE	del stalne normalne flore debelega črevesa, urogenitalnega trakta. Prehodna normalna flora kože.
	<i>E. faecium</i>				
Aerococcus	<i>A. viridans</i>	+	aerob	NE	zrak, lahko kontaminira kožo
Enterobacter	<i>E. cloacae</i>	-	fakultativni anaerob	NE	zemlja, voda, del stalne normalne flore distalnega dela ileuma in debelega črevesa. Prehodna normalna flora kože.
Klebsiella	<i>K. pneumoniae</i>	-	fakultativni anaerob	NE	zemlja, voda, del prehodne normalne flore prebavil, dihal, kože
Pseudomonas	<i>P. aeruginosa</i>	-	aerob	NE	voda, zemlja, površina rastlin, bolnišnično okolje (pitna voda, voda v vlažilcih, tekočine za dializo, za izpiranje ran, razkužila), redko del stalne normalne flore črevesja. Prehodna normalna flora kože, prebavil, dihal, sečil
	<i>P. mandelii</i>				
Burkholderia	<i>B. cepacia</i>	-	aerob	NE	voda, zemlja, bolnišnično okolje (voda).
Acinetobacter	<i>A. schindleri</i>	-	aerob	NE	narava, vlažno bolnišnično okolje, suho okolju, redko del stalne normalne flore žrela. Prehodna normalna flora kože, dihal, sečil
	<i>A. lwoffii</i>				
Corynebacterium	<i>C. aurimucosum</i>	+	aerob	NE	del stalne normalne mikrobne flore spolovil.
Lactococcus	<i>L. plantarum</i>	+	fakultativni anaerob	NE	surovo kravje mleko, rastline, živalski material

Rod	Bakterijska vrsta	Gram [+/-]	Toleranca na O ₂	Spore [DA/NE]	Življenjski prostor
Propionibacterium	<i>P. acnes</i>	+	anaerob	NE	del stalne normalne flore kože, konjunktive, ustne votline, žrela, zunanega ušesa in genitalne sluznice žensk.
Lactobacillus	<i>L. paracasei</i> <i>L. kalixensis</i>	+	anaerob, fakultativni anaerob	NE	stalne normalne flore ust, želodca, črevesja in urogenitalnega trakta
Paenibacillus	<i>P. amylolyticus</i>	+	fakultativni anaerob	DA	zemlja, na rastlinah, v izločkih in na bolnih ličinkah insektov, klinični vzorci.
	<i>P. urinalis</i>	-			stalna normalna flora urina.
Clostridium	<i>C. villosum</i> (<i>Filifactor villosus</i>)	+	anaerob	DA	prvotno izoliran iz podkožnih ognjnikov ran na mačji koži.
Brevibacterium	<i>Brevibacterium</i> spp.	+	aerob	NE	mlečni izdelki, najdemo jih tudi na koži, genitalijah, v ušesnem izcedku.
Arthrobacter	<i>A. polychromogenes</i>	+	aerob	NE	najštevilčnejši mikroorganizmi v zemlji.
Micrococcus	<i>M. luteus</i>	+	aerob	NE	stalna normalna flora kože, sluznice ust, nosu in morda žrela, najdemo jih v zemlji, prahu, vodi in na rastlinah.
Sphingomonas	<i>Sphingomonas</i> spp.	-	aerob	NE	voda(pitna, morska, rečna, odpadna, ledeniki, vodni sistemi v bolnišnicah).
Agrobacterium	<i>A. radiobacter</i> (<i>Rhizobiu</i> k <i>radiobacter</i>)	-	aerob	NE	okolje, zemlja.
Staphylococcus	<i>S. aureus</i>	+	aerobi, fakultativni anaerobi	NE	prehodna normalna flora nosne votline klicenoscev, stalna normalna flora debelega črevesja, bolniki z ognjki.
	<i>S. arlettae</i>				koža in sluznica živali (ptice in sesalci).
	<i>S. capitis</i>				stalna normalna flora kože in sluznic ljudi.
	<i>S. caprae</i>				
	<i>S. cohnii</i>				
	<i>S. epidermidis</i>				
	<i>S. haemolyticus</i>				
	<i>S. hominis</i>				
	<i>S. lugdunensis</i>				
	<i>S. pasteurii</i>				
	<i>S. saprophyticus</i>				
	<i>S. sciuri</i>				
	<i>S. succinus</i>				koža in sluznica živali (ptice in sesalci).

Podatki zapisani v Prilogi 2 izhajajo iz naslednjih virov.

1. Gubina M, Ihan A: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Medicinski razgledi, 2002: 61, 65-66, 139-145, 147-153, 179-184, 201-203, 225-232, 247-250, 255-259, 405-408.
2. Ružić-Sabljic E: Praktikum iz mikrobiologije za študente farmacije, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, 2010: 47-57.
3. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA: Medical microbiology, 3rd edition, St. Louis [etc.] : Mosby, cop., 1998: 175-188, 206-208, 232-244, 258-263, 291-295.
4. Ministrstvo za zdravje-Nacionalna komisija za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb: Priporočila za preprečevanje širjenja ESBL pozitivnih bakterij in karbapenemaza pozitivnih bakterij, 2010, http://www.mz.gov.si/fileadmin/mz.gov.si/pageuploads/mz_dokumenti/delovna_podrocja/zdravstveno_varstvo/zdravstveno_varstvo_v_posebnih/NAKOBO_oktober_2010/PRIPOROCILA_ESBL_26.10.10.pdf (Dostopano: april 2015).
5. Visca P, Seifert H, Towner KJ: *Acinetobacter* Infection – an Emerging Threat to Human Health. IUBMB Life 2011; 63(12): 1048–1054.
6. Xie JB, Du Z, Bai L, Tian C, Zhang Y, Xie JY, Wang T, Liu X, Chen X, Cheng Q, Chen S, Li J: Comparative Genomic Analysis of N₂-Fixing and Non-N₂- Fixing *Paenibacillus* spp.: Organization, Evolution and Expression of the Nitrogen Fixation Genes. PLOS Genetics 2014; 10(3).
7. Roux v, Fenner L, Raoult D: *Paenibacillus provencensis* sp. nov., isolated from human cerebrospinal fluid, and *Paenibacillus urinalis* sp. nov., isolated from human urine. Int J Syst Evol Microbiol 2008; 58: 682–687.
8. Hagan WA, Bruner DW, Timoney JF: Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals, 8th edition, 1988: 238-239, https://books.google.si/books?id=UtxUbXOfAFUC&pg=PA239&dq=clostridium+villosum&hl=sl&sa=X&ei=rCvRVMwNpu_LA5iCgfAG&ved=0CB8Q6AEwAA#v=onepage&q=clostridium%20villosum&f=false (Dostopano: april 2014).
9. Ulrich S, Zbinden R, Pagano M, Fischler M, Speich R: Central Venous Catheter Infection with *Brevibacterium* sp. in an Immunocompetent Woman: Case Report and Review of the Literature. Infection 2006; 34: 103–106.
10. Rūta Stanislauskienė: Investigation of *Arthrobacter* spp. Plasmids, povzetek doktorske disertacija, Vilnius, 2012.
11. Public Health Agency of Canada: Micrococcus, 2010, <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/micrococcus-eng.php> (Dostopano: april 2015).
12. Yozgat Y, Kilic A, Karadeniz C, Ozdemir R, Doksoz O, Gulfidan G, Mese T: *Sphingomonas paucimobilis* bacteraemia and shock in a patient with rheumatic carditis. Indian J Med Microbiol. 2014; 32(4): 451-454.

13. Detrait M, D'Hondt L, André M, Lonchay C, Holemans X, Maton JP, Canon JL: *Agrobacterium radiobacter* bacteremia in oncologic and geriatric patients: presentation of two cases and review of the literature. *Int J Infect Dis.* 2008; 12: e7—e10.
14. Namdari H, Hamzavi S, Peairs RR: *Rhizobium (Agrobacterium) radiobacter* Identified as a Cause of Chronic Endophthalmitis Subsequent to Cataract Extraction. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(8): 3998–4000.
15. Foster T: *Staphylococcus*. *Medical Microbiology*, 4th edition, 1996, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8448/?report=reader> (Dostopano: april 2015).
16. Štrumbelj I, Ribič H, Pirš M: Kratka pojasnila ob prehodu na evropske smernice za antibiogram – EUCAST, 2014, <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz/dokumenti/Kratka%20pojasnila%20ob%20prehodu%20na%20-%20EUCAST%20v001.pdf> (Dostopano: april 2015).

Priloga 3: Pregled čistih sob, ki so bile vključene v raziskavo, po datumih odvzemov vzorcev.

	DATUMI ODVZEMOV V ČISTIH SOBAH	ŠTEVILKA SOBE
Vzorčenje z mokrimi brisi	18.8.2014	Soba 2
	20.8.2014	Soba 10
	20.8.2014	Soba 12
	25.8.2014	Soba 1
	27.8.2014	Soba 1
	1.9.2014	Soba 1
	3.9.2014	Soba 10
	8.9.2014	Soba 11
	6.10.2014	Soba 1
	8.10.2014	Soba 11
	8.10.2014	Soba 2
Analiza zraka s sedimentacijsko metodo	25.8.2014	Soba 1
	27.8.2014	Soba 1
	1.9.2014	Soba 1
	3.9.2014	Soba 10
	8.9.2014	Soba 11
	17.9.2014	Soba 1
	22.9.2014	Soba 12
	24.9.2014	Soba 12
	27.10.2014	Soba 1
Analiza zraka z metodo presesavanja zraka	1.10.2014	Soba 1
	1.10.2014	Soba 2

Priloga 4: Pregled izolacijskih sob, ki so bile vključene v raziskavo, po datumih odvzemov vzorcev.

	DATUMI ODVZEMOV V IZOLACIJSKIH SOBAH	ŠTEVILKA SOBE
Vzorčenje z mokrimi brisi	18.8.2014	Soba 9
	10.9.2014	Soba 12
	15.9.2015	Soba 11
	17.9.2014	Soba 2
	22.9.2014	Soba 11
	24.9.2014	Soba 11
	29.9.2014	Soba 9
	8.10.2014	Soba 12
Analiza zraka s sedimentacijsko metodo	10.9.2014	Soba 12
	15.9.2014	Soba 11
	15.9.2014	Soba 12
	17.9.2014	Soba 2
	22.9.2014	Soba 11
	24.9.2014	Soba 11
	29.9.2014	Soba 9
	29.9.2014	Soba 10
Analiza zraka z metodo presesavanja zraka	27.10.2014	Soba 11
	29.9.2014	Soba 9
	29.9.2014	Soba 10

Priloga 5: Mikrobiološki rezultati kontrole snaznosti rok, pred in po pripravi farmacevtskih izdelkov v izolacijskih sobah.

Osebe	IZOLACIJSKE SOBE					
	Pred delom		CFU/ dm ²	Po delu		CFU/ dm ²
Oseba 1	Roka D-U+R	NEGATIVNO		Roka D-po delu	<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	50
	Roka L-U+R	<i>Bacillus cereus</i>	50	Roka L-po delu	<i>Streptococcus castoreus</i>	50
Oseba 2	Roka D-R	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>	50	Roka D-po delu	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus circulans</i>	50
	Roka L-R	<i>Rhizobiuk radiobacter</i>	50	Roka L-po delu	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	50
Oseba 3	Roka D-R	<i>Bacillus pumilus</i> , <i>Paenibacillus</i> spp.	50	Roka D-po delu	<i>Staphylococcus aureus-iMLSb</i>	50
	Roka L-R	<i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus</i> spp	50	Roka L-po delu	<i>Paenibacillus</i> spp.	50
Oseba 4 pripravek 1	Roka D-R	<i>Bacillus muralis</i>	50	Roka D-po delu	<i>Paenibacillus urinalis</i>	50
	Roka L-R	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	50	Roka L-po delu	<i>Rhizobiuk radiobacter</i>	50
Oseba 4 pripravek 2	Roka D-R	<i>Paenibacillus urinalis</i>	50	Roka D-po delu	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Micrococcus luteus</i>	50
	Roka L-R	<i>Bacillus cereus</i>	50	Roka L-po delu	<i>Staphylococcus aureus-MRSA</i>	50
Oseba 5	Roka D-U+R	<i>Paenibacillus</i> spp, <i>Bacillus</i> spp.	50	Roka D-po delu in apl.	<i>Paenibacillus</i> spp.	50
	Roka L-U+R	<i>Bacillus circulans</i>	50	Roka L-po delu in apl.	<i>Bacillus</i> spp.	50
Oseba 6	Roka D-U+R	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Rhizobium radiobacter</i> , <i>Bacillus</i> spp.	650	Roka D-po delu	<i>Lactobacillus</i> spp, <i>Paenibacillus</i> spp.	350
	Roka L-U+R	<i>Bacillus simplex</i> , <i>Bacillus infantis</i> , <i>Bacillus circulans</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i>	500	Roka L-po delu	<i>Rhizobiuk radiobacter</i> , <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	50
Oseba 7	Roka D-U+R	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i>	1100	Roka D-po delu	<i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Propionibacterium acnes</i>	50
	Roka L-U+R	<i>Bacillus thuringiensis</i>	50	Roka L-po delu	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus simplex</i>	400

Priloga 6: Mikrobiološki rezultati kontrole snaznosti rok, pred in po pripravi farmacevtskih izdelkov v čistih sobah

Osebe	ČISTE SOBE					
	Pred delom		CFU/ dm ²	Po delu		CFU/ dm ²
Oseba 1	Roka D-R	NEGATIVNO		Roka D-po delu	<i>Paenibacillus amylolyticus</i> , <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	50
	Roka L-R	NEGATIVNO		Roka L-po delu	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Paenibacillus amylolyticus</i>	50
Oseba 2	ni podatka			Roka D-po delu	<i>Lactobacillus paracasei</i>	50
	ni podatka			Roka L-po delu	NEGATIVNO	
Oseba 3	Roka D-R	NEGATIVNO		Roka D-po delu in apl.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	150
	Roka L-R	NEGATIVNO		Roka L-po delu in apl.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	400
Oseba 4	Roka D-U+R	<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	50	Roka D-po delu	NEGATIVNO	
	Roka L-U+R	NEGATIVNO		Roka L-po delu	NEGATIVNO	
Oseba 5 pripravek 1	Roka D-U+R	<i>Brevibacterium</i> spp. <i>Staphylococcus lugdonensis</i>	50	ni podatka		
	Roka L-U+R	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	50	ni podatka		
Oseba 5 pripravek 2	Roka D-R	<i>Paenibacillus</i> spp.	50	Roka D-po delu	<i>Lactobacillus</i> spp.	50
	Roka L-R	<i>Bacillus circulans</i> ,	50	Roka L-po delu	<i>Paenibacillus urinalis</i>	50
Oseba 6 pripravek 1	Roka D-R	NEGATIVNO		ni podatka		
	Roka L-R	NEGATIVNO		ni podatka		
Oseba 6 pripravek 2	Roka D-R	<i>Paenibacillus</i> spp, <i>Burkholderia cepacia</i>	50	Roka D-po delu	<i>Paenibacillus</i> spp.	50
	Roka L-R	<i>Paenibacillus</i> spp.	50	Roka L-po delu	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	50
Oseba 7	Roka D-U+R	<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	50	Roka D-po delu	<i>Arthrobacter polychromogenes</i> , <i>Bacillus simplex</i>	>10 000
	Roka L-U+R	<i>Lactobacillus</i> spp.	50	Roka L-po delu	NEGATIVNO	
Oseba 8 pripravek 1	Roka D-U+R	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus</i> spp.	50	Roka D-po delu	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	50
	Roka L-U+R	<i>Lactobacillus</i> spp.	50	Roka L-po delu	<i>Paenibacillus</i> spp.	50
Oseba 8 pripravek 2	Roka D-R	<i>Paenibacillus</i> spp.	50	ni podatka		
	Roka L-R	NEGATIVNO		ni podatka		

Priloga 7: Pregled vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo, ki so bili vzorčeni v izolacijskih sobah.

	ŠT. VSEH BRISOV	Pozitivni		Negativni	
			Število vsebnikov		Število vsebnikov
Vsebnik polietilenski	5	NaCl Braun 250ml	1	Glukoza Braun 50mg/ml,100ml NaCl Braun 100ml	2 2
Vsebnik polietilenski +sign.	4	Fluconazole Braun 2mg/ml	1	NaCl Braun 100ml	1
		NaCl Braun 500ml	1	Glukoza Braun 50mg/ml,100ml	1
Ampula steklena +sign.	6	Edemid 10mg/ml	1	Vitamin C 500mg/ml	1
		Midazolam 5mg/ml	2	Fentanil Torrex	2
Ampula polietilenska +sign.	2	Calcium gluconate 10% B.Braun, 10ml	1	Calcium gluconate 10% B.Braun, 10ml	1
Viala steklena	1	0		Kalijev fosfat 1M, viala 20ml	1
Viala steklena+sign.	4	Magnezijev sulfat 2M	1	Kalijev fosfat 1M, viala 20ml	1
		Controloc 40mg prašek, viala	1	Vitamin C	1
Viala-gumijasti zamašek	6	Controloc 40mg prašek, viala	1	Kalijev fosfat 1M, viala 20ml	2
				Magnezijev sulfat 2M	1
				Controloc 40mg prašek, viala	1
				NaCl Braun, 100ml	1

Priloga 8: Pregled vsebnikov za pripravo farmacevtskih izdelkov za parenteralno uporabo, ki so bili vzorčeni v čistih sobah.

	ŠT. VSEH BRISOV	Pozitivni		Negativni	
			Št. Vsebnikov		Št. vsebnikov
Vsebnik polietilenski	5	NaCl Braun, 100ml	1	Glukoza Baxter 50mg/ml, 50ml NaCl Braun, 100ml Glukoza Braun 50mg/ml, 100ml	1 2 1
Vsebnik polietilenski +sign.	5	NaCl Braun, 100ml	2	Glukoza Baxter 50mg/ml, 50ml NaCl Braun, 100ml Glukoza Braun 50mg/ml, 100ml	1 1 1
Ampula steklena	8	Cordarone 50mg/ml Metoklopramide	1 4	Vitamin C, 500mg/5ml Catapresan 0,15mg/ml Konakion 200mg/1ml	1 1 1
Ampula steklena +sign.	3	Torecan 6,5mg/ml	1	Vitamin C, 500mg/5ml Edemid 10mg/ml	1 1
Ampula polietilenska +sign.	6	NaCl Braun, 10ml Calciumgluconat B.Braun Addamel N,10ml	1 2 2	Addamel N, 10ml	1
Viala steklena	8	Controloc 40mg Kalijev fosfat 1M,100ml 2%klorheksidinijev diglukonat v 70%EtOH	1 1 1	Acipan 40mg prašek Kalijev klorid 1M Kalijev fosfat 1M, 20ml Propofol 20mg/ml, 50ml	1 1 2 1
Viala steklena +sign.	5	Magnezijev sulfat 1M,20ml Kalijev klorid 1M, 100ml Kalijev fosfat 1M,20ml	1 1 1	Magnezijev sulfat 2M Solvit N	1 1
Viala-gumijasti zamašek	5	0		Solvit N Magnezijev sulfat 2M Cellcept 500mg prašek Flukloksacilin altamedics 2g prašek	2 1 1 1

Priloga 9: Pregled odprtih vsebnikov, ki so bili vzorčeni v izolacijskih sobah.

	ŠT. VSEH BRISOV	Pozitivni			Negativni		
			Število vsebnikov	Čas odprtja (ure)		Število vsebnikov	Čas odprtja (ure)
Spike-pod pokrovčkom	2	Magnezijev sulfat 2M	1	24	Arterenol 1mg/ml, viala 25ml	1	52
Spike-zunaj(krilca)	2	Arterenol 1mg/ml, viala 25ml	1	52	0		
		Magnezijev sulfat 2M	1	24			
Spike-guma (prebodno mesto)	2	0			Arterenol 1mg/ml, viala 25ml	1	52
					Magnezijev sulfat 2M	1	24
Viala steklena	1	0			Arterenol 1mg/ml, viala 25ml	1	5
Viala steklena+ sign.	3	Magnezijev sulfat 2M	1	28	Magnezijev sulfat 2M	1	22
		Magnezijev sulfat 2M	1	24			
Viala-gumijasti zamašek	4	0			Magnezijev sulfat 2M	1	28
					Magnezijev sulfat 2M	1	5
					Arterenol 1mg/ml, viala 25ml	1	5
					Magnezijev sulfat 2M	1	22
ostalo	3	2% glicerol v 84%EtOH-ročka	2		0		
		Površina vsebika 2% glicerol v 84%EtOH	1				

Priloga 10: Pregled odprtih vsebnikov, ki so bili vzorčeni v čistih sobah.

	ŠT. VSEH BRISOV	Pozitivni			Negativni		
			Število vsebnikov	Čas odprtja (ure)		Število vsebnikov	Čas odprtja (ure)
Spike-pod pokrovčkom	7	0			Arterenol 1mg/ml, viala 25ml Dipeptiven 200mg/ml, viala 50ml Kalijev klorid 1M, 100ml Kalijev klorid 1M, 100ml NaCl Braun, 100ml Glukoza Braun 50mg/ml,100ml	1 1 1 2 1 1	24 neznano 17 24 3 3
Spike- zunaj(krilca)	6	Kalijev klorid 1M, 100 ml Kalijev klorid 1M, 100 ml Glukoza Braun 50mg/ml, 250ml, odprta 3h	1 1 1	24 17 3	Dipeptiven 200mg/ml, viala 50ml NaCl Braun, 100ml Arterenol 1mg/ml, viala 25ml	1 1 1	neznano 3 24
Spike-guma (prebodno mesto)	4	Kalijev klorid 1M, 100 ml	1	24	Kalijev klorid 1M, 100ml Kalijev klorid 1M, 100ml Arterenol 1mg/ml, viala 25ml	1 1 1	24 17 24
Viala steklena	3	Kalijev klorid 1M, 100ml	1	17	Dipeptiven 200mg/ml, 50ml Propofol 20mg/ml, 50ml	1 1	neznano neznano
Viala steklena+sign.	2	2% klorheksidin	1	24	NaCl 20%, 20ml	1	3
Viala-gumijasti zamašek	3	Propofol 20mg/ml, 50ml	1	neznano	NaCl 20%, 20ml Arterenol 1mg/ml, viala 25ml	1 1	3 3
Ostalo	1	0			2%glicerol v 84% EtOH-ročka	1	