

Vrstna raznolikost in koncentracije plesni v zraku bolnišničnega in zunanjega okolja

Species diversity and concentration of moulds in air samples from hospital indoor and outdoor environment

Tadeja Matos, Tanja Kavčič

Inštitut za mikrobiologijo
in imunologijo,
Medicinska fakulteta v
Ljubljani

Korespondenca/ Correspondence:

Asist. dr. Tadeja Matos,
dr. med. spec. klin.
mikrobiol.
Inštitut za mikrobiologijo
in imunologijo,
Medicinska fakulteta v
Ljubljani, Zaloška 4, 1000
Ljubljana, tel.: 01-543-
74-22, mobi: 041 756 223
e-mail: tadeja.matos@
mf.uni-lj.si

Ključne besede:

vzorčenje zraka,
Aspergillus spp., zunanje
okolje, gradbena dela,
bivalno okolje

Key words:

air sampling,
Aspergillus spp.,
outdoor environment,
construction work, indoor
environment

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2010;
79: 117-126

Prispelo: 10. jul. 2009,
Sprejeto: 18. dec. 2009

Izvleček

Izhodišča: Za preprečevanje nastanka okužb je poleg preventivnega zdravljenja pomembno tudi zagotavljanje ustreznega bivalnega okolja bolnikov v času, ko so ti še posebej ogroženi. V naši raziskavi smo želeli opredeliti koncentracije in spekter plesni v različnih okoljih v bolnišnici in v njeni neposredni okolici. Hkrati smo skušali opredeliti tudi primernost treh različnih gojišč za vzorčenje zraka.

Metode: Od oktobra 2007 do marca 2008 smo vzorčili zrak na dveh gradbiščih v neposredni bližini Univerzitetnega kliničnega centra (UKC) in v zunanjem okolju brez gradbenih del, na običajnem bolnišničnem oddelku in v enoti za intenzivno zdravljenje UKC. Po končanem vzorčenju smo identificirali kolonije plesni, ki so zrasle, in opredelili koncentracijo spor plesni v zraku.

Rezultati: Najvišje koncentracije plesni ter največjo raznolikost smo določili ob uporabi gojišča po Sabouraudu (SABA) in krompirjevega agarja (PDA). Povprečne koncentracije plesni na gojišču po Czapku (CZ) so bile statistično značilno nižje v primerjavi s PDA in SABA ($p = 0,001$). Koncentracije plesni so se v zunanjem okolju gibale od 22,8 do 164,9 CFU/m³, v bolnišničnem od 1,0 do 21,1 CFU/m³, kar je bila statistično značilna razlika ($p = 0,001$). Povprečna koncentracija spor na bolnišničnem oddelku (8,6 CFU/m³) ni bila statistično značilno različna od povprečne koncentracije spor v enoti za intenzivno zdravljenje (3,3 CFU/m³) ($p = 0,113$). Povprečna koncentracija *Aspergillus* spp. je bila v zunanjem okolju (25,3 CFU/m³) stati-

stično značilno višja od povprečne koncentracije v bolnišničnem okolju (4,1 CFU/m³) ($p = 0,001$). Spore *Aspergillus* spp. so v zraku zunanjega okolja predstavljale 30-odstotni delež, v bolnišničnem se je ta gibal med 22,2 in 50 %.

Zaključki: V raziskavi smo ugotovili statistično pomembne razlike med povprečno koncentracijo plesni v bolnišničnem in zunanjem okolju ($p = 0,001$). Koncentracije *Aspergillus* spp. so se v zunanjem zraku gibale od 5,9 do 45,2 CFU/m³. Povprečne koncentracije plesni so skoraj v vseh prostorih enote za intenzivno zdravljenje presegale priporočene vrednosti. Koncentracije spor *Aspergillus* spp. so se gibale od 1,0 do 5,4 CFU/m³.

Abstract

Background: Prophylactic antifungal treatments as well as an appropriate protective environment are essential for prevention of invasive fungal infections in the immunocompromised patients. The aim of our study was to determine the species and concentrations of airborne moulds in various hospital indoor environments as well as the immediate outdoor environment. We have also tested three different growth media in an attempt to establish which one is the most appropriate for air sampling.

Methods: Between October 2007 and March 2008 air samples have been collected from two construction sites at UMC Ljubljana and the immediate outdoor environment with no construction works as well as in a regular hospital ward and an ICU of UMC Ljubljana. The recovered moulds were then identified

and concentration of spores in the air calculated.

Results: The highest concentration of moulds and the greatest number of genera were cultured using the Sabouraud agar (SABA) and potatoe dextrose agar (PDA). The average concentration of moulds on Czapek agar was significantly lower than on PDA in SABA ($p = 0,001$). The concentration of moulds in the outdoor air was between 22,8 and 164,9 CFU/m³, which was significantly higher than in the hospital indoor environment—between 1,0 and 21,1 CFU/m³ ($p = 0,001$). The average concentration of moulds in the regular ward (8,6 CFU/m³) did not differ significantly from ICU environment (3,3 CFU/m³) ($p = 0,113$). The average concentration of *Aspergillus* spp. in the outdoor air (25,3 CFU/m³) was

significantly higher than the average concentration in the hospital environment (4,1 CFU/m³) ($p = 0,001$). *Aspergillus* spp. spores represented 30% of isolated species in the outdoor environment, while in the hospital indoor environment *Aspergillus* spp. represented 22,2 to 50% of the isolated species.

Conclusions: Our study has shown statistically significant differences in average mould concentration in hospital and outdoor environment ($p = 0,001$). The concentration of *Aspergillus* spp. spores in the outdoor air was between 5,9 and 45,2 CFU/m³. The average concentration of moulds in a large majority of ICU rooms exceeded the recommended values. The concentration of *Aspergillus* spp. spores was between 1,0 and 5,4 CFU/m³.

Uvod

Incidenca oportunističnih glivičnih okužb v zadnjih desetletjih narašča, saj narašča populacija bolnikov z večjim tveganjem za nastanek teh okužb. Mednje sodijo predvsem bolniki po presaditvah krvotvornih matičnih celic in čvrstih organov, bolniki s hematološkimi in drugimi malignimi obolenji, bolniki na imunosupresivnem zdravljenju in kritično bolni v intenzivnih enotah. Čeprav spekter povzročiteljev glivičnih okužb nenehno narašča, med najpomembnejše še vedno sodijo vrste iz rodov *Candida* in *Aspergillus*. Okužbe s *Candida* spp. so se precej zmanjšale, prav tako umrljivost ob ustreznem preventivnem zdravljenju jasno opredeljenih skupin bolnikov.¹⁻³ Za zmanjševanje okužb s plesnimi *Aspergillus* pri imunsko oslabljenih osebah pa je poleg preventivnega zdravljenja pomembno tudi zagotavljanje ustreznega bivalnega okolja bolnikov v času, ko so ti še posebej ogroženi. Aspergiloza je namreč eksogeno pridobljena okužba in okolje, v katerem se bolnik nahaja, je zelo pomemben dejavnik za razvoj bolezni.⁴ Na koncentracijo spor v zraku vplivajo temperatura okolja, vlažnost, vetrovnost in številni drugi dejavniki.⁵ Gradbena in prenovitvena dela naj bi še posebej povečala koncentracijo spor *Aspergillus* spp. v zraku.⁶⁻⁸

V naši raziskavi smo želeli opredeliti spekter in koncentracijo plesni v zraku grad-

bišča, bližnjega zunanega okolja brez gradbenih del in bolnišničnega okolja. Primerjali smo koncentracije in vrstno raznolikost plesni na običajnem bolnišničnem oddelku in v enoti za intenzivno zdravljenje. Hkrati smo skušali opredeliti tudi primernost treh različnih gojišč za vzorčenje zraka.

Material in metode

Vzorčenje zraka

Od oktobra 2007 do marca 2008 smo z vzorčevalnikom zraka (*angl.* Surface air system, SAS, Cherwell Laboratories, Bicester, Velika Britanija) vzorčili zrak v bolnišničnem okolju UKC v Ljubljani, na običajnem bolnišničnem oddelku in v enoti za intenzivno zdravljenje. Zrak smo vzorčili v bolniških sobah, kopalnicah, na hodnikih pred sobami, v prostorih za pripravo infuzij ter pomivalnicah. Za vzorčenje na gradbenem področju smo izbrali gradbišče nove Pediatrične klinike ter gradbišče novega Urgentnega bloka UKC. Za mesta vzorčenja, ki smo jih opredelili kot negradbeno področje, smo izbrali prostor pred vhodom v UKC, vhod v Ginekološko kliniko ter park Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo.

Zrak smo pri vsakem vzorčenju vzorčili dvakrat zaporedoma na Rodac plošče. Uporabili smo gojišče po Sabouraudu (SABA),

Tabela. 1: Spekter in povprečne koncentracije posamezne vrste plesni (CFU/m³) na različnih gojiščih.

Vrsta plesni	PDA	SABA	CZA
<i>Acremonium</i> spp.	8,3	7,6	2,0
<i>Alternaria</i> spp.	16,7	6,2	13,5
<i>Aspergillus flavus</i>	6,0	22,6	1,0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	15,7	11,4	2,4
<i>Aspergillus nidulans</i>	16,7	12,2	1,6
<i>Aspergillus niger</i>	39,3	4,8	2,6
<i>Aspergillus</i> spp.	0	2,9	1,6
<i>Aspergillus terreus</i>	9,5	0	0
<i>Aspergillus versicolor</i>	0	0	2,4
<i>Aureobasidium pullulans</i>	19,1	3,6	1,3
<i>Beauveria</i> spp.	0	0	1,0
<i>Cladosporium</i> spp.	17,4	18,4	2,1
<i>Chrysonilla</i> spp.	2,4	2,4	2,4
<i>Fusarium</i> spp.	0	1,0	1,0
<i>Geotrichum</i> spp.	12,5	6,3	1,8
<i>Madurella</i> spp.	4,8	0	0
<i>Monillia</i> spp.	0	0	4,9
<i>Mycelia sterila</i>	0	2,9	1,5
<i>Paecilomyces</i> spp.	6,4	9,6	1,0
<i>Penicillium</i> spp.	21,1	23,9	14,0
<i>Stachybotrys</i> spp.	0	4,8	0
<i>Trichoderma</i> spp.	16,7	10,3	0
<i>Trichophyton</i> spp.	2,4	7,1	0
<i>Verticillium</i> spp.	11,9	7,1	0
povprečno	13,3	8,7	3,2

PDA : krompirjev agar; SABA: gojišče po Sabouraudu; CZA: gojišče po Czapku;

gojišče po Czapku (CZA) in krompirjev agar (*angl.* Potato dextrose agar, PDA). Volumen vzorčenega zraka smo določili z večkratnim poskusnim vzorčenjem zraka po metodi poskusa in napake.

Mikrobiološka obravnava

Po končanem vzorčenju smo Rodac plošče z gojišči zaprli s parafilmom in jih in-

kubirali 48 ur pri sobni temperaturi. Plošče smo dnevno pregledovali ter določali število zraslih kolonij. Število kolonij na posamezni plošči smo izrazili kot koncentracijo spor plesni na volumsko enoto zraka oz. CFU (*angl.* colony forming units) na m³ (CFU/m³), ki smo jo določili s formulo in korekcijskimi tabelami po priporočilih proizvajalca vzorčevalnika.⁹

Po 48 urah smo zrasle kolonije precepili na gojišče SABA in jih inkubirali pri 30 °C. Identifikacija kolonij je potekala po dihoto-mnem ključu z makroskopsko analizo kultur in s prepoznavanjem značilnih morfoloških struktur v mikroskopskem preparatu. Preparate smo pripravili s samolepilnim trakom in jih obarvali s kapljico modrila (*angl.* Lactophenol-Cotton Blue). Tako pripravljene preparate smo pregledovali pri 400- in 1000-kratni povečavi. Kolonije, ki so na SABA slabo rasle ali jih nismo uspeli identificirati, smo precepili na CZA ali gojišče z ovsenimi kosmiči (*angl.* Oatmeal agar, OA). Ti pospešujeta konidiogenezo plesni, ki je osnova mikroskopske identifikacije.

Statistična analiza

Statistično analizo podatkov smo naredili s testom t, s katerim ugotavljamo razliko med povprečjema dveh majhnih neodvisnih vzorcev. Pred testom t smo potrdili homogenost varianc obeh vzorčenih skupin s testom F. Za statistično značilno povezanost med dvema spremenljivkama smo upoštevali vrednost $p < 0,05$. Statistično smo primerjali koncentracije plesni v različnih okoljih, koncentracije plesni med bolnišničnim oddelkom in enoto za intenzivno zdravljenje ter koncentracije plesni glede na uporabnost različnih gojišč za primarno osamitev plesni.

Rezultati

Opredelitev volumnov vzorčenja zraka in primerjava Rodac plošč z različnimi gojišči

Kot najustreznejša količina vzorčenega zraka je bila v bolnišničnem okolju opredeljena prostornina 1020 litrov na Rodac ploščo, na gradbenem in ne gradbenem področju pa 420 litrov na Rodac ploščo.

Na raznolikost in koncentracijo plesni je vplivala vrsta izbranega gojišča. Na vseh teh izbranih gojiščih smo opravili 32 vzorčenj zraka. Najvišje koncentracije plesni ter največjo raznolikost smo določili ob uporabi gojišč SABA in PDA. Povprečne koncentracije plesni na CZ so bile statistično značilno nižje od koncentracij na PDA in

SABA ($p = 0,001$). Ob primerjavi povprečnih koncentracij plesni, osamljenih na SABA in PDA, nismo ugotovili statistično značilnih razlik ($p = 0,214$). Tabela 1 prikazuje vrstno raznolikost in povprečne koncentracije posameznih vrst plesni na različnih gojiščih.

Primerjava med koncentracijo spor plesni v zraku bolnišničnega in zunanjega okolja

V času od oktobra 2007 do marca 2008 smo opravili 17 vzorčenj zraka v bolnišničnem okolju, 10 vzorčenj na gradbiščih in 5 vzorčenj v zunanjem okolju brez gradbenih del. Koncentracije plesni so se v zunanjem okolju gibale od 22,8 do 164,9 CFU/m³, v bolnišničnem od 1,0 do 21,1 CFU/m³. S testom t smo potrdili, da je bila povprečna koncentracija spor v bolnišničnem okolju statistično značilno nižja od povprečne koncentracije spor v zunanjem okolju ($p = 0,001$) (Tabela 2). Povprečna koncentracija plesni je bila najvišja na gradbiščih (106,9 CFU/m³) in najnižja v enoti za intenzivno zdravljenje (1,5 CFU/m³). Med povprečno koncentracijo plesni v zunanjem zraku, kjer gradbena dela niso potekala, in zraku na gradbiščih nismo ugotovili statistično pomembnih razlik ($p = 0,287$). V bolnišničnem okolju smo najvišje koncentracije plesni izmerili na običajnem bolniškem oddelku. Povprečna koncentracija plesni na tem oddelku (8,6 CFU/m³) ni bila statistično značilno različna od povprečne koncentracije spor v enoti za intenzivno zdravljenje (3,3 CFU/m³) ($p = 0,113$).

Koncentracija spor *Aspergillus* spp. je bila najvišja v zunanjem okolju na področju gradbišč (35,4 CFU/m³), najnižja v enoti za intenzivno zdravljenje (2,0 CFU/m³). Tudi povprečna koncentracija *Aspergillus* spp. je bila v zunanjem okolju (25,3 CFU/m³) statistično značilno višja od povprečne koncentracije v bolnišničnem okolju (4,1 CFU/m³) (Tabela 3). Spore *Aspergillus* spp. so v zraku zunanjega okolja predstavljale 30-odstotni delež vseh osamljenih plesni, v bolnišničnem se je ta gibal med 22,2 in 50 % (Tabela 2).

Med vrstami *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. nidulans* in *A. flavus*, ki smo jih osamili iz bolnišničnega okolja, se je v najvišjih koncentracijah pojavljala vrsta *A. fumigatus*

Tabela. 2: Pregled osamljenih plesni in *Aspergillus* spp. (CFU/m³) iz vzorcev zraka iz bolnišničnega in zunanjega okolja.

Mesto vzorčenja	Področje	Število vzorčenj	Povprečje (rang) za vse plesni (CFU/m ³)	Povprečje (rang) <i>Aspergillus</i> spp. (CFU/m ³)	Delež pozitivnih vzorcev za <i>Aspergillus</i> spp. (%)	Delež <i>Aspergillus</i> spp. glede na vse osamljene plesni (%)
Bolnišnični oddelek	bolniške sobe	7	9,0 (2,0–21,1)	5,6 (2,0–9,8)	41,7	36,4
	zunaj bolniških sob	4	8,2 (2,0–10,8)	6,5 (4,4–8,8)	59,1	41,7
Enota za intenzivno zdravljenje	bolniške sobe	4	5,0 (1,30–7,8)	2,8 (1,0–5,4)	33,3	22,2
	zunaj bolniških sob	2	1,5 (1,0–2,0)	2,0	50,0	50,0
Zunanje okolje	gradbeno področje	10	106,9 (61,9–164,9)	35,4 (26,2–45,2)	21,4	25,0
	negradbeno področje	5	69,8 (22,8–111,9)	15,2 (5,9–25,0)	26,1	26,7
Bolnišnično okolje		17	5,3 (1,0–21,1)	4,1 (1–8,8)	46,4	29,4
Zunanje okolje		15	88,4 (22,8–164,9)	25,3 (5,9–45,2)	23,1	30,0

(3,3 CFU/m³). V zunanjem okolju smo določili najvišje povprečne koncentracije za plesen *A. niger* (35,3 CFU/m³). *A. terreus* in *A. versicolor* smo osamili samo iz zraka zunanjega okolja. Koncentracije spor *A. fumigatus* so bile statistično značilno višje v zunanjem kakor v bolnišničnem okolju ($p = 0,004$), koncentracije plesni *A. niger*, *A. flavus* in *A. nidulans* pa se statistično niso razlikovale med zunanjim in bolnišničnim okoljem (Tabela 3).

Z najvišjimi povprečnimi koncentracijami so se v vseh treh okoljih pojavljale plesni iz rodu *Aspergillus*. V bolnišničnem okolju mu sledita rodova *Monillia* in *Alternaria*, v zunanjem okolju pa *Penicillium*, *Cladosporium* in *Trichoderma* (Tabela 4 in Slika 1).

Razpravljanje

Vzorčenje zraka v bolnišničnih prostorih priporočajo, kadar pride do izbruha aspergiloze zato, da bi našli vir oziroma ugotavljali povišane koncentracije spor v zraku notranjih prostorov, pa tudi za ocenjevanje učinkovitosti filtracijskih in drugih sanitarno-higienskih ukrepov. Veliko raziskav, ki obravnavajo invazivno aspergilozo, je posledica raziskovanja možnih virov in načinov širjenja povzročiteljev ob že nastalih izbruhih invazivne aspergiloze. V preglednem članku so Vonberg in sodelavci analizirali objave 53 izbruhov invazivne aspergiloze

(458 bolnikov). Večina bolnikov, pri katerih se je razvila invazivna aspergiloza, je imelo potrjeno hematološko maligno bolezen (299 bolnikov). V skoraj polovici primerov so bila gradbena dela verjeten ali možen vir okužbe.¹⁰ V bolnišničnem okolju priporočajo vzorčenje najmanj 1000 litrov zraka na odvzemno mesto,¹¹ v naši raziskavi je bil volumen zraka, vzorčenega v bolnišničnem okolju 1020 litrov, v zunanjem okolju pa 420 litrov na odvzemno mesto. V zunanjem okolju smo vzorčili precej manjše volumne zraka, saj smo predpostavljali, da je v zunanjem zraku koncentracija plesni precej višja kot v notranjih prostorih. Če so volumni vzorčenega zraka v okolju z višjimi koncentracijami spor preveliki, lahko to vodi do preraščanja mikroorganizmov na Rodac plošči z gojiščem, kar onemogoča določitev števila kolonij plesni. Uporabili smo Rodac plošče z gojišči CZ, PDA in SABA z namenom, da bi opredelili najprimernejše gojišče za primarno osamitev plesni. S primerjavo različnih gojišč za osamitev plesni iz zraka so se ukvarjali že številni znanstveniki. Dobili so različne rezultate, med mediji se je za primernega največkrat izkazalo dichloranovo gojišče (*angl.* dichloran 18-odstotni glycerol agar, DG-18), ki zaradi vsebnosti dichlorana zavira rast hitro rastočih rodov in omogoča lažje štetje poraslih kolonij plesni.^{12–13} Za osamitev gliv in plesni priporočajo uporabo vsaj dveh različnih gojišč.¹⁴ V naši raziskavi smo s testom t po-

trdili, da je gojišče PDA enako primerno za osamitev plesni kot gojišče SABA ($p = 0,214$). CZA se uporablja v mikoloških laboratorijih predvsem za prepoznavanje značilne rasti kolonij *Aspergillus* spp. in ne za primarno osamitev.¹⁵ V naši raziskavi se to gojišče ni izkazalo kot primerno gojišče za primarno osamitev *Aspergillus* spp. iz zraka. Na njem smo namreč osamili nižje koncentracije plesni, vključno z *Aspergillus* spp., ter osamili tudi manjše število vrst plesni ($p = 0,001$) kot na drugih dveh gojiščih.

Zrak smo vzorčili na gradbišču nove Pediatrične bolnišnice in Urgentnega bloka UKC ter v zunanjem okolju, kjer gradbena dela niso potekala, tj. pred glavnim vhodom v UKC in na vrtu Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo. Želeli smo opredeliti spekter in koncentracijo plesni v navedenih okoljih in jih primerjati med seboj.

Domnevo, da bo koncentracija plesni najvišja na območju, kjer potekajo gradbena dela, smo potrdili, saj smo izmerili najvišje povprečne koncentracije plesni na gradbišču nove Pediatrične klinike in na gradbišču Urgentnega bloka UKC. Na gradbiščih, kjer so potekala aktivna gradbena dela, je bila povprečna koncentracija plesni $106,9 \text{ CFU/m}^3$, koncentracije so nihale od $61,9 \text{ CFU/m}^3$ do $164,9 \text{ CFU/m}^3$ (Tabela 2). V zunanjem okolju, kjer gradbena dela niso potekala, je bila povprečna koncentracija plesni $69,8 \text{ CFU/m}^3$, koncentracije pa so nihale od $22,8$ do $111,9 \text{ CFU/m}^3$ (Tabela 2). Rezultati so v skladu z opisanimi v literaturi. Znano je, da koncentracije v zunanjem zraku lahko precej nihajo (od 100 do nekaj 1000 CFU/m^3) zaradi vpliva klimatskih in geografskih značilnosti okolja, različnih tehnik vzorčenja, primarnih gojišč za osamitev gliv in temperatur inkubacij.¹⁶ V eni od raziskav so izmerili povprečno koncentracijo plesni v zunanjem okolju $257,8 \text{ CFU/m}^3$, kar je precej višje od meritev v naši raziskavi.⁶ Vzrok temu je vsaj delno povezan z nižjimi temperaturami zraka, saj smo vse meritve opravili pozno jeseni in pozimi, v omenjeni študiji pa so meritve potekale vse leto.⁶ Statistično pomembnih razlik med koncentracijo plesni v zunanjem zraku na gradbišču in v okolju brez gradbenih del nismo dokazali ($p = 0,287$). Vzrokov za takšen rezultat je lahko več. Mesta vzorčenja

zunanjega zraka brez gradbenih del so bila od gradbišč oddaljena okoli 800 m, kar ne izključuje popolnoma vpliva gradbenih del. V literaturi navajajo, da naj bi bila ta razdalja najmanj 1000 m.⁶ Na povišano koncentracijo je lahko vplivala tudi bližina vrtnarije s kompostom pred Inštitutom za mikrobiologijo in imunologijo, ki je bila v neposredni bližini mesta vzorčenja.

V zunanjem zraku smo najpogosteje osamili plesni iz rodov *Aspergillus* in *Penicillium*. *Aspergillus* spp. je bil prisoten na vseh področjih vzorčenja in v najvišjih koncentracijah, kar kaže na vseprisotnost te plesni. Spore *Aspergillus* spp. so v zraku zunanjega okolja predstavljale 30-odstotni delež. V literaturi navajajo, da koncentracije spor *Aspergillus* spp. v zunanjem okolju lahko močno nihajo, od 1,0 do $185,0 \text{ CFU/m}^3$.¹⁷⁻¹⁸ V naši raziskavi so se koncentracije *Aspergillus* spp. gibale od 5,9 do $45,2 \text{ CFU/m}^3$. Povprečne koncentracije *Aspergillus* spp. so bile najvišje na gradbišču $35,4 \text{ CFU/m}^3$, najnižje pa v bolnišničnem okolju $4,1 \text{ CFU/m}^3$, razlika pa je bila statistično značilna ($p = 0,001$). Statistično pomembno razliko v povprečni koncentraciji med zunanjim in bolnišničnim okoljem smo potrdili tudi za vrsto *A. fumigates* ($p = 0,004$) (Tabela 3).

V bolnišničnem okolju smo zrak vzorčili na običajnem bolnišničnem oddelku in v enoti za intenzivno zdravljenje UKC. Najvišje koncentracije v bolnišničnem okolju so dosegale plesni iz rodov *Aspergillus*, *Monillia*, *Alternaria* in *Cladosporium*. Tudi v drugih raziskavah poročajo o podobnem spektru osamljenih plesni iz notranjih bolnišničnih prostorov.¹⁹ V raziskavi Albertinija in sodelavcev so se v navadnih bolniških sobah povprečne koncentracije plesni gibale od 2,8 do $6,0 \text{ CFU/m}^3$, kar je primerljivo z našo raziskavo, v kateri je bila povprečna koncentracija $5,3 \text{ CFU/m}^3$ (1,0 do $21,1 \text{ CFU/m}^3$).²⁰ V sobah s filtri HEPA pa poročajo o koncentracijah spor, nižjih od $2,0 \text{ CFU/m}^3$.²⁰⁻²¹ S testom t smo potrdili statistično pomembne razlike med povprečno koncentracijo v bolnišničnem in zunanjem okolju ($p = 0,001$). Koncentracije plesni v zunanjem zraku so bile približno 14-krat višje kot v notranjih prostorih. V raziskavi, ki je potekala dve leti, so ugotovili, da se kljub precejšnjim

Tabela. 3: Povprečna koncentracija spor iz rodu *Aspergillus* v bolnišničnem in zunanjem okolju.

Mesto vzorčenja	Področje	Število vzorčenj	<i>Aspergillus</i> spp. (CFU/m ³)	<i>A. fumigatus</i> (CFU/m ³)	<i>A. niger</i> (CFU/m ³)	<i>A. flavus</i> (CFU/m ³)	<i>A. nidulans</i> (CFU/m ³)
Bolnišnični oddelek	bolniške sobe	7	5,6	3,2	2,7	1,0	2,0
	zunaj bolniških sob	4	6,5	2,8	0	2,9	1,0
Enota za intenzivno zdravljenje	bolniške sobe	4	2,8	5,4	0	0	1,5
	zunaj bolniških sob	2	2,0	2,0	0	0	0
Zunanje okolje	gradbeno področje	10	35,4	31,5	35,7	11,9	0
	negradbeno področje	5	15,2	6,5	0	16,7	7,1
Bolnišnično okolje		17	4,1	3,3	3,1	2,0	1,5
Zunanje okolje		15	25,3	19,0	35,3	14,3	4,3
p-vrednost (test t)			0,001	0,004	0,177	0,225	0,509

nihanjem koncentracij plesni v zunanjem zraku, ki so bile predvsem posledica klimatskih sprememb, razmerje koncentracij plesni v zunanjem in notranjem zraku ni bistveno spreminjalo. To govori v prid dejstvu, da koncentracije spor v zunanjem zraku posredno vplivajo na koncentracije v notranjih prostorih.¹⁹ V naši raziskavi smo vzorčenje izvajali v obdobju šestih mesecev, zato omejenega vpliva nismo uspeli ugotoviti.

V bolnišničnem okolju je bila koncentracija plesni na običajnem bolnišničnem oddelku višja od koncentracije plesni v enoti za intenzivno zdravljenje 8,6 vs. 3,3 CFU/m³ ($p = 0,113$). V času vzorčenja so bila okna v sobah bolnišničnega oddelka odprta, kar je tudi edini način zračenja sob in vpliva na povišano koncentracijo in raznolikost plesni v sobah. Povprečne koncentracije plesni so bile v sobah, preden smo odprli okna, 5,1 CFU/m³, pri odprtih oknih pa so povprečne koncentracije v sobah narastle na 14,4 CFU/m³. Nekaj dni pred vzorčenjem zraka so v teh prostorih potekala manjša gradbena dela na oddelku, kar je verjetno tudi vplivalo na višjo koncentracijo plesni. Na bolnišničnem oddelku je bila prisotna tudi večja raznolikost plesni glede na enoto za intenzivno zdravljenje. Plesni *Alternaria* spp., *Beauveria* spp., *Geotrichum* spp., *Monillia* spp. in *Trichoder-*

ma spp. smo osamili samo iz bolnišničnega oddelka. Vrsta *A. fumigatus* je bila prisotna tako na bolnišničnem oddelku kot tudi v enoti za intenzivno zdravljenje, vrsti *A. flavus* in *A. niger* pa samo na oddelku. Razlika v koncentracijah in vrstni raznolikosti plesni je najverjetneje posledica gradbenih del, ki so potekala znotraj bolnišničnega oddelka, in vdora plesni iz zunanjega zraka skozi odprta okna.

Daleč najpogostejše plesni, ki ogrožajo imunsko oslabiljene bolnike, izvirajo iz rodu *Aspergillus*. Meril ali normativov za najvišje dovoljene vrednosti spor *Aspergillus* spp. v zraku ni. Priporočajo, da naj bo koncentracija spor plesni v sobah, kjer so prisotni imunsko oslabiljeni z velikim tveganjem za nastanek invazivne aspergiloze, obvezno nižje od 5,0 CFU/m³, nekateri pa priporočajo celo koncentracijo, nižjo od 1,0 CFU/m³, saj za okužbo imunsko oslabiljenih zadošča že koncentracija 1,0–3,0 CFU/m³. Znano je, da se tveganje za invazivno aspergilozo pri imunsko oslabiljenih bolnikih poveča, če je povprečna koncentracija spor *Aspergillus* spp. večja od 0,9 CFU/m³.^{18,20,22}

V enoti za intenzivno zdravljenje UKC se zdravijo tudi imunsko oslabiljeni bolniki in bolniki po presaditvi čvrstih organov. V naši raziskavi so povprečne koncentracije plesni

Tabela. 4: Povprečne koncentracije plesni (CFU/m³), osamljene v zraku bolnišničnega okolja, zunanjega okolja in gradbišča.

Vrsta plesni	Bolnišnično okolje	Zunanje okolje	Gradbišče
<i>Acremonium</i> spp.	1,5	6,2	14,3
<i>Alternaria</i> spp.	4,3	1,0	11,6
<i>Aspergillus flavus</i>	1,0	16,7	11,9
<i>Aspergillus fumigatus</i>	3,1	5,7	31,4
<i>Aspergillus nidulans</i>	1,5	7,9	0
<i>Aspergillus niger</i>	3,9	0	35,7
<i>Aspergillus</i> spp.	1,7	0	0
<i>Aspergillus terreus</i>	0	9,5	0
<i>Aspergillus versicolor</i>	0	0	2,4
<i>Aureobasidium pullulans</i>	1,3	2,9	10,7
<i>Beauveria</i> spp.	1,0	0	0
<i>Cladosporium</i> spp.	2,0	9,4	24,3
<i>Chrysosporium</i> spp.	0	0	2,4
<i>Fusarium</i> spp.	1,0	0	0
<i>Geotrichum</i> spp.	1,0	11,2	7,5
<i>Madurella</i> spp.	0	0	4,8
<i>Monillia</i> spp.	4,9	0	0
<i>Mycelia sterila</i>	2,0	2,0	0
<i>Paecilomyces</i> spp.	1,0	11,4	7,6
<i>Penicillium</i> spp.	1,6	26,7	25,1
<i>Stachybotrys</i> spp.	0	0	4,8
<i>Trichoderma</i> spp.	1,5	16,7	19,1
<i>Trichophyton</i> spp.	0	5,6	2,4
<i>Verticillium</i> spp.	0	9,5	0

skoraj v vseh prostorih enote za intenzivno zdravljenje presegale priporočene vrednosti. Koncentracije spor *Aspergillus* spp. so se gibale od 1,0 do 5,4 CFU/m³.

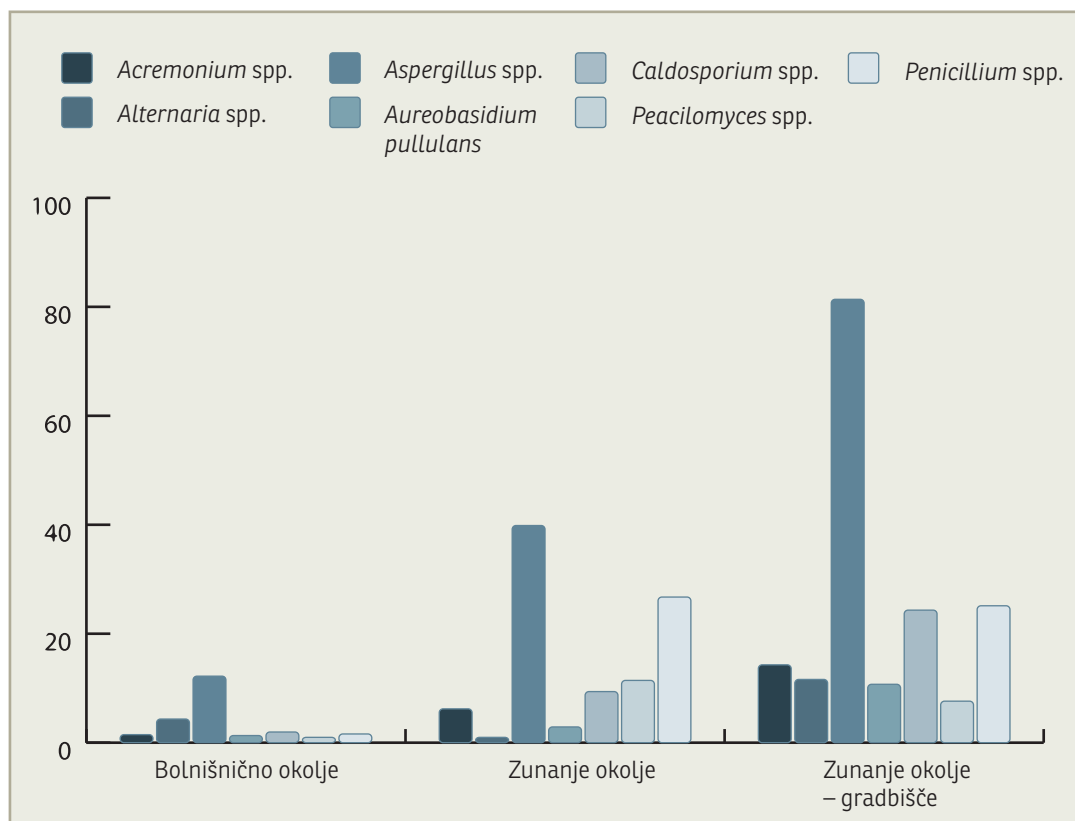
Invazivna pljučna aspergiloza v prvi vrsti ogroža bolnikovo življenje. Diagnostični postopki so težavni za bolnika, interpretacija rezultatov je zapletena, zdravljenje je dolgotrajno in drago in se v mnogih primerih konča s smrtjo. Prav zato je ključnega pomena preprečiti možnost nastanka okužb z zagotavljanjem ustreznega bivalnega okolja bolni-

kov, ko so ti najbolj ogroženi, in usmerjeno preventivno zdravljenje z antimikotiki pri skupinah bolnikov, pri katerih se je takšno zdravljenje pokazalo kot smotno.

Zaključki

Na gradbiščih, kjer so potekala aktivna gradbena dela, je bila povprečna koncentracija plesni 106,9 CFU/m³, koncentracije pa so nihale od 61,9 CFU/m³ do 164,9 CFU/m³. V zunanem okolju, kjer gradbena dela niso po-

Slika 1: Povprečna koncentracija najpogostejše osamljene plesni (CFU/m³) na različnih področjih.



tekala, je bila povprečna koncentracija plesni nekoliko nižja, 69,8 CFU/m³, koncentracije pa so nihale od 22,8 do 111,9 CFU/m³. Rezultati so v skladu z opisanimi v literaturi. Statistično značilnih razlik med obema okoljema nismo dokazali. V zunanjem zraku smo najpogostejše osamili plesni iz rodov *Aspergillus* in *Penicillium*. Koncentracije *Aspergillus* spp. so se gibale od 5,9 do 45,2 CFU/m³.

Povprečna koncentracija spor plesni v bolnišničnem okolju je bila 5,3 CFU/m³, vrednosti so nihale od 1,0 CFU/m³ do 21,1 CFU/m³. Najvišje koncentracije v bolnišničnem okolju so dosegale plesni iz rodov *Aspergillus*, *Monilia*, *Alternaria* in *Cladosporium*. V bolnišničnem okolju je bila koncentracija plesni na običajnem bolnišničnem oddelku višja od koncentracije plesni v enoti za intenzivno zdravljenje 8,6 vs. 3,3 CFU/m³ ($p = 0,113$). Na bolnišničnem oddelku je bila prisotna tudi večja raznolikost plesni glede na enoto za intenzivno zdravljenje. Razlika v koncentracijah in vrstni raznolikosti plesni je najverjetneje posledica gradbenih del, ki so potekala znotraj bolnišničnega oddelka in vdora plesni iz zunanjega zraka skozi odprta okna.

V enoti za intenzivno zdravljenje UKC se zdravijo tudi imunsko oslabljeni bolniki in bolniki po presaditvi čvrstih organov. V naši raziskavi so povprečne koncentracije plesni skoraj v vseh prostorih enote za intenzivno zdravljenje presegale priporočene vrednosti. Koncentracije spor *Aspergillus* spp. so se gibale od 1,0 do 5,4 CFU/m³.

Literatura

1. Cornely OA, Böhme A, Buchheidt D, Einsele H, Heinz WJ, Karthaus M, et al. Primary prophylaxis of invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies. Recommendations of the Infectious Diseases Working Party of the German Society for Haematology and Oncology. *Haematologica* 2009; 94: 113–22.
2. Lehrnbecher T, Mousset S, Sörensen J, Böhme A. Current practice of antifungal prophylaxis and treatment in immunocompromised children and adults with malignancies: a single centre approach. *Mycoses* 2009; 52: 107–17.
3. Van Burik JA. Role of new antifungal agents in prophylaxis of mycoses in high risk patients. *Curr Opin Infect Dis* 2005; 18: 479–83.
4. Warris A, Verweij PE. Clinical implications of environmental sources for *Aspergillus*. *Med Mycol* 2005; 43 Suppl: 59–65.

5. Cooper E.E, O'Reilly MA, Dharmage SC. Influence of building construction work on *Aspergillus* infection in a hospital setting. *Infect Contr Hosp Epidemiol* 2003; 24: 472–6.
6. Curtis L, Cali S, Conroy L, Baker K, Ou CH, Hershow R, et al. *Aspergillus* surveillance project at a large tertiary-care hospital. *J Hosp Infect* 2005; 33: 188–96.
7. Pegues DA, Lasker BA, McNeil MM, Hamm PM, Lundal JL, Kubak BM. Cluster of cases of invasive aspergillosis in a transplant intensive care unit: evidence of person-to-person airborne transmission. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 412–6.
8. Panackal AA, Dahlman A, Keil KT, Peterson CL, Mascola L, Mirza S, et al. Outbreak of invasive aspergillosis among renal transplant recipients. *Transpl* 2002; 75: 1050–3.
9. Morris G, Kokki MH, Anderson K, Richardson MD. Sampling of *Aspergillus* spores in air. *J Hosp Infect* 2000; 44: 81–92.
10. Vonberg RP, Gastmeier P. Nosocomial aspergillosis in outbreak settings. *J Hosp Infect* 2006; 63: 246–54.
11. Thio CL, Smith D, Merz WG, Streifel AJ, Bova G, Gay L, et al. Refinements of environmental assessment during an outbreak investigation of invasive aspergillosis in a leukemia and bone marrow transplant unit. *Infect Contr Hosp Epidemiol* 2000; 21: 23–8.
12. Smid T, Schokkin E, Boleij JS, Heederik D. Enumeration of viable fungi in occupational environments: a comparison of samplers and media. *Am Ind Hyg Assoc A* 1989; 50: 235–9.
13. Vanhee LME, Nelis HJ, Coenye T. Enumeration of airborne bacteria and fungi using solid phase cytometry. *J Microbiol Meth* 2008; 72: 12–9.
14. Gams W, Hoekstra ES, Aproot A. CBS Course of Mycology. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelfcultures; 1998.
15. De Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figueras MJ. *Atlas of Clinical Fungi*. Utrecht, The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelfcultures/Reus, Spain: Universitat Rovira I Virgili; 2000.
16. Yang CY, Johanning E. Airborne Fungi and Mycotoxins. In: Hurst C, Crawford RL, Knudsen GR, McInerney MJ, Stetzenbach LD, eds. *Manual of Environmental Microbiology* 2nd ed. Washington: ASM Press; 2002: p. 839–52.
17. Warris A, Voss A, Verweij PE. Hospital sources of *Aspergillus* species: New routes of transmissions? *Revista Iberoamericana de Micología* 2001; 18: 156–62.
18. Richardson M, Ylikoski J, Meri T. The effective prevention of systemic fungal infection: precluding the risk of environmental exposure. 2003; Helsinki, MoBiAir diagnostic. Dosegljivo na: <http://www.mobiair.info/mhome-julki.htm>
19. Shelton BG, Kirkland KH, Flanders WD, Morris GK. Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *App Environ Microbiol* 2002; 68: 1743–53.
20. Alberti C, Bouakline A, Ribaud P, Lacroix C, Rousselot P, Leblanc T, et al. Relationship between environmental fungal contamination and the incidence of invasive aspergillosis in haematology patients. *J Hosp Infect* 2001; 48: 198–206.
21. Leenders AC, Belkum A, Behrendt M, Luijendijk A, Verbrugh H.A. Density and molecular epidemiology of *Aspergillus* in air and relationship to outbreaks of *Aspergillus* infection. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1752–7.
22. Perdelli F, Cristina ML, Sartini M, Spagnolo AM, Dallera M, Ottria G, et al. Fungal contamination in hospital environments. *Infect Contr Hosp Epidem* 2006; 27: 44–7.