

Strokovni prispevek/Professional article

VZORČENJE SPOR PLESNI IZ RODU *ASPERGILLUS* V ZRAKU KLINIČNEGA ODDELKA ZA HEMATOLOGIJO V LJUBLJANI

SAMPLING OF SPORES OF *ASPERGILLUS* SPP. IN AIR AT DEPARTMENT OF HEMATOLOGY IN LJUBLJANA

Renata Ocvirk¹, Tadeja Matos¹, Matjaž Sever², Samo Zver²

¹Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

²Klinični oddelek za hematologijo, Klinični center, Zaloška 7, 1525 Ljubljana

Prispelo 2004-02-26, sprejeto 2004-03-12; ZDRAV VESTN 2004; 73: Suppl. I: 173-7

Ključne besede: kakovost zraka; filtri HEPA; invazivna aspergiloza

Izvleček – Izhodišča. Pri nevtropeničnih hematoloških bolnikih je invazivna aspergiloza eden najpogostejših in najresnejših zapletov zaradi okužbe. Da bi preprečili eksogeno okužbo s plesnijo *Aspergillus* spp., je pri bolnikih s kritično nevtropenijo potrebno omogočiti čim nižjo koncentracijo plesni v njihovem bivalnem okolju. Zato je priporočeno število spor nižje od 1,0 CFU/m³.

Metode. Z vzorčenjem zraka v prostorih Kliničnega oddelka za hematologijo (KOH) v Ljubljani smo želeli oceniti in primerjati koncentracijo spor *Aspergillus* spp. na različnih delih oddelka in hkrati oceniti učinkovitost higiensko-sanitarnih ukrepov v različnih prostorih KOH KC v Ljubljani.

Rezultati. Rezultati vzorčenja ne kažejo bistvenih razlik v koncentraciji spor *Aspergillus* spp. med zrakom v okolju in med zrakom v različnih prostorih KOH. Vrednosti koncentracij spor *Aspergillus* spp. v različnih prostorih KOH so se gibale med 0,0 in 19,2 CFU/m³.

Zaključki. Koncentracije spor *Aspergillus* spp. v zraku vseh vzorčenih prostorov KOH so odločno previsoke, upoštevaje priporočene vrednosti. V različnih prostorih so med seboj primerljive ne glede na različno raven higiensko-sanitarnih ukrepov. Vzrok so različni dejavniki iz zunanega in notranjega okolja, predvsem pa so posledica nefiltriranja zraka v prostori KOH.

Uvod

Aspergiloze, ki jih povzročajo glive iz rodu *Aspergillus*, so povsod prisotne in široko razširjene plesni v okolju (1, 2). Pri imunsko pomanjkljivih bolnikih so povezane z visoko obolevnostjo in kasneje smrtnostjo (1–4). Najpogostejše za invazivno aspergilozo zbolijo bolniki z obsežnimi opeklinami, okuženi z virusom HIV, rakavi bolniki, ki se zdravijo z imunosupresivnimi zdravili in citostatiki, in bolniki, zdravljeni s presaditvijo solidnih organov oziroma s presaditvijo krvotvornih matičnih celic (PKMC) (1, 4).

Key words: air quality; HEPA filters; invasive aspergillosis

Abstract – Background. Invasive aspergillosis is the most frequent and the most greatly feared infectious complication in neutropenic hematological patients. In order to prevent exogenous aspergillus infection in such patients, their environment should be as free as possible from aspergillus spores, i.e. considerably below 1,0 CFU/m³.

Methods. With the air sampling at different points of Haematology Department in the Ljubljana Clinical Center we wished to compare concentration of spores of *Aspergillus* spp. and to define an efficacy of hygienic-sanitary measures at those points.

Results. Air sampling revealed that there is no essential difference in concentration of spores of *Aspergillus* spp. between external and internal air and also among different spaces at Haematology Department. The concentration of spores of *Aspergillus* spp. varied between 0.0 and 19.2 CFU/m³.

Conclusions. Concentrations of spores of *Aspergillus* spp. in different units of Haematology Department are extremely high and unacceptable. This is probably the consequence of the different external and internal environment factors. However, we may conclude that the most influential factor is unfiltered air.

Pri nevtropeničnih hematoloških bolnikih, zdravljenih z visokimi odmerki citostatikov in PKMC, je invazivna aspergiloza eden najpogostejših in najresnejših zapletov zaradi okužbe (1, 5). Zaradi narave osnovne hematološke bolezni in njenega zdravljenja invazivno aspergilozo pri teh bolnikih spremlja še posebej visoka obolevnost in smrtnost (1). Glavni dejavnik tveganja za nastanek invazivne aspergiloze je dolgotrajna, praviloma vsaj tri tedne trajajoča kritična nevtropenija. Slednjo označuje število nevtrofilnih granulocitov nižje od $0,5 \times 10^9/L$. Med dejavnike tveganja prištevamo še starost bolnika, zdravljenje s glukokortikoidi in ostalimi imunosupresivnimi zdravili, daljše

zdravljenje z antibiotiki širokega spektra pred tem, okužbo s citomegalovirusom in nastanek reakcije presadka proti gostitelju pri bolnikih po PKMC (5).

Diagnostika invazivne aspergiloze je pri hematoloških bolnikih težavna. Zaradi trombocitopenije in motenj hemostaze invazivni diagnostični postopki, kot npr. biopsija prizadetega organa (pljuča, jetra, bezgavka), niso izvedljivi. Slednje predstavlja težavo, saj je za potrditev invazivne glivične okužbe potreben histološki dokaz (6, 7). Zgodnja diagnostika aspergiloze je pomembna, saj pripomore k zniževanju smrtnosti (8). V času, ki je potreben za potrditev okužbe, smrtnost lahko naraste za 50 do 95% (4). Zato se v zadnjih letih poslužujemo predvsem določanja galaktomananskega antigena *Aspergillus* spp. že iz krvi in drugih telesnih tekočin z metodo lateksne aglutinacije ali z občutljivejšo metodo ELISA (6, 9–12). Diagnostiko nadgradimo z rentgenskim slikanjem in računalniško tomografijo pljuč (5). V diagnostiki aspergiloze je zelo pomembna tudi osamitev in identifikacija povzročitelja iz kužnin, kot so respiratorni izločki, brisi kožnih sprememb in bronho-alveolni izpirki (13). Z diagnostiko glivičnih okužb na molekularni ravni (odkrivanje genoma *Aspergillus* spp. iz telesnih tekočin z metodo PCR) v Sloveniji nimamo izkušenj (8, 10, 12). Kljub vsem omenjenim diagnostičnim postopkom trenutno še ni metode z dovolj visoko občutljivostjo in specifičnostjo, ki bi omogočala postavitev diagnoze v zgodnjem obdobju aspergiloze (8).

Zelo pomemben dejavnik za razvoj invazivne aspergiloze je bolnikovo okolje. Aspergiloza je namreč praviloma eksogeno pridobljena okužba. Vir spor predstavljajo organske snovi. Bolniki se okužijo z vdihavanjem spor *Aspergillus* spp., ki so prisotne v zraku. Spore v zraku odkrivamo z vzorčenjem zraka. Pri izbiri vzorčevalnikov zraka za štetje in osamitev spor gliv iz rodu *Aspergillus* je pomembno, da upoštevamo biološke in fizikalne lastnosti plesni. Za vzorčenje zraka so na voljo različni vzorčevalniki (14). Na osnovi kliničnih in laboratorijskih podatkov je najustrežnejši vzorčevalnik zraka SAS (Surface Air System). SAS je v primerjavi z drugimi vzorčevalniki obvladljivo težak in prenosljiv. Visoka hitrost vsesavanja zraka (180 L/min) in nastavljiva prostornina vsesanega zraka omogočata uporabo vzorčevalnika SAS v okoljih z nizkimi koncentracijami tarčnih organizmov. Omogoča odkrivanje spor, sposobnih življenja, ki dejansko povzročijo glivično okužbo (14).

Pomembno je vedeti, da se spore plesni iz rodu *Aspergillus* v ozračju pojavljajo periodično in v izbruhih (15). Število spor plesni v zraku se lahko spreminja zaradi različnih dejavnikov: aktivnost v prostoru, prenovitvena in vzdrževalna dela v okolju, nihanje temperature, vlažnosti, zračnih tokov in svetlobe, stopnja sposobnosti za življenje glivičnih spor (starost, poškodbe spor z lučmi in sušenjem) in razmnoževalni cikel plesni (14, 15). Ponovljivost rezultatov vzorčenja je slaba in enkratno vzorčenje nima prave vrednosti (16). Stalnega periodičnega vzorčenja zraka na bolnišničnih oddelkih ne izvajamo. V literaturi priporočajo vzorčenje zraka v naslednjih primerih:

- ugotavljanje povezanosti med gradbenimi deli v bolnišnici in bolnišničnem ožjem okolju z epidemijo invazivne aspergiloze;
- odkrivanje mogočih virov spor *Aspergillus* spp. v prezračevalnih in filtracijskih sistemih oz. ugotavljanje učinkovitosti teh sistemov;
- nadzorovanje postopkov čiščenja (14).

Še posebno pomembno pa je vzorčenje zraka v primerih, ko je prisoten vir spor plesni v notranjih prostorih, kjer se bolniki zdravijo in zadržujejo. K temu nas navajajo naslednji kazalci:

- skupno število spor v zraku notranjih prostorov je večje od skupnega števila spor v zraku zunanjega okolja;
- določeni organizmi so prisotni v zraku notranjega okolja, v zraku zunanjega okolja pa jih ni;
- prevladujoči organizmi v zraku notranjega okolja se razlikujejo od organizmov v zunanem zraku;
- stalna prisotnost visokih koncentracij organizmov (14).

Z večmesečnim vzorčenjem zraka v različnih prostorih Kliničnega oddelka za hematologijo (KOH) Kliničnega Centra v Ljubljani smo želeli primerjati koncentracijo spor *Aspergillus* spp. v različnih delih oddelka in oceniti učinkovitost higiensko-sanitarnih ukrepov, ki so značilni za primerjane dele oddelka.

Metode

Od decembra 2003 do konca januarja 2004 smo v presledkih približno enega tedna s SAS vzorčevalnikom vzorčili zrak na KOH. Skupno smo opravili enajst vzorčenj zraka. Zrak smo vzorčili v sobah številka 14 (bivalni del sobe) in 20 (bivalni prostor in kopalnica sobe 20). Soba 14 je del rednega oddelka, soba 20 pa del prostorov, namenjenih za dejavnost presaditve krvotvornih matičnih celic (PKMC). Kontrolo je predstavljal zunanji zrak, zajet z vzorčevalnikom SAS 20–40 cm od zunanjega dela okna v prostoru, namenjenem dejavnosti PKMC. Zrak v vsakem prostoru smo vzorčili trikrat zaporedoma na RODAC plošče (enkrat na gojišče po Sabouraudu in dvakrat na gojišče po Czapku). Po končanem vzorčenju smo plošče z gojiščem zaprli s parafilmom in inkubirali na 30 °C (gojišče po Sabouraudu in gojišče po Czapku) in 37 °C (gojišče po Czapku). Plošče smo dnevno pregledovali in po 72 urah zrasle kolonije identificirali z makroskopsko analizo kultur in z morfološki značilnostmi mikroskopskih pripravkov plesni. Število nastalih kolonij (angl. »colony forming units« CFU) na m³ (CFU/m³) smo določili s pomočjo formule in korekcijskih tabel:

$CFU/m^3 = \text{število prešteti kolonij na plošči (z upoštevanjem korekcijskega koeficienta)} \times 1000 / V \text{ vzorčenega zraka (14)}$

Strokovna literatura priporoča vzorčenje velikih volumnov zraka (1000 L). Pred začetkom meritev je potrebno določiti najustrežnejši volumen s poskusom in napako z večkratnim vzorčenjem. Če so volumni vzorčenja preveliki, lahko namreč pride do konfluentne rasti organizmov, kar onemogoča določitev števila kolonij plesni. Zato plošče postanejo neuporabne za nadaljnje delo (14). V našem primeru smo vzorčili od 600 L do 900 L zraka.

Rezultati

Razpredelnice 1 do 4 prikazujejo rezultate opravljenih vzorčenj zraka. Pri vseh vzorčenjih smo največkrat osamili plesni iz rodu *Penicillium* in *Aspergillus*. Poleg plesni iz rodu *Aspergillus* smo pogosto osamili še plesni iz rodov: *Monilia*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Trichoderma*, *Acremonium*, *Paecilomyces*. Med vrstami iz rodu *Aspergillus* prevladujeta *A. fumigatus* in *A. flavus*. Koncentracija spor med zaporednimi meritvami v vseh prostorih variira. V bivalnem prostoru sobe 14 se je koncentracija spor *Aspergillus* spp. gibala od 0,0–19,2 CFU/m³, v kopalnici sobe 20 od 0,5–5,6 CFU/m³, v bivalnem delu sobe 20 od 0,9–9,2 CFU/m³ in v zunanem zraku od 0,0–29,5 CFU/m³.

V sobi številka 14 je koncentracija spor *Aspergillus* spp. preseгла vrednost 1,0 CFU/m³ kar pri 10 od skupno 11 vzorčenj zraka. V bivalnem delu sobe 20 je bila ta vrednost presežena 9-krat in 8-krat v kopalnici sobe 20.

Če primerjamo bivalna dela sob 14 in 20, je bilo v šestih primerih od 11 vzorčenj absolutno število spor *Aspergillus* spp. večje v sobi 20.

Najvišjo koncentracijo spor, to je 29,5 CFU/m³ smo zabeležili v zunanem zraku. Zdi se, da visoka koncentracija spor v zunanem zraku sovпада z visoko koncentracijo spor v notranjih prostorih hematološkega oddelka.

Rezultati koncentracij spor *Aspergillus* spp. bivalnega dela sobe 20 in pripadajoče kopalnice so v skupno devetih vzorčenjih primerljivi. Koncentracije spor so bile v štirih od devetih

vzorčen je večje v bivalnem delu sobe in v treh primerih v kopalnici sobe 20. Rezultati dveh meritev so bili identični. Med zaporednimi meritvami v istih prostorih smo beležili precejšnje razlike. Še posebno je to očitno ob meritvah v presledku samo enega dneva (Razpr. 1, Razpr. 2, Razpr. 3, Razpr. 4).

Razpravljanje

Aspergillus fumigatus je najpomembnejši in najpogostejši povzročitelj invazivne aspergiloze pri imunsko oslabljenih bolnikih (2, 8, 17). Redkejša povzročitelja sta *Aspergillus flavus* in *A. niger* (1). V zunanjem zraku koncentracija spor niha geografsko in sezonsko. Povprečna koncentracija spor v zunanjem zraku je pri našem vzorčenju nihala med 0,0 in 29,5 CFU/m³. Literatura navaja vrednosti med 1,0 in 40,0 CFU/m³ (15, 16).

Rezultati vseh 11 vzorčenj kažejo, da smo v štirih primerih najvišjo koncentracijo spor plesni iz rodu *Aspergillus* izmerili v zunanjem zraku. Ugotovili smo, da je v zraku različnih primerjanih notranjih prostorov in v zunanjem zraku spekter in število osamljenih spor plesni podobno. Če ocenjujemo vsako posamično meritev, je moč razbrati, da je pri večini meritev koncentracija spor v notranjih prostorih približno enaka koncentraciji spor v zunanjem zraku. Zato se zdi, da zunanji zrak določa koncentracijo spor plesni *Aspergillus* na hematološkem oddelku. V literaturi priporočajo na hematoloških oddelkih zatesnitve oken, tako da jih ni mogoče odpirati (17). V bolniških sobah, v katerih smo izvajali meritve, je okno pogosto odprto zaradi zračenja. To je edini možni način prezračevanja, saj na oddelku ni nobenih prezračevalnih in filtracijskih sistemov. Na okenskih policah so številni golobji iztrebki, saj se golobi v iskanju hrane in zavetja tam zadržujejo. Eden od možnih virov spor *Aspergillus* spp. so verjetno golobji iztrebki.

Število spor plesni *Aspergillus*/m³ se je v sobi 14 gibalo med 0,0 in 19,2 CFU/m³. Približno enake koncentracije spor plesni iz rodu *Aspergillus* v zraku notranjih prostorov (soba 14) in zunanjem zraku potrjujejo verjetni zunanji vir plesni. Dodatna dejavnika okolja v obdobju merjenja sta bila morda še izkop gradbene jame za novo Pediatrično kliniko (čeprav gradbena dela v času meritev niso potekala) in razpadajoča stara stavba v bližini bolnišnice. Višje vrednosti v zraku notranjih prostorov kot v zraku zunanjega okolja kažejo tudi na mogoče notranje vire plesni (2). To so predvsem prah, vlaga in večja aktivnost osebja oz. obiskovalcev v sobi (16). Gradbena in vzdrževalna dela v obdobju meritev na oddelku niso potekala. Soba 20 je del enote za PKMC. V slednji veljajo strožja higienska in sanitarna pravila kot na preostalem hematološkem oddelku. To so mokro čiščenje, obvezna uporaba zaščitnih mask

Razpr. 1. Koncentracija spor *Aspergillus* spp. v vzorčenem zraku sobe 14 Kliničnega oddelka za hematologijo.

Table 1. Concentration of *Aspergillus* spp. spores in sampling air at Departement of Haematology – room No. 14.

	1.12. 2003	9.12. 2003	16.12. 2003	22.12. 2003	6.1. 2004	12.1. 2004	13.1. 2004	19.1. 2004	20.1. 2004	26.1. 2004	27.1. 2004
<i>A. fumigatus</i>	10,7	1,7	0,6	0	3,7	0,5	1,4	0	0	0	0
<i>A. flavus</i>	1,5	4,5	1,1	0	0,9	0,9	1,4	0	0,5	0	0
<i>A. niger</i>	0,7	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0,5
<i>A. versicolor</i>	6,3	0	0	0,6	0	0	0	0	0,5	0	0
<i>Aspergillus</i> spp.	0	0	0	0,6	4,2	0,5	1,4	0	0,9	1,4	0,9
Vsota											
Total	19,2	6,2	1,7	1,2	9,3	1,9	4,2	0,0	1,9	1,4	1,4

Razpr. 2. Koncentracija spor *Aspergillus* spp. v vzorčenem zraku sobe 20 Kliničnega oddelka za hematologijo.

Table 2. Concentration of *Aspergillus* spp. spores in sampling air at Departement of Haematology – room No. 20.

	1.12. 2003	9.12. 2003	16.12. 2003	22.12. 2003	6.1. 2004	12.1. 2004	13.1. 2004	19.1. 2004	20.1. 2004	26.1. 2004	27.1. 2004
<i>A. fumigatus</i>	2,9	1,7	0	1,7	2,3	0	2,3	0	2,3	1,9	1,9
<i>A. flavus</i>	1,1	2,8	1,1	0	0,5	0	0,9	0,5	2,3	0	0
<i>A. niger</i>	0,7	0	0	0	0	0	2,3	0	0	0	0
<i>A. versicolor</i>	1,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus</i> spp.	0	0	0	0	2,3	0,9	3,7	0,5	0,9	0,5	0,9
Vsota											
Total	5,8	4,5	1,1	1,7	5,1	0,9	9,2	1,0	5,5	2,4	2,8

Razpr. 3. Koncentracija spor *Aspergillus* spp. v vzorčenem zunanjem zraku.

Table 3. Concentration of *Aspergillus* spp. spores in external sampling air.

	1.12. 2003	9.12. 2003	16.12. 2003	22.12. 2003	6.1. 2004	12.1. 2004	13.1. 2004	19.1. 2004	20.1. 2004	26.1. 2004	27.1. 2004
<i>A. fumigatus</i>	24,8	6,1	0,6	5,5	1,9	3,3	4,2	0	0	0,5	0
<i>A. flavus</i>	0,7	1,1	0	0	0	1,9	0	0	0	0	0
<i>A. niger</i>	0,7	0	1,1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. versicolor</i>	3,3	0	0	0,6	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus</i> spp.	0	0	0	0	2,8	2,3	3,7	0	0,5	1,4	1,9
Vsota											
Total	29,5	7,2	1,7	6,1	4,7	7,5	7,9	0	0,5	1,9	1,9

Razpr. 4. Koncentracija spor *Aspergillus* spp. v vzorčenem zraku kopalnice sobe 20 Kliničnega oddelka za hematologijo.

Table 4. Concentration of *Aspergillus* spp. spores in sampling air at Departement of Haematology – bathroom No.20.

	16.12. 2003	22.12. 2003	6.1. 2004	12.1. 2004	13.1. 2004	19.1. 2004	20.1. 2004	26.1. 2004	27.1. 2004
<i>A. fumigatus</i>	0,9	0	2,8	0,9	3,3	0,5	2,8	0,5	0
<i>A. flavus</i>	0	0	0	0	0	0	2,3	0	0
<i>A. niger</i>	0	0	1,4	0	0	0	0	0	0
<i>A. versicolor</i>	1,7	0,6	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus</i> spp.	0	1,1	0,5	1,4	1,9	0	0,5	0,5	2,8
Vsota									
Total	2,6	1,7	4,7	2,3	5,2	0,5	5,6	1,0	2,8

in pokrival za enkratno uporabo in še pogostejše razkuževanje rok osebja in obiskovalcev. Posebni prednosti pa sta ločitev prostorov za dejavnost PKMC z dvojnimi samozapiralnimi vrati in ugodnost, da ima bolnik v enoposteljnih sobah na voljo svojo kopalnico. V poteku vzorčevanja zraka je koncentracija spor *Aspergillus* spp. v sobi 20 nihala med med 0,9 in 9,2 CFU/m³. V zraku kopalnice sobe 20 se je koncentracija gibala med 1,7 in 5,2 CFU/m³. Praviloma je bila koncentracija spor v obeh prostorih medsebojno primerljiva. Pri devetih merjenjih je bila koncentracija spor v štirih primerih večja v kopalnici, dva-

krat je bila enaka in v treh primerih je bila večja v bivalnem delu sobe 20. To je zanimivo, saj nekateri poročajo, da je število spor plesni večje v vlažnih prostorih (15). Zato na nekaterih oddelkih bolnikom priporočajo umivanje z vlažnimi, sterilnimi gobami in odsvetujejo uporabo tekoče vode.

Če primerjamo sobi 14 in 20 vidimo, da je bila koncentracija spor pri šestih od enajstih merjenj večja v sobi 20 kot v sobi 14. To je v nasprotju z našimi pričakovanji, saj glede nevarnosti glivičnih okužb soba 20 velja kot »varna in čista«. Zaključimo lahko, da so bolniki, zdravljeni v sobi 20, približno v enaki meri izpostavljeni sporam plesni kot na preostalem hematološkem oddelku.

Iz vseh rezultatov je razvidno, da so vrednosti števila spor *Aspergillus* spp./m³ v vseh prostorih KOH odločno prevelike. Meril ali normativov za »varno« število spor plesni iz rodu *Aspergillus* spp./m³ v zraku ni (14, 18). Da bi preprečili eksogeno okužbo s plesnijo iz rodu *Aspergillus*, je pri bolnikih s kritično nevtropenijo potrebno omogočiti kar se da nizko koncentracijo plesni v bivalnem okolju bolnikov. Želeno število spor je tako znatno pod 1,0 CFU/m³ (18). Nekateri celo menijo, da mora biti število spor plesni iz rodu *Aspergillus* spp. manjše od 0,1 CFU/m³ zraka, saj je infektivni odmerek za razvoj invazivne aspergiloze nizek (14). Že koncentracija spor *Aspergillus* spp. 1,0–3,0 CFU/m³ lahko povzroči okužbo pri imunsko oslabljenih bolnikih (16). Celo inhalacija ene same spore lahko pomeni povečano tveganje za razvoj pljučne aspergiloze.

Okužbe, ki se širijo po zraku, med katere sodi tudi invazivna aspergiloza, poskušamo preprečevati z odstranitvijo kužnih mikroorganizmov, tj. spor plesni iz rodu *Aspergillus* spp. iz bolnikovega okolja. Zato odstranimo iz bolniških sob rastline in nekatere vrste hrane (npr. začimbe in žitarice), osamimo imunsko pomanjkljive bolnike, redno uporabljamo maske in mokro čiščenje. Najučinkovitejši ukrep pa je gotovo učinkovito, neprekinjeno filtriranje zraka in vzdrževanje pozitivnega tlaka v bolniških sobah (16, 17, 19). Za filtriranje zraka se uporabljajo različne metode (19). Za najučinkovitejšo metodo velja filtriranje zraka s filtri HEPA (angl. »high-efficacy particulate air filter«). Ti omogočajo zmanjšanje koncentracijo spor plesni iz rodu *Aspergillus* pod 0,1 CFU/m³. Z 99,97 % učinkovitostjo odstranjujejo delce, ki v premeru merijo več kot 0,3 µm (16). Ker spore plesni iz rodu *Aspergillus* v premeru merijo 2 do 4 µm, jih filtri HEPA zlahka odstranijo (20). Raziskave so pokazale, da uporaba filtrov HEPA preprečuje glivične okužbe in zato poveča preživetje bolnikov po PKMC (16).

V eni od raziskav so na osnovi količine vdihanega zraka in koncentracije spor plesni iz rodu *Aspergillus* v okolju izračunali, da so bili bolniki izpostavljeni 5 sporam plesni/uro. Z uporabo filtra HEPA so to vrednost znižali na 0,0015 spore/uro (16). Hkrati filtri HEPA zagotavljajo pogosto menjavanje zraka v prostoru (3–20 menjav zraka/uro) (16, 18). Pomembna okoliščina pri zdravljenju bolnikov s pomanjkljivim imunskim odzivom je tudi vzdrževanje pozitivnega tlaka zraka (nadtak) v bolniških sobah in prostorih, kjer se bolniki zdravijo (17).

Pozornost je potrebno nameniti še ostalim virom plesni iz rodu *Aspergillus*. To so prah, gradbeni material, prezračevalne cevi in prezračevalniki, odprtine v zidovju, vlaga, ruševine, ptičji iztrebki, gradbena dela in prenosljiva bolnišnična oprema. Ti dejavniki se lahko nahajajo znotraj in tudi zunaj bolnišničnega okolja (14, 15). Bolniki lahko pridejo že v bolnišnico »polni« spor plesni, saj je vir okužbe lahko tudi bolnikovo domače okolje (2). Zato je tudi ob odpustu iz bolnišnice potrebno z anamnezo preveriti, v kakšno domače okolje bolnik odhaja. Pri odkrivanju vira plesni iz rodu *Aspergillus* so zadnja leta lahko v pomoč tudi molekularne metode, kot sta hibridizacijska in »randomly amplified polymorphic DNA« metoda (RAPD). Zaradi visoke stopnje genske raznolikosti v populaciji plesni iz rodu *Aspergillus* pogosto ne dobimo želenih podatkov o viru plesni (2, 3, 17).

Zaključimo lahko, da so pogoji zdravljenja bolnikov s kritično nevtropenijo, vključujoč bolnike, ki se zdravijo s PKMC na KOH Kliničnega Centra v Ljubljani, neprimerni. Število spor plesni iz rodu *Aspergillus* je pogosto večdesetkrat večje od še dopustnega. To je posledica neurejenih dejavnikov iz okolja in še v večji meri posledica nefiltriranja zraka. Na oddelku namreč ni filtrov HEPA, prav tako pa tudi prostori oddelka nimajo nadtlalnega zračnega sistema. Vse to pomeni večjo obolenost bolnikov zaradi invazivne aspergiloze in kasneje tudi njihovo večjo umrljivost. Zaradi visokih stroškov zdravljenja ni zanamrljiva tudi gmotna plat vprašanja. Obvladovanje problema invazivne aspergiloze mora obsegati več različnih, med seboj povezanih ukrepov:

- sodelovanje lečečih kliničnih zdravnikov, lokalnih bolnišničnih epidemiologov in higienikov;
- okoljska preventiva (filtri HEPA in nadtlalni prostori);
- dobro načrtovanje del in posebni varnostni ukrepi pri vzdrževalnih in gradbenih delih v bližini oddelkov za hematologijo;
- sistematično protiglivično preventivno zdravljenje;
- hitra in zgodnja diagnostika ter zdravljenje glivičnih okužb (1, 21).

Zahvala

Zahvaljujemo se laborantkama Laboratorija za diagnostiko gliv in plesni, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo v Ljubljani, Tatjani Marinko in Janji Svolsjak, za tehnično pomoč.

Literatura

1. Ruechel R, Reichard U. Pathogenesis and clinical presentation of aspergillosis. In: Brakhage AA, Jahn B, Schmidt A eds. *Aspergillus fumigatus* biology, clinical aspects and molecular approaches to pathogenicity. 1st ed. Vol 2. Basel: Karger, 1999: 21–43.
2. Leenders ACAP, Belkum A, Behrendt M, Luijckendijk A, Verbrugh HA. Density and molecular epidemiology of *Aspergillus* in air and relationship to outbreaks of *Aspergillus* infection. J Clin Microbiol 1999; 37: 1752–57.
3. Chazalet V, Debeaupuis JP, Sarfati J et al. Molecular typing of environmental and patient isolates of *Aspergillus fumigatus* from various hospital settings. J Clin Microbiol 1998; 36: 1494–500.
4. Gabrino J, Rohner P, Kolarova L, Ondrusova A, Lew D. Successful treatment of pulmonary invasive Aspergillosis with voriconazole in patient who failed conventional therapy. Infection 2003; 31: 241–3.
5. Zver S. Invazivne glivične okužbe – naše izkušnje pri diagnostiki in zdravljenju. Med Razgl 2000; 39: Suppl 5: 213–20.
6. Stevens DA. Diagnosis of fungal infections: current status. J Antimicrob Chemother 2002; 49: Suppl 1: 11–9.
7. Andriole VT. *Aspergillus* infection: problems in diagnosis and treatment. Infect Agents Dis 1996; 5: 47–54.
8. Becker MJ, Marie SD, Willemse D, Verbrugh HA, Woudenberg IB. Quantitative galactomannan detection is superior to PCR in diagnosis and monitoring invasive pulmonary Aspergillosis in an experimental rat model. J Clin Microbiol 2000; 38: 1434–8.
9. Maertens J, Verhaegen J, Lagrou K, Van Eldere J, Boogaerts M. Screening for circulation galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patient and stem cell transplantation recipients: a prospective validation. Blood 2001; 97: Suppl 6: 1604–10.
10. Alexander BD. Diagnosis of fungal infection: new technologies for mycology laboratory. Transpl Infect Dis 2002; 3: 32–7.
11. Caillot D, Mannone L, Cuisenier B, Couaillier JF. Role of early diagnosis and aggressive surgery in the management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients. Clin Microbiol Infect 2001; 7: Suppl 2: 54–61.
12. Maschmeyer G, Beinert T, Buchheidt D et al. Diagnosis and antimicrobial therapy of pulmonary infiltrates in fibrile neutropenic patients – guidelines of the infectious diseases working party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). Ann Hematol 2003; 82: Suppl 2: 118–26.
13. Matos T. Oportunistične glive. In: Gubina M, Ihan A eds. Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. 1st ed. Ljubljana: Medicinski razgledi, 2002: 481–99.
14. Morris G, Kokki MH, Anderson K, Richardson MD. Sampling of *Aspergillus* spores in air. J Hosp Infect 2000; 44: 81–92.
15. Flannigan B, Miller JD. Health implications of fungi in indoor environments – an overview. In: Samson RA, Flannigan B, Flannigan ME, Verhoef AP, Adan OCG, Hoekstra ES eds. Health implications of fungi in indoor environments. 1st ed. Vol. 2. Amsterdam: Elsevier, 1994: 3–28.

16. Richardson M, Ylikoski J, Meri T. The effective prevention of systemic fungal infection: precluding the risk of environmental exposure. URL: www.mobi-air.info
 17. Thio CL, Smith D, Merz WG et al. Refinements of environmental assesment during an outbreak investigation of invasive aspergillosis in a leukemia and bone marrow transplantant unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21: 18–23.
 18. Engelhart S, Hanfland J, Glasmacher A, Krizek L, Schmidt-Wolf IGH, Exner M. Impact of portable air filtration units on exposure of hematology-oncology patients to airborne *Aspergillus fumigatus* spores under field conditions. *J Hosp Infect* 2003; 54: 300–4.
 19. Hoffman PN, Bennet AM, Scott GM. Controlling airborne infections. *J Hosp Infect* 1999; 43: 203–10.
 20. Lutz BD, Jin J, Rinaldi MG, Wickes BL, Huycke MM. Outbreak of Invasive *Aspergillus* Infection in Surgical Patients, Asociated with a Contaminated Air-Handling System. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 786–93.
 21. Bouza E, Pelaez T, Perz-Molina J et al. Demolition of hospital building by controlled explosion: the impact on filamentous fungal load in internal and external air. *J Hosp Infect* 2002; 52: 234–42.
-