

A. Rakić, K. Ćurin, I. Gjeldum*

NADZOR NAD MIKROBIOLOŠKIM STATUSOM ZRAKA U ZDRAVSTVENOJ USTANOVI U PROSTORIMA ZA STERILIZACIJU

UDK 579.63:614.2
PRIMLJENO: 15.3.2016.
PRIHVACENO: 1.9.2016.

SAŽETAK: Mikroorganizmi u zraku sastavni su dijelovi bioaerosola koji se sastoji od različitih čestica biološkog materijala, čestica prašine, bakterijskih stanica i njihovih dijelova, spora gljivica, te dijelova nusprodukata njihovog metabolizma.

U ovome istraživanju analizirali su se osnovni pokazatelji mikroklimе (temperatura i relativna vlažnost) kao i prisutnost mikroorganizama u radnom okolišu (zraku). Mjerenja su se obavljala poslije procesa sterilizacije infektivnog otpada tijekom tri mjeseca, a određivao se ukupan broj aerobno mezofilnih bakterija i ukupan broj gljiva. Pokazatelji mikroklimе određivani su atestiranim uređajem. Ovom studijom pratila se mikrobiološka čistoća zraka, na određenom mjestu metodom sedimentacije, a uzorci su se poslije obrađivali u mikrobiološkom laboratoriju u skladu s propisanim normama. Nakon inkubacije i brojenja izraslih kolonija na mikrobiološkim podlogama (Tryptic soy agar i Sabouraud dextrose agar) identificirani su različiti rodovi bakterija i gljiva. Najčešće su bile zastupljene Gram (+) sporogene bakterije iz roda *Micrococcus* spp. i *Staphylococcus* spp., te rodovi gljiva *Aspergillus* spp. i *Penicillium* spp.

Dokazano je da vrijednosti temperature i relativna vlažnost utječu na ukupan broj aerobno mezofilnih bakterija i gljiva što je potvrđeno Wilcoxonovim testom ekvivalentnih parova na razini statističke značajnosti $p < 0,05$.

Ključne riječi: kvaliteta zraka, mikroklimatski uvjeti, bakterije, gljive

UVOD

Čovjek je svakodnevno pod utjecajem različitih čimbenika okoliša i to udisanjem zraka (Grant, 2010., Guidotti, 1998.), konzumacijom namirnica i vode ili dodiranjem s otpadom. Stoga je zaštita zdravlja populacije važan javno zdravstveni prioritet.

Kao produkt različitih ljudskih aktivnosti: u kućanstvima ili zdravstvenim, industrijskim i

drugim djelatnostima nastaje otpad (Marinković et al., 2005., 2006.). Otpad iz zdravstvene ustanove ako nije obrađen i zbrinut na propisani način i u malim količinama izaziva štetan utjecaj s mogućim zdravstvenim i ekološkim posljedicama (Martimo et al., 2007., Štimac et al., 2007., Bojić-Turčić, 1994.).

Pravilnim gospodarenjem s otpadom sprečavaju se:

- opasnosti za ljudsko zdravlje (zaraze s AIDS-om, hepatitisom B i C, infekcije probavnog trakta, infekcije dišnih putova, infekcije krvotoka, kožne infekcije, genetska oštećenja s radioaktivnim supstancama, otrovanja)

*Dr. sc. Anita Rakić, dipl. ing. kemije, (anita.rakic@nzjz-split.hr), doc. dr. sc. Katja Ćurin, prim. dr. med., Nastavni zavod za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije, Vukovarska 46, 21000 Split, Ivana Gjeldum, dr. med., Opća medicina, Šižgoričeva 30, 21000 Split.

- onečišćenja okoliša (vode, mora, tla, zraka) iznad propisanih graničnih vrijednosti
- nekontrolirana odlaganja i spaljivanja
- nastajanja eksplozija i požara
- stvaranje buke i neugodnih mirisa
- pojavljivanja i razmnožavanja patogenih mikroorganizama (Orris, 2004.).

Važno je na propisani način obrađivati infektivni otpad jer je moguće prenošenje zaraze na čovjeka direktnim putem (fizički kontakt s inficiranim materijalom ili udisanjem prašine, aerosola koji sadrži veliki broj mikroorganizama) ili indirektnim putem (ako zarazu prenose insekti ili glodavci ili pak ako je tlo zagađeno s tim otpadom pa se preko procjednih, podzemnih ili površinskih voda onečisti voda za piće); (Puntarić et al., 2012. Bojić-Turčić, 2003.).

Oko 90 % radnog vremena osoblje zaposleno u obradi medicinskog otpada provodi u zatvorenom prostoru, tako da je kvaliteta zraka važna za očuvanje zdravstvenog stanja navedene populacije (De Zwart et al., 2002., Čvorišćec, 2013.). Najčešće čestice od kojih se sastoji bioaerosol su čestice prašine, bakterijske i virusne stanice i njihovi dijelovi, spore gljiva, te dijelovi nusprodukata njihovih metabolizama, čestice tekućina, odnosno sastojci hlapljivih organskih spojeva (Hartung, 1998.).

Postoje tri glavna izvora spora (bakterijskih i gljivičnih) u bioaerosolu unutar zatvorenog radnog prostora:

- izmjena s vanjskim zrakom kroz vrata i prozore
- prijenos preko ljudi
- pomoću gljiva koje koloniziraju u zatvorenom prostoru.

CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja bio je pratiti vrijednosti pokazatelja mikroklimе (temperatura i relativna vlažnost) i prisutnost mikrobioloških pokazatelja u radnom okolišu (zraku).

METODOLOGIJA

Istraživanje je provedeno u prostoriji za obradu infektivnog otpada, pri čemu su analizirani pokazatelji mikroklimе (temperatura i relativna vlažnost), te prisutnost i brojnost aerobno mezofilnih bakterija (AMB) i gljiva (P). Dimenzija cjelokupnog prostora je 8,0 x 8,0 m, visina 2,5 m, te se nalazi u podrumu u klasično građenom objektu.

Termička obrada infektivnog otpada provodila se u autoklavima tipa AV 500EN (INKO, Hrvatska) pri radnim uvjetima: temperatura 121 °C, tlak 1,2 MPa u trajanju od 35 minuta.

Ispitivanja mikrobiološke čistoće zraka provedena su unutar prostorije za obradu medicinskog otpada tijekom tri mjeseca poslije provedenih postupaka sterilizacije infektivnog otpada.

Ukupno je uzeto 60 uzoraka koji su se poslije obrađivali u mikrobiološkom laboratoriju. Pri tom su se upotrebljavale certificirane mikrobiološke podloge Tryptic soy agar (TSA) i Sabouraud dextrose agar (SDA); (BIOLIFE, Italija).

Tablica 1. Sastav TSA

Table 1. Composition of TSA

Komponente podloge	g/l
Kazein	15,0
Pepton	5,0
Natrijev klorid	5,0
Agar	15,0
pH 7,3 ± 0,2 pri 25 °C	

Tablica 2. Sastav SDA

Table 2. Composition of SDA

Komponente podloge	g/l
Mikrobiološki pepton	10,0
Dekstroza	40,0
Agar	15,0
pH 5,6 ± 0,2 pri 25 °C	

Kontrola mikrobiološke čistoće zraka provodila se na određenom mjestu u prostoriji za obradu infektivnog otpada metodom sedimentacije. Zrak je uzorkovan na TSA i SDA pločama (Ø 90

mm) otvorenim 30 minuta u neposrednoj blizini autoklava. Poslije pola sata ploče bi se zatvorile i stavile na inkubaciju pri radnim uvjetima:

- TSA 48 h/37 °C
- SDA 5 dana/25 °C.

Nakon inkubacije i brojanja poraslih kolonija na navedenim agarima, one najzastupljenije su identificirane daljnjim mikrobiološkim postupcima (*Quinn et al., 1994.*). Za identifikaciju AMB korišten je BBL CRYSTAL za G (+) bakterije (Becton and Dickison, SAD), a gljive su dokazane s nativnim preparatom.

U istoj radnoj prostoriji prilikom prikupljanja uzoraka, a nakon završetka procesa sterilizacije mjereni su temperatura i relativna vlažnost zraka pomoću atestiranog uređaja T 200 (TROTEC, Njemačka).

Statističke metode

Praćeni pokazatelji obrađivani su pomoću statističkih metoda deskriptivne statistike koristeći se statističkim programom Statistica (*Stat Soft Inc., 2008.*). Dobivene vrijednosti određivanih pokazatelja obrađene su Wilcoxonovim testom pomoću ekvivalentnih parova na razini statističke značajnosti od $p < 0,05$.

REZULTATI I RASPRAVA

U sklopu mjesečne kontrole rada autoklava provodi se rutinska kontrola sa sporama *Bacillus stearothermophilus* koje se stavljaju na dno i na vrh aparata. Provedene analize dokazale su da spore mikroorganizama nisu isključile tijekom provedenog inkubiranja. Stoga se sterilizacija infektivnog otpada smatrala učinkovitom, a njezova obrada provodila se u skladu s Pravilnikom o gospodarenju medicinskim otpadom.

Mikrobiološki rezultati

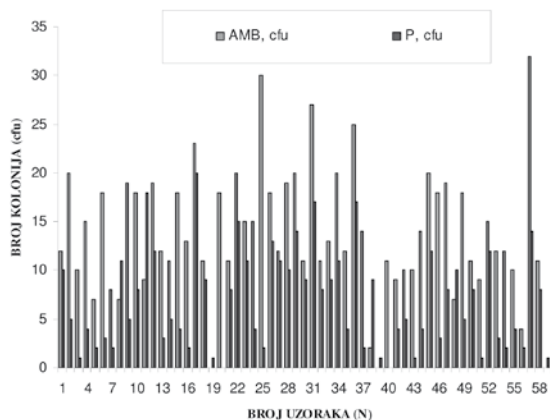
U zraku prostorije za obradu infektivnog otpada srednja vrijednost ukupnog broja aerobno mezofilnih bakterija iznosila je 13,7 cfu dok je za gljive iznosila 6,7 cfu.

Tablica 3. Statistička analiza mikroklimatskih čimbenika, aerobnih mezofilnih bakterija i gljiva (n=60)

Table 3. Statistical analysis of microclimate factors, aerobic mesophilic bacteria and moulds (n=60)

Mjereni pokazatelji		Standardna devijacija	Srednja vrijednost	Minimum	Maksimum
Mikroklima	T, °C	1,1	21,6	19,7	24,3
	rH, %	5,4	68,9	60,1	77,1
Bakterije		6,7	13,7	0	32
Gljive		5,1	6,7	0	20

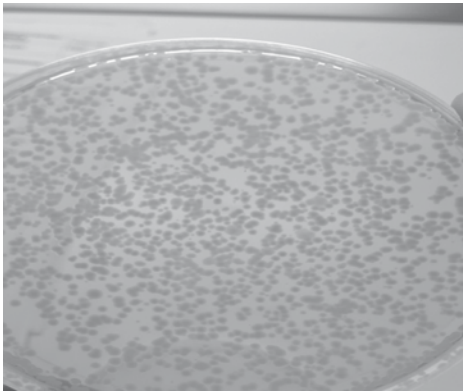
Studija je pokazala da je ukupno bilo 95,0 % (3/60) ploča (TSA i SDA) s poraslim mikroorganizmima. U ovome istraživanju maksimalno određeni broj aerobno mezofilnih bakterija na TSA bio je 32 cfu, a gljiva na SDA bio je 20 cfu (slika 1).



Slika 1. Grafički prikaz aerobno mezofilnih bakterija i gljiva

Figure 1. Graphical representation aerobic mesophilic bacteria and moulds

U zraku prostorije za obradu medicinskog otpada identificirano je 6 rodova bakterija. Uglavnom su bile prisutne Gram (+) i to *Micrococcus luteus* i *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus subtilis*, a nije bilo dokazanih Gram (-) bakterija.



Slika 2. Aerobno mezofilne bakterije na TSA
Figure 2. Aerobic mesophilic bacteria on TSA

Tablica 4. Zastupljenost najčešćih bakterija u zraku

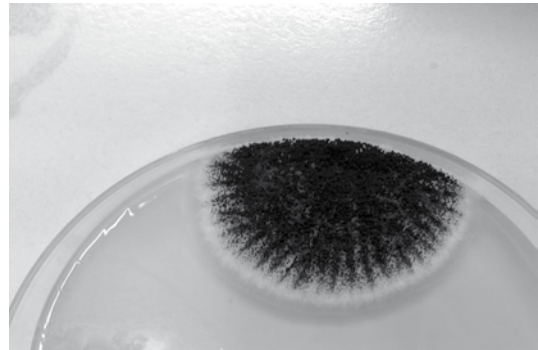
Table 4. Representation of the most common bacteria in the air

Bakterije	Prisutnost (%)
<i>Micrococcus luteus</i>	46
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	28
<i>Streptococcus spp.</i>	13
<i>Bacillus spp.</i>	8
<i>Proteus spp.</i>	3
<i>Corynebacterium spp.</i>	2

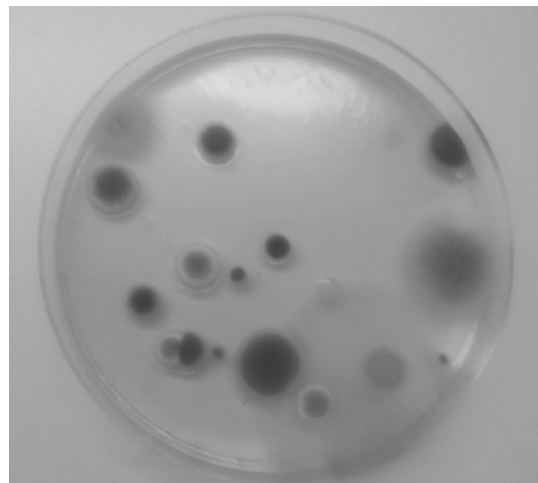
Izolirane bakterije su otporne i prilično rasprostranjene u okolišu, i to zbog prisutnih spirogenih oblika u zraku. Većina nema patogenog potencijala i nisu uzročnici razvoja bolesti kod čovjeka. U zraku radnih prostorija mikroorganizmi dopijevaju miješanjem zračnih masa (križanje neobrađenog i obrađenog infektivnog otpada) što ima za posljedicu veoma raznoliku mikrobiološku populaciju (Matković et al., 2006.).

Navedenom metodom kultivacije gljiva na Sabouraud dextrose agar (SDA) dokazane su različite vrste gljiva. Ovim postupkom dokazane su i plijesni koje su mikroskopske gljive i rastu u obliku hifa, a identificirane su nativnim preparatom. Gljive su veoma rasprostranjene i posvuda prisutni mikroorganizmi, koji preživljavaju na organskom biorazgradivom materijalu, a u zraku koji udišemo nalaze se njihove spore (Matković

et al., 2006.). Dobiveni rezultati o prisutnosti gljiva u zraku pokazali su najveću prisutnost četiri roda gljiva. Najčešće po brojnosti dokazane su gljive iz obitelji *Trichocomaceae*, roda *Aspergillus* i *Penicillium*. Na SDA podlozi gljive rastu brzo, kao bijele kolonije u početku, a onda se pigmentiraju ovisno o vrsti (slike 3 i 4).



Slika 3. *Aspergillus niger* na SDA
Figure 3. *Aspergillus niger* on SDA



Slika 4. *Penicillium* na SDA
Figure 4. *Penicillium* on SDA

Tablica 5. Najčešće zastupljene gljive u zraku

Table 5. Representation of the most common fungi in the air

Gljive	Prisutnost (%)
<i>Aspergillus spp.</i>	38
<i>Penicillium spp.</i>	29
Kvasac	27
<i>Cladosporium spp.</i>	6

Aspergillus niger najraširenija je vrsta roda *Aspergillus* u prirodi. Često se nalaze u stambenim i radnim prostorijama gdje se koloniziraju na vlažnim zidovima (Simčić et al., 2010.). Veće koncentracije navedenih gljiva u zraku mogu izazvati aspergilozu (infekcije pluća ili uha) kod osoba koje imaju oslabljeni imunološki sustav (Simčić et al., 2010.).

Prema rezultatima ovoga istraživanja, iza *Aspergillus niger* sljedeće po učestalosti su gljive roda *Penicillium* koje su sveprisutne te se mogu izolirati s površina na kojima su prisutne organske biorazgradive tvari (Moore, 2011.).

Rezultati o provedenoj mikrobiološkoj čistoći zraka pokazuju prisutnost aerobno mezofilnih bakterija i gljiva u zraku, a kvaliteta mikrobiološke čistoće zraka određivala se na temelju propisanih kriterija o prihvatljivosti prema internoj Radnoj uputi za čistoću zraka. Dobiveni mikrobiološki nalazi su u skladu s interno propisanim kriterijem o prihvatljivosti za navedenu lokaciju:

- $30 \leq \text{AMB} \leq 50$
- $10 \leq \text{P} \leq 20$.

U radu su određene vrijednosti temperature zraka u radnom prostoru koje su se kretale između $19,7^\circ\text{C}$ i $24,3^\circ\text{C}$ uz relativnu vlažnost između $60,1$ i $77,1\%$ rH (Tablica 3).

Prema navodima njemačkih autora (INOUITIC, 2011.), utvrđena je povezanost vrijednosti temperature, relativne vlažnosti i rasta plijesni. Tako su oni utvrdili da topao zrak može apsorbirati više vlage od hladnog, a pri sobnoj temperaturi od 20°C i relativnoj vlažnosti zraka od 60% u jednom m^3 zraka u prostoriji nalazi se 10 g vode. Ako se sobna temperatura smanji na 8°C , zrak u sobi može apsorbirati samo polovinu vlage. To, pak, znači da 50% vlage odlazi iz zraka i pojavljuje se kao kondenzirana voda, najčešće na hladnijim vanjskim zidovima prostorija. Stoga se opasnost od rasta plijesni povećava na ovim točkama, a pri vlažnosti od 80% rH može doći do stvaranja plijesni na zidovima, te u kutovima radnih površina. Navedeni zaključci njemačkih istraživača slažu se s rezultatima ovoga istraživanja jer je srednja vrijednost aerobno mezofilnih bakterija iznosila četrnaest kolonija,

a gljiva je bilo u prosjeku oko sedam kolonija pri srednjoj vrijednosti temperature od $21,6^\circ\text{C}$ i relativnoj vlažnosti od $68,9\%$ rH.

Na razini statističke značajnosti $p < 0,05$ s Wilcoxonovim testom ekvivalentnih parova dokazano je da na AMB i P u zraku izravno utječe vrijednost temperature i relativna vlažnost.

Pljesniv miris, vlaga, voda koja curi, visoka vlažnost i vidljiv porast plijesni česti su pokazatelji prisutnosti spora u zraku unutar zatvorenog prostora (Bilić, 2002.).

Zrak koji usisaju usisne nape, a koje se nalaze iznad aparata za obradu infektivnog otpada trebaju imati u svojem sastavu zamjenske filtre koji onemogućavaju nakupljanje mikroorganizama, grinja i lebdećih čestica. Zamjenski filtri su preporučljiviji jer u perivim filtrima se nakuplja prašina i grinje koji se teško mogu u potpunosti očistiti, a poznato je da su grinje jedan od vodećih uzroka cjelogodišnjih alergija. Klimatizacijski uređaji mogli bi također imati ulogu u nastajanju alergija dišnih putova, te ih je nužno redovito održavati, čistiti i dezinficirati. Infekcije koje se prenose zrakom mogu se spriječiti i primjenom uređaja za UVC sterilizaciju. Ultraljubičasto zračenje je dio spektra elektromagnetskih valova, te direktnim djelovanjem UVC-zračenja kod 254 nm dolazi do fotokemijskog deaktiviranja DNK prisutnih mikroorganizama i njihovog uništenja. U skladu s uputama proizvođača potrebno je zamijeniti UV lampe unutar uređaja nakon isteka određenog broja radnih sati jer po prekoračenju istih smanjuje se njihova učinkovitost i njihovo baktericidno djelovanje.

ZAKLJUČAK

Mikrobiološka analiza zraka unutar radne prostorije medicinske ustanove pokazala je prisutnost aerobno mezofilnih bakterija i gljiva koji su pokazatelji njihove sporogene prisutnosti u zraku. Ukupan broj aerobno mezofilnih bakterija i gljiva u prostoriji u kojoj se obrađuje infektivni otpad povezan je s temperaturom i relativnom vlažnošću što je potvrđeno Wilcoxonovim testom ekvivalentnih parova na razini statističke značajnosti $p < 0,05$.

Stoga je potrebno redovito provoditi mjere čišćenja, prozračivanja i dezinfekcije radne opreme i površina sprečavajući na taj način kolonizaciju mikroorganizama u radnim prostorijama. Na temelju dobivenih rezultata preporučljivo je redovito održavati filtre koji služe za usis zraka, te redovito upotrebljavati uređaj za UVC sterilizaciju zraka (UV lampe).

Nadzorom higijenskog statusa zraka i osiguravanjem njegove mikrobiološke čistoće omogućava se smanjenje opasnosti od mikrobiološke infekcije ljudi ili proizvoda, čime se povećava kvaliteta života ili kvaliteta proizvoda.

LITERATURA

Bilić, N.: *Oko. U.: Medicina rada i okoliša*, ur. Šarić, M., Žuškin, E., Medicinska naklada, Zagreb, 2002.

Bojić-Turčić, V.: *Sterilizacija i dezinfekcija u medicini*, Medicinska naklada, Zagreb, 1994., str. 66-75.

Bojić-Turčić, V.: *Zbrinjavanje medicinskog otpada*, Vlatka Turčić, Zagreb, 2003.

Čvorišćec, B.: *Alergologija*, dostupno na: http://www.tegobe.cim/casopisi/vase_zdravlje/alergologija/09_12_1999_alergijske_bolesti.html, pristupljeno: 26.3.2013.

De Zwart, B.C., Frings-Dresen, M.H., Van Duivenbooden, J.C.: *Test-retest reliability of the Work Ability Index questionnaire*. *Occup Med (London)*, 52, 2002., 177-181.

Grant, C.C.: *Respiratory exposure study for fire fighters and other emergency responders*. *Fire Technology*, 46, 2010., 497-529.

Guidotti, T.L.: *Firefighting Hazards*. In: Stelman, J.M., editor. *Encyclopaedia of Occupational Health and Safety*. 4th edition. International Labour Office. Geneva, 1998., 954-959.

Hartung, J.: *Art und umfang der von nutztierställen ausgehenden luftverunreinigungen*. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 105, 1998., 213-216.

HRN ISO 18593:2008.: *Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalne metode za postupke uzorkovanja s površina upotrebom kontaktnih ploča i briseva*, Hrvatski zavod za norme, Zagreb, 2008.

Hrvatski zdravstveno-statistički ljetopis za 2012. godinu. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, 2013.

INOUTIC survey results 2011., dostupno na: <http://www.inoutic.hr/hr/savjeti-za-kupovinu-prozora/ventilacija/vlaga-i-pljesni/vlanost-i-rast-pljesni.html>, pristupljeno: 17.2.2016.

Marinković, N., Vitale, K., Janev Holcer, N.: *Javnozdravstveni aspekti gospodarenja opasnim otpadom*. *Arh Hig Rada Toksikol*, 56, 2005., 21-32.

Marinković, N., Vitale, K., Janev Holcer, N., Džakula, A.: *Zbrinjavanje medicinskog otpada – zakonodavstvo i njegova provedba*. *Arh Hig Rada Toksikol*, 57, 2006., 339-45.

Martimo, K.P., Varonen, H., Husman, K., Viikari-Juntura, E.: *Factors associated with self-assessed work ability*. *Occup Med (Lond)*. 57, 2007., 380-382.

Matković, K., Vučemilo M., Vinković, B., Pavičić, Ž., Matković, S.: *Mikroorganizmi u zraku staje kao mogući postsekretorni zagađivači mlijeka*. *Mljekarstvo*, 56, 2006., 369-377.

Moore, D.: *21st Century Guidebook to Fungi*, ur. Robson, G.D., Trinci A.P.J., Cambridge University, London, 2011.

Orris, P.: *Fifty years of hope and concern for the future of occupational medicine*. *J. Occup. Environ. Med.*, 46, 2003., 6, 515-519.

Pravilnik o gospodarenju otpadom, N.N., br. 23/14., 51/14., 121/15. i 132/15.

Pravilnik o gospodarenju medicinskim otpadom, N.N., br. 50/15.

Puntarić, D., Miškulin, M., Bošnjir, J.: *Zdravstvena ekologija*, Medicinska naklada, Zagreb, 2012.

Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., Carter, G.R.: General procedures in microbiology. In: Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., Carter, G.R. editors. *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe Publishing. London. 1994., 648.

Shalini, S., Chauhan, S.V.S.: Assessment of bio-medical waste management in three apex Government hospitals of Agra. *Journal of Environmental Biology*, 29, 2008., 2, 159-162.

Šimčić, S., Matos, T.: Mikrobiološka diagnostika invazivne aspergiloze, *Zdrav Vestn*, 79, 2010., 716-725.

Surjit, S.: Biomedical Waste Classification and Prevailing Management Strategies. *Proceedings of the International Conference on Sustainable Solid Waste Management*, 2007., 169-175.

StatSoft, Inc.USA (2008): *STATISTICA (Data Analysis Software System) ver.7.1*

Štimac, D., Čulig, J., Šostar, Z., Bolanča, M.: Opasni otpad: zbrinjavanje starih lijekova. *Gospodarstvo i okoliš*, 85, 2007., 160-164.

MONITORING THE MICROBIOLOGICAL STATUS OF AIR IN THE STERILIZATION UNITS OF HEALTH CARE FACILITIES

*SUMMARY: Microorganisms in the air are part of the bioaerosol which is composed of different particles of biological substances, dust particles, bacteria cells and their portions, mould spores and a number of by-products of their metabolism. This research focuses on analysing the primary microclimate indicators (temperature and relative humidity) and the presence of microorganisms in the work environment (air). Measurements were taken after the process of sterilisation of infective waste over three months with the objective to determine the total number of aerobic mesophilic bacteria and the total number of moulds. The microclimate indicators were measured with an attested device. The study monitored the microbiological purity of the air in a given place using the sedimentation method, with samples subsequently processed in a microbiology lab in keeping with the prescribed standards. After incubation and following the counting of developed colonies on microbiological substrates (Tryptic soy agar and Sabouraud dextrose agar), different strains of bacteria and moulds were identified. The most common were Gram (+) sporogenes bacteria *Micrococcus spp* and *Staphylococcus spp.*, and as for fungi the most commonly found were *Aspergillus spp* and *Penicillium spp*.*

It was found that temperature and relative humidity affect the total number of aerobic mesophilic bacteria and fungi which was confirmed using the Wilcoxon equivalent pairs test at the level of statistic significance $p < 0.05$.

Key words: air quality, microclimate conditions, bacteria, fungi

Original scientific paper

Received: 2016-03-15

Accepted: 2016-09-01