

16

BANIČEVI DNEVI

Varnost v laboratoriju in zaščita
zdravstvenih delavcev pred okužbami



Sekcija za klinično mikrobiologijo
in bolnišnične okužbe



NACIONALNI LABORATORIJ ZA
ZDRAVJE, OKOLJE IN HRANO

16

BANIČEVI DNEVI

**Varnost v laboratoriju
in zaščita zdravstvenih delavcev pred okužbami**

Zbornik predavanj z recenzijo

Žalec, 21. november 2025

16. BANIČEVI DNEVI

Varnost v laboratoriju in zaščita zdravstvenih delavcev pred okužbami

Žalec, 21. november 2025

Zbornik predavanj z recenzijo

Urednica

izr. prof. dr. Tadeja Matos, dr. med.

Organizatorja

Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD
Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano

Strokovno znanstveni odbor

dr. Andrej Golle, dr. med.; izr. prof. dr. Tadeja Matos, dr. med.;
doc. dr. Polona Maver Vodičar, dr. med.; asist. Ivana Velimirovič, dr. med.

Organizacijski odbor

dr. Andrej Golle, dr. med.; Barbara Zdolšek, dr. med.; izr. prof. dr. Tadeja Matos, dr. med.;
doc. dr. Mateja Pirš, dr. med.; doc. dr. Polona Maver Vodičar, dr. med.

Recenzenti

prim. dr. Helena Ribič, dr. med.; dr. Tjaša Žohar Čretnik, dr. med.;
dr. Andrej Golle, dr. med.; mag. Veronika Križan-Hergouth, dr. med.;
Mateja Brecl Jakob, dr. med.; asist. dr. Julija Germ, dr. med.;
izr. prof. dr. Tadeja Matos, dr. med.; doc. dr. Anja Šterbenc Železnik, dr. med.;
Lea Knez, dr. med.; prof. dr. Eva Ružič-Sabljič, dr. med.;
doc. dr. Polona Maver Vodičar, dr. med.; doc. dr. Miša Korva, univ. dipl. mikr.

Lektorica za slovenski jezik

Bojana Maltarič, prof. slov.

Oblikovanje in prelom

Studio Signum, d. o. o.

Fotografija na naslovnici

Arhiv Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo UL MF

Izdala

Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo

Založila

Založba UL MF, Ljubljana, 2025

Spletna izdaja [PDF]

Dostopno na: <https://imi.si/meetings/16-banicevi-dnevi/>

DOI: <https://doi.org/10.66183/9789616454674>

Publikacija je brezplačna.



To delo je na voljo pod licenco Creative Commons Priznanje avtorstva-Nekomercialno 4.0 mednarodna licenca (CC BY-NC 4.0).

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili
v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani
COBISS.SI-ID 273763075
ISBN 978-961-6454-67-4 (PDF)

VSEBINA

Malovrh T. Zagotavljanje varnosti v mikrobiološkem laboratoriju – biovarnostni standardi	5
Velimirović I., Vodičar D., Zdolšek B. Brucelozna – laboratorijske okužbe in obvladovanje tveganj	11
Maver Vodičar P., Tasič T., Zdolšek B., Štrumbelj I. Tularemija; laboratorijske okužbe in obvladovanje tveganj	22
Germ J., Piber P., Rojnik A. <i>Neisseria meningitidis</i> – laboratorijske okužbe in obvladovanje tveganj	33
Korva M., Resman Rus K., Sagadin M. Vloga visoko varnostnih laboratorijev v mikrobiološki diagnostiki	40
Matos T., Trajkova Bostner M., Tomazin R. Delo z glivami v mikrobiološkem laboratoriju: kdaj so lahko nevarne?	49
Prosenc Trilar K., Ribič H. Ukrepi za zaščito zaposlenih v laboratoriju ob epidemiji respiratornih okužb ter izkušnje iz pandemij influence A(H1N1)pdm09 in SARS-CoV-2	58
Klemen Š., Truden S., Žolnir-Dovč M. Laboratorijsko delo s kužninami pri sumu na brucelozo	71
Svetina P., Megušar E. Preprečevanje okužb zdravstvenih delavcev pri delu s tuberkuloznimi bolniki	82
Gregorčič S., Fujs Komloš K., Kurent M. Obravnavanje incidenta v zdravstveni ustanovi in mikrobioloških laboratorijih	87
Mrvič T., Petrovec M. Okužbe z virusom gripe in SARS-CoV-2 pri zdravstvenih delavcih in njihovo preprečevanje	94
Mrvič T., Šterbenc Železnik A., Sočan M., Grmek Košnik I. Cepljenje zdravstvenih delavcev: obvezna in priporočena cepljenja v Sloveniji	100

Zagotavljanje varnosti v mikrobiološkem laboratoriju – biovarnostni standardi

Ensuring safety in the microbiology laboratory – biosafety standards

Tadej Malovrh¹

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: mikrobiološki laboratorij, zaščitna oprema, mikrobní agensi, standardi biovarnosti

Za zagotavljanje varnega dela v mikrobiološkem laboratoriju moramo obvladati elemente biovarnosti, ki jih vključimo v organizacijski in delovni proces laboratorija. V tehničnem in organizacijskem smislu se mikrobiološki laboratoriji razvrščajo v štiri stopnje biovarnosti, pri čemer vsaka zahteva nekoliko drugačen način dela, da se zanesljivo omejijo tveganja, ki izhajajo iz dela z mikrobnimi agensi.

ABSTRACT

KEY WORDS: microbiology laboratory, protective equipment, microbial agents, biosafety standards

To assure safe work in a microbiological laboratory, we must understand the elements of biosafety, which should be included in the organization and work process of the laboratory. In technical and organizational terms, microbiological laboratories are classified into four biosafety levels, with each level requiring specific way of working to reliably reduce the risks occurring from handling with microbial agents.

UVOD

Glede na opredelitev Svetovne zdravstvene organizacije (SZO, angl. *World Health Organisation, WHO*) je biovarnost strateški in celosten pristop k analizi ter obvladovanju ključnih tveganj za življenje in zdravje ljudi, živali ter rastlin in s tem povezanih nevarnosti za okolje (1). Pristop temelji na prepoznavanju kritičnih povezav med grožnjami in možnostjo njihovega širjenja znotraj področja ali med dejavnostmi, kar bi lahko imelo posledice za celoten sistem. Ta razmeroma zapletena definicija v laboratorijski praksi pomeni, da se moramo pri svojem delu zavedati (bioloških) nevarnosti, ki nam ob neustreznem delu grozijo in bi lahko imele ob nepravilnem pristopu, reakcijah ali ukrepih neželene posledice za okolje. Na področju biovarnosti upoštevamo tri osrednje angleške termine, *biosafety*, *biosecurity* in *biorisk management*, ki jih moramo seveda smiselno prevesti tudi v slovenski jezik (1). Do sedaj

¹ Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Gerbičeva 60
Korespondenca: tadej.malovrh@vf.uni-lj.si

uporabljeni prevodi teh terminov kažejo, da se nismo poglobljeno ukvarjali z njimi, zaznavamo pa tudi neenotnost med strokami, saj vsaka nekoliko drugače uporablja in povzema prevedeno terminologijo. Angleški izraz *biosafety* bi lahko prevedli kot biovarnost, za *biosecurity* pa bi morda lahko uporabili prevod biološka zaščita. Izvirna angleška termina imata sicer jasno definicijo, razlika v pomenu izrazov je razvidna, manj očitna je pomenska razlika med izrazi v slovenskem prevodu. V praksi nam morda bolj domače zveni izraz biovarnost, kot sinteza obeh angleških pojmov, npr. biovarnost v mikrobiološkem laboratoriju, kot pa »biološka zaščita« v mikrobiološkem laboratoriju. Tretji izraz, *biorisk management*, pa ustrezno prevedemo kot upravljanje z biološkim tveganjem; ta prevod se ujema tudi s samo definicijo pojma. Področje biovarnosti ni novo, že razmeroma dolgo je integrirano v kmetijstvu, ekologiji, kemiji, sintetični biologiji, eksobiologiji ter seveda v veterinarski in humani medicini. Na področju medicine je biovarnost vključena v delo z mikrobnimi agenci (MA) in delo s substancami, ki v organizmu povzročijo biološki (zdravilni) učinek (2). Varno delo v mikrobiološkem laboratoriju kot tudi zagotavljanje varnosti temelji na poznavanju, vključevanju in praktični izpeljavi različnih segmentov ali elementov področja biovarnosti, pri čemer se ti elementi smiselno vključujejo tudi v druga sorodna področja zunaj mikrobiološkega laboratorija (2).

VARNOST V MIKROBIOLOŠKEM LABORATORIJU

Dojemanje varnega dela v mikrobiološkem laboratoriju je pogosto samoumevno, temelji na pozitivnih izkušnjah in rutini, osnovni osebni zaščiti ter tehničnih pristopih za zadrževanje in vzdrževanje laboratorijskega okolja. Pristop se nekoliko spremeni v situacijah, ko se v laboratoriju zaposli nov delavec ali ko pridejo študenti zaradi različnih študijskih obveznosti, ki zahtevajo poznavanje ustroja laboratorija. Običajno se mora zadolženi strokovnjak zavzeti, da na kratko razloži pravila laboratorijskega okolja z vsemi tveganji in nevarnostmi, ki sledijo iz dela z mikroorganizmi. V razmeroma kratkem času se novemu delavcu ponudi vsa teorija, sledi pa pričakovanje praktične aplikacije v laboratorijskem okolju. Takšen pristop je že del aplikacije področja biovarnosti, ki se intenzivira in močno razširi ob izbruhu kužne bolezni, ko se mora mikrobiološki laboratorij prestrukturirati iz rutinskega, mirnodobnega ustroja delovanja v nevsakdanje aktiven laboratorij (3). V takšnih situacijah se povečujejo različna tveganja, ki lahko načnejo varno delo in zdravje delavcev kot tudi zagotavljanje ohranjanja laboratorijskega okolja. Povečano število vzorcev, dodatna administracija, fizična in psihična preobremenjenost delavcev, pojav novih sevov ali vrst MA, do skrajnosti izkoriščene kapacitete laboratorijske opreme kot tudi potreba po drugačni organiziranosti laboratorijskega dela in navsezadnje še pričakovanje širše javnosti lahko močno vplivajo na delovanje laboratorija. Tudi do stopnje, ko se zgodijo laboratorijske nesreče, ki se končajo z okužbo zaposlenih in izgubo integritete laboratorija.

BIOVARNOST

Eden ključnih elementov varnega dela v mikrobiološkem laboratoriju je upoštevanje načel biovarnosti. Termin biovarnost (angl. *biosafety*) se nanaša neposredno na ukrepe, ki so sprejeti ter vpeljani z namenom preprečevanja izgube integritete laboratorija zaradi nenamernega sproščanja bioloških agensov (BA), kot so MA, toksini, gensko spremenjeni organizmi ali celične linije, v okolje kot tudi za preprečevanje

izpostavljenosti ljudi (laboratorijskega osebja, raziskovalcev, študentov in javnosti), živali (npr. indikatorskih dovzetnih živali v bližini laboratorija) in okolja tem dejavnikom (3, 4). Biovarnost vključuje pripravo dokumentacije (vodila, standardni operativni postopki /SOP/), ki opredeljuje vse postopke in ravnanja v laboratoriju, vključno z opisom ravnanja v primeru laboratorijske nesreče, ravnanja z biološkim materialom in odpadki (3). V laboratoriju mora biti jasno in nedvoumno opisana potrebna osebna varovalna oprema in njena uporaba, prav tako mora biti opredeljeno področje laboratorija z vsemi tehničnimi in projektnimi zahtevami, ki morajo biti skladne s stopnjo biovarnosti laboratorija.

Drugi element, angl. *biosecurity*, ki ga manj ustrezno prevajamo tudi kot biološka zaščita, se nanaša na ukrepe za preprečevanje (načrtovane) zlorabe BA, ki bi jo izvedli nedosledni (neodgovorni) posamezniki ali zlonamerne skupine (bioterorizem). Večinoma vključuje fizične mehanizme za vzpostavitev ter vzdrževanje varnosti, kot so ukrepi za preprečevanje nepooblaščenega dostopa do BA, preprečevanje kraje, sabotaže ali nenamernega izpusta, kar na splošno pripomore k zmanjšanju tveganja (3). Ta del biovarnosti obsega dejavnosti od varnostnega pregleda in preverjanja preteklosti (potencialnega) novega osebja, preverjanja psihofizičnih sposobnosti do fizične kontrole in nadzora vstopa na območje laboratorija bodisi prek pooblaščenih oseb ali kamer, ustrezno alarmiranje, lahko tudi prepoznavanje obrazov z umetno inteligenco. Posebna pozornost je namenjena še administrativnim pristopom v primeru zaznanih nepravilnosti ob delu z BA, v primeru transporta, shranjevanja in uničevanja BA kot tudi načrtovanja njihove uporabe v raziskovalne namene, vključno z objavljanjem rezultatov raziskav, v katerih so razkrite določene informacije, ki bi lahko bile zlorabljene.

Celovit pristop k varnosti in zaščiti razumemo kot upravljanje z biološkimi tveganji (angl. *biorisk management*) in danes si težko predstavljamo varno delo v laboratoriju, če v obratovanje ne vključimo vsaj nekaterih prvin te dejavnosti (5). Gre za proces, s katerim mikrobiološki laboratoriji in drugi sorodni objekti združujejo biovarnost in biološko zaščito za nadzor ali omejevanje tveganj, povezanih z diagnostičnim delom ali ravnanjem (nenamernim in namernim), s shranjevanjem in z odstranjevanjem kot tudi z razširjanjem BA ali toksinov. Bistveni elementi procesa so priprava ocene tveganja, kjer moramo prepoznati potencialne nevarnosti, definirati ranljivosti, povezane z delom; proces vključuje izvajanje ukrepov za zmanjšanje teh tveganj, stalno usposabljanje in izobraževanje laboratorijskega osebja, redne varnostne preglede laboratorijskih zmogljivosti v tehničnem pogledu in simulacijske vaje laboratorijske nesreče ali izbruhov bolezni. Del procesa upravljanja je tudi razvoj načrtov za odzivanje na izredne razmere, načrt za odzivanje na izbruhe specifičnih kužnih bolezni in navsezadnje analiza stroškovne koristi vpeljanega procesa.

KLASIFIKACIJA MIKROBIOLOŠKIH LABORATORIJEV GLEDE NA STOPNJO BIOVARNOSTI

Stopnja biovarnosti (angl. *biosafety level*, BSL) ali stopnja zaščite pred patogeni (angl. *Pathogen/Protection Level*, P) je niz previdnostnih ukrepov za ohranjanje biološke integritete, ki so potrebni za delo z nevarnimi BA v zaprtem laboratoriju (okolju). Ob vstopu v laboratorijske prostore zato večinoma na vidnem mestu (vrata) opazimo mednarodno dogovorjen znak za biološko nevarnost. Poznamo štiri biovarnostne stopnje organizacije in delovanja laboratorijev, BSL-1 (P1), BSL-2 (P2), BSL-3 (P3)

in BSL-4 (P4). Vsaka stopnja ima specifične tehnične in organizacijske rešitve glede na primarna tveganja, ki določajo ravni ohranjanja biološke integritete (1, 3, 4). Temeljijo večinoma na lastnostih MA, kot so nalezljivost, resnost bolezni, ki jo povzročijo, dostopna preventiva in zdravstveno varstvo. Za določitev potrebne ravni BSL se orientiramo po eni izmed razvrstitev MA, npr. razvrstitev MA po skupinah tveganja Svetovne zdravstvene organizacije (angl. *WHO Classification of infective microorganisms by risk group*), ki jih glede na njihove lastnosti in zdravstveno tveganje razvršča v štiri skupine. Na področju veterinarske medicine se odločitev o izbiri stopnje BSL dopolnjuje še z ekonomskim vplivom, ki ga ima določena bolezen na dovzetno živalsko populacijo (5).

STOPNJA BIOVARNOSTI 1 (BSL-1)

To je osnovna stopnja delovanja laboratorija, na kateri osebje dela z MA, kjer je tveganje za okužbe pri zdravih posameznikih ničelno ali nizko. Laboratorija ni treba izolirati od okoliških prostorov ali objektov, izvaja se dejavnosti, ki zahtevajo le standardne mikrobiološke prakse. Delo poteka na laboratorijskih pultih, z uporabo standardne osebne zaščite, kot je halja, ob delu z vzorci uporabljamo rokavice, po zaključku dela razkužimo delovne površine in roke. V primeru razlitja MA ali druge nesreče je potrebna takojšnja dekontaminacija površine. Okuženi materiali se pred odstranjevanjem dekontaminirajo, običajno z uporabo avtoklava. V tehničnem pogledu mora imeti laboratorij neporozne delovne površine, ki prenesajo razkuževanje, prav tako morajo biti tla in stene obdelani z materiali, ki omogočajo mokro čiščenje in razkuževanje. Stiki površin naj bi bili obdelani z zaokrožnicami. Na voljo mora biti umivalnik za umivanje rok in dostop do laboratorija skozi vrata, ki ločujejo delovni prostor od preostalega dela objekta.

STOPNJA BIOVARNOSTI 2 (BSL-2)

Ta stopnja biovarnosti se uporablja pri delu z MA, povezanimi s človeškimi ali živalskimi boleznimi, ki predstavljajo zmerno tveganje za zdravje. Laboratoriji BSL-2 načeloma vzdržujejo enake standarde dela kot osnovna stopnja biovarnosti, z dopolnitvami, ki zmanjšujejo pričakovana tveganja. Dostop do laboratorija je bolj nadzorovan kot pri BSL-1, vstopajo lahko le pooblaščen sodelavci, zunanjemu osebju, imunsko oslabiljenim in drugim osebam s povečanim tveganjem za okužbo se lahko po presoji vodje laboratorija vstop zavrne. V laboratorij se vstopa skozi dvojna vrata z medprostorom, kjer se osebje preobleče in zamenja obutev. Tehnične rešitve v laboratoriju vključujejo kontrolirano prezračevanje, po možnosti blindirana okna, talne, stenske in stropne površine morajo biti obdelane z definiranimi materiali, ki omogočajo pranje in razkuževanje, v laboratoriju se za delo glede na potrebe uporabljajo izolacijske komore (angl. *biosafety cabinets*, BSCs). Ves biološki material se mora preverjeno učinkovito dekontaminirati (avtoklaviranje). Dodatna osebna varovalna oprema se lahko uporablja pri specifičnih delih na podlagi analize tveganja.

STOPNJA BIOVARNOSTI 3 (BSL-3)

Logično stopnjevanje biovarnosti vključuje organizacijo in tehnične značilnosti laboratorijev BSL-3, kjer se dela z MA, ki se večinoma prenašajo aerogeno in povzročajo resna, potencialno smrtna obolenja pri ljudeh, v veterinarski medicini pa to velja za MA, ki pri dovzetnih gostiteljih povzročajo tudi velike gospodarske izgube. Vstop v

laboratorij je ves čas strogo nadzorovan, osebje je posebej usposobljeno za svoje naloge in seznanjeno s tveganji. Mikrobiološke tehnike se izvajajo izbrano, poseben podarek je na visoki stopnji osebne varovalne opreme (rokavice, zaščita dihal in oči), delo poteka izključno v izolacijskih komorah, ves izstopni material iz laboratorija se mora dosledno dekontaminirati, vstopni in izstopni zrak mora biti absolutno filtriran, prostori v laboratoriju delujejo pod nižjim zračnim tlakom glede na zunanost. Vstop v laboratorij je vedno iz prostorov BSL-2, obvezno je popolno preoblačenje, v določenih (veterinarskih) laboratorijih je ob izstopu predpisano še obvezno prhanje. V arhitekturnem pogledu morajo biti laboratoriji BSL-3 organizirani po sendvič sistemu, kjer je nad laboratorijskimi prostori tehnična etaža s strojnimi instalacijami (filtracija in prezračevanje, ogrevanje, vlaženje), pod laboratorijskimi prostori pa mora biti v podtlačnem režimu sistem za dekontaminacijo odplak. Posebna pozornost je namenjena prebojem vstopnih instalacij skozi steno v laboratorij, površine prostorov morajo biti izvedene v materialih (epoksi), ki omogočajo agresivno dekontaminacijo (pare vodikovega peroksida, formalinske pare). V laboratoriju morajo biti vse instalacije nadometne in lahko dostopne, vsak prostor laboratorija mora zagotavljati absolutno tlačno izolacijo. Če ima laboratorij kapacitete za laboratorijske ali poskusne živali, mora biti na razpolago učinkovit sistem za dekontaminacijo (velikih) trupel in nastilja. V Sloveniji na stopnji BSL-3 delujeta laboratorija na veterinarski in medicinski fakulteti Univerze v Ljubljani, na obeh inštitutih za mikrobiologijo.

STOPNJA BIOVARNOSTI 4 (BSL-4)

Standard BSL-4 temelji na zahtevah BSL-3 glede ohranjanja integritete laboratorija in predstavlja najvišjo možno raven biovarnosti. V takih razmerah se dela z MA, ki so nevarni in eksotični ter pomenijo veliko tveganje za okužbe in se prenašajo z aerosoli. Okužbe, ki jih povzročajo ti MA, so pogosto smrtno in brez možnosti preventivnega cepljenja ali zdravljenja. V laboratorijske kapacitete te stopnje se vstopa s stopnje BSL-3, običajno pa je zgradba takega laboratorija postavljena na ločeni lokaciji, zunaj urbanega okolja, s pregledno okolico. BSL-4 zahteva najvišjo raven strokovne usposobljenosti delavcev in tudi osebne zaščite. V laboratoriju delavci uporabljajo celostne nadtlačne zaščitne obleke (skafander), ki se po opravljenem delu pred slačenjem površinsko kemično dekontaminirajo, pred izstopom na nižjo biovarnostno stopnjo. Za delo v BSL-4 veljajo še nekateri drugi pogoji, kot so preverbe psihičnega stanja osebja, najmanjše predpisano število aktivnih oseb v laboratoriju v danem trenutku, urejena morajo biti dostopna mesta za opazovanje dela iz smeri biovarnostno nižjih sosednjih prostorov in navsezadnje – zagotovljeno mora biti tudi zunanje fizično varovanje poslopja, ki ga izvajajo osebe s pooblastili za uporabo strelnega orožja. Slovenija takega laboratorija (še) nima, obstaja pa seznam operativnih civilnih laboratorijev BSL-4 po svetu.

ZAKLJUČEK

Del obsežnega področja biovarnosti je treba v mikrobiološkem laboratoriju vsekar uporabljati za zagotavljanje varnega dela. Pogosto se še vedno preveč zanašamo na dolgoletne izkušnje in prakso, zlasti starejših odločevalcev, kar ocenjujemo kot nedosleden pristop. Danes morajo biti procesi jasno opredeljeni, dokumentirani in vsem dostopni (2). Velik napredek je bil dosežen, ko so nekateri laboratoriji uvedli sistem kakovosti v okviru akreditacijskih postopkov. Proces akreditacije zahteva

opisane in dokumentirane postopke, kar nas prisili v to v praksi precej nezaželeno administrativno dejavnost, ki pa je pomemben del biovarnostnih načel. Če laboratorij opiše in dokumentira postopke, zmanjša tveganje za neželene dogodke, ki so v bistvu običajno pričakovano varnostno tveganje vsakega laboratorija. Takšen pristop k organizaciji laboratorija ob laboratorijskih nesrečah večjih razsežnosti prispeva tudi k lažjemu ugotavljanju odgovornosti.

LITERATURA

1. Chosewood LC, Wilson DE, eds. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (6th ed.). Centers for Disease Control and Prevention. 2020.
2. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC).
3. Laboratory biosafety manual. WHO; (4th ed) 2020.
4. Salerno R.M., Gaudio J. Laboratory Biosecurity Handbook. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA; 2007.
5. WOA. Biosafety and biosecurity: standard for managing biological risk in the veterinary laboratory and animal facilities. OIE Terrestrial Manual; 2018.

Bruceloza, laboratorijske okužbe in obvladovanje tveganj

Brucellosis; laboratory acquired infections and risk management

Ivana Velimirović,¹ Daša Vodičar,^{1,2} Barbara Zdolšek³

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: bruceloza, laboratorijsko pridobljene okužbe, poizpostavitvena profilaksa

Bruceloza je ena najpogostejših laboratorijsko pridobljenih okužb na svetu, predvsem zaradi izjemno nizkega infektivnega odmerka bakterij rodu *Brucella*, številnih možnih poti prenosa ter nespecifične klinične slike bolezni. Večina laboratorijskih izpostavitvev ne nastane kot posledica očitnih nesreč, temveč zaradi napačne identifikacije izolata, nezadostnega poznavanja fenotipskih značilnosti povzročitelja in neustreznih laboratorijskih praks, kot so delo na odprti delovni površini ter postopki, pri katerih nastajajo aerosoli. Čeprav je klasična kultura še vedno zlati standard za laboratorijsko potrditev bruceloze, zahteva obsežno manipulacijo z živimi bakterijami in zato prinaša pomembno poklicno tveganje. Molekularne diagnostične metode, ki ne zahtevajo izolacije povzročitelja, tveganje za izpostavljenost zmanjšujejo, vendar niso vedno dovolj občutljive. Identifikacija z metodo MALDI-TOF MS je pomembno izboljšala hitrost in učinkovitost diagnostike, vendar brez ustreznih varnostnih ukrepov in predhodne inaktivacije bakterij ni povsem brez tveganja. Med najpomembnejše preventivne ukrepe spadajo dosledno upoštevanje načel biološke varnosti, uporaba bioloških varnostnih komor razreda II, delo z živimi kulturami v laboratorijih biološke varnostne stopnje 3, ustrezna osebna varovalna oprema, stalno izobraževanje laboratorijskega osebja ter jasno opredeljeni protokoli in algoritmi za obravnavo kliničnih vzorcev in laboratorijskih izpostavitvev.

ABSTRACT

Key words: brucellosis, laboratory-acquired infections, post-exposure prophylaxis

Brucellosis is a leading cause of laboratory-acquired infections worldwide, primarily due to the low infectious dose of *Brucella* spp., multiple routes of transmission, and nonspecific clinical presentation. Most laboratory exposures do not result from

¹ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 4, 1000 Ljubljana

² Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva 2, 1000 Ljubljana

³ Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo, Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Maribor, Prvomajska ulica 1, 2000 Maribor

Korespondenca: ivana.velimirovic@mf.uni-lj.si

accidental spills but from misidentification of isolates, insufficient familiarity with phenotypic characteristics, and unsafe practices such as open-bench work and aerosol-generating procedures. Although conventional culture-based diagnostics are effective, they require extensive manipulation of live bacteria and pose a significant occupational risk. Culture-independent molecular methods reduce exposure risk, while identification using MALDI-TOF mass spectrometry is not entirely risk-free and requires prior bacterial inactivation to prevent transmission. Preventive measures include strict adherence to biosafety level 3 practices, use of Class II biological safety cabinets, appropriate personal protective equipment, staff training, and implementation of standardized laboratory protocols.

UVOD

Bruceloza je zoonoza, ki jo povzročajo bakterije rodu *Brucella*. Okužijo se lahko ljudje in živali. Okužbe pri ljudeh najpogosteje povzroča *Brucella melitensis*, katere rezervoar so koze, ovce in kamele, med ostale človeške patogene sodijo še *Brucella abortus* (govedo), *Brucella suis* (svinje) in *Brucella canis* (psi) (1, 2). V preteklosti je bila bolezen razširjena po vsem svetu, vendar je uvedba ukrepov, kot so periodično presejanje živine, odstranjevanje okuženih živali in rutinsko cepljenje čred, v razvitih državah privedla do učinkovitega nadzora (3). Kljub temu pa bruceloza ostaja endemična bolezen na Bližnjem vzhodu, v Latinski Ameriki, na indijskem polotoku, v Afriki ter v nam bližnjih regijah južne Evrope in Balkana (4, 5).

V razvitih državah se okužbe najpogosteje pojavljajo pri potnikih, ki prihajajo z endemičnih območij (največkrat zaradi uživanja nepasteriziranih mlečnih izdelkov ali premalo toplotno obdelanega mesa okuženih živali), pri poklicno izpostavljenih posameznikih (kmetje, lovci, veterinarji ipd.) ter pri laboratorijskem osebju (4, 6).

Bruceloza je ena od najpogostejših laboratorijsko pridobljenih okužb, zato se mora laboratorijsko osebje kljub nizki pojavnosti bolezní v razvitih državah zavedati možnosti kultivacije mikroorganizma (3). Nizek infektivni odmerek (10–100 mikroorganizmov), številna možna vstopna mesta v telo, širok spekter potencialno kontaminiranih kliničnih vzorcev ter nespecifične klinične manifestacije okužbe pri ljudeh prispevajo k tveganju nenamernega prenosa bakterij na laboratorijsko osebje (4). Delovne nesreče, kot so razlitja gojišč ali medijev, predstavljajo le manjši delež izpostavitve, medtem ko je več kot 80 % izpostavitve posledica nepoznavanja fenotipskih značilnosti in napačne identifikacije izolata ter neustreznih laboratorijskih praks, kot so delo na odprti delovni površini brez uporabe biološke varnostne komore razreda II (angl. *Class II biosafety cabinet* – BSC2), neuporaba osebne varovalne opreme (OVO) ter nastajanje aerosolov bakterij med rutinskimi postopki identifikacije (7).

Namen našega prispevka je opredeliti značilnosti laboratorijskih izpostavitvev, določiti stopnje tveganja za posamezne aktivnosti, predstaviti preventivne ukrepe za obvladovanje teh tveganj oziroma določiti časovne okvire za serološko in klinično spremljanje ter zdravljenje v primeru izpostavitve oziroma okužbe.

BIOLOŠKE ZNAČILNOSTI *BRUCELLA* SPP.

Brucella spp. so kratki, negibljivi, po Gramu negativni, počasi rastoči, znotrajcelični kokobacili brez kapsule, ki ne tvorijo spor (3).

Virulenčni dejavnik je gladki lipopolisaharid (angl. *smooth lipopolysaccharide*, S – LPS) na zunanji strani celične membrane, ki je antigensko podoben S – LPS drugih po Gramu negativnih bakterij (1).

Okužimo se lahko prek prebavil z uživanjem kontaminiranih izdelkov, prek dihal z vdihavanjem aerosolov ali skozi poškodovano kožo in/ali sluznico v primeru neposrednega stika z okuženimi živalmi ali njihovimi izločki (3, 4). Medčloveški prenos je redek; opisani so posamezni primeri prenosa s spolnim odnosom, vertikalni prenos z matere na plod (med porodom ali z dojenjem) ter pri posegih v zdravstvenih ustanovah (1). Do okužbe v laboratoriju pride največkrat zaradi vdihavanja aerosolov brucele pri delu s kužninami okuženih pacientov ali živimi kulturami brucele zunaj zaprtih bioloških varnostnih komor (6, 8).

Brucella spp. povzroča akutne in kronične okužbe. Ameriški center za nadzor in preprečevanje bolezni (angl. *Centers for Disease Control and Prevention*, CDC) opredeljuje brucelozo kot bolezen z akutnim ali postopnim začetkom in z značilno undulirajočo vročino. Spremlja jo eden ali več naslednjih simptomov: nočno potenje, artralgijske, glavobol, utrujenost, izguba apetita, mialgije, hujšanje, artritis ali spondilitis, meningitis ter prizadetost posameznih organov (endokarditis, orhitis/epididimitis, hepatomegalija, splenomegalija). Gastrointestinalni simptomi, ki se pojavijo pri približno polovici bolnikov, vključujejo bolečine v trebuhu, zaprtje, drisko ali bruhanje. Kronična oblika bolezni lahko posnema miliarno tuberkulozo. Dolgotrajno nezdravljena bruceloza lahko povzroči abscese v jetrih, vranici, srčnih zaklopkah, možganih ali kosteh, osteoartikularne zaplete in v redkih primerih tudi smrt. Pogosto je del diferencialne diagnoze vročine neznanega izvora (1).

Čas inkubacije je lahko zelo variabilen – od 5 dni do 6 mesecev, v povprečju traja 2–4 tedne. Začetna klinična slika se zato lahko pojavi šele nekaj dni do nekaj tednov po izpostavitvi, vendar zaradi nespecifičnih ali atipičnih simptomov pogosto ni pravočasno prepoznana. Pri subakutni ali kronični obliki bolezni je lahko diagnoza bruceloze postavljena tudi več let pozneje (1, 6).

Umrljivost pri nezdravljenih bolnikih dosega približno 5 %, pri čemer je najpogostejši vzrok smrti endokarditis (1).

EPIDEMIOLOGIJA

Globalno breme bruceloze pri človeku ostaja ogromno. Svetovna zdravstvena organizacija ocenjuje, da letno zboli vsaj pol milijona ljudi. V državah Evropske unije (angl. *European Union*, EU) in Evropskega gospodarskega prostora (angl. *European Economic Area*, EEA) ostaja pojavnost bruceloze v primerjavi z endemičnimi regijami nizka. Po podatkih Evropskega centra za preprečevanje in obvladovanje bolezni (angl. *European Centre for Disease Prevention and Control*, ECDC) in Evropske agencije za varnost hrane (angl. *European Food Safety Authority*, EFSA) je bilo leta 2024 v EU prijavljenih 273 potrjenih primerov bruceloze pri ljudeh, kar ustreza stopnji prijave približno 0,06/100.000 prebivalcev. Najvišje stopnje prijave so v državah sredozemske regije, zlasti v Grčiji, na Malti in Portugalskem (9). Bruceloza je v Sloveniji zelo redka in večinoma vnesena iz sosednjih držav, v katerih je pri živalih endemična (npr. iz Bosne in Hercegovine ali drugih držav z višjo pojavnostjo). Primeri so povezani z izpostavljenostjo okuženim živalim ali uživanjem nepasteriziranih mlečnih izdelkov (10).

IZPOSTAVLJENOST *BRUCELLA* SPP. V BAKTERIOLOŠKIH LABORATORIJIH

V pregledu, objavljenem leta 2013, ki je zajel 28 poročil o laboratorijsko pridobljeni brucelozi v obdobju od leta 1982 do leta 2007, so identificirali 167 potencialno izpostavljenih laboratorijskih delavcev, med katerimi je bilo potrjenih 71 primerov laboratorijsko pridobljene bruceloze. Poleg tega so avtorji vključili še devet dodatnih poročil, ki so skupaj opisovala 186 primerov laboratorijskih okužb. Analiza posameznih primerov je pokazala, da je bila izpostavljenost brucelam le v 11 % posledica laboratorijskih nesreč, medtem ko je bila v 88 % primerov posledica aerosolizacije mikroorganizmov med rutinskimi identifikacijskimi postopki; pri 1 % primerov okoliščine izpostavljenosti niso bile znane. Glavni povzročitelj je bila *Brucella melitensis*, in sicer v 80 % primerov (135/167) (7). Stopnjo tveganja so ocenili v skladu s priporočili CDC (4). Tveganje za pojav bruceloze je bilo desetkrat večje pri delavcih, izpostavljenih visokemu tveganju, in statistično značilno manjše pri tistih, ki so prejeli protimikrobno profilakso (7).

Laboratorijske nesreče, kot so razbitje epruвет v centrifugi ali hemokulturnih stekleničk, samoinokulacija suspenzije brucel ali bolnikove sinovialne tekočine ter razlitje tekočih gojišč, so imele pri laboratorijsko pridobljenih okužbah manjšo vlogo in so povzročile le 18 od 165 (11 %) izpostavitve. Pogosteje je bil prenos posledica nevarnih delovnih praks, kot so obdelava bakterijskih kultur na odprti delovni površini, neuporaba OVO, vohanje gojiščnih plošč ali zaužitje suspenzij živih mikroorganizmov zaradi pipetiranja z usti (7).

Posledica različnih kliničnih znakov in simptomov bruceloze je širok spekter kliničnih vzorcev, ki jih za namene mikrobioloških preiskav prejmejo mikrobiološki laboratoriji. Čeprav sta kri in aspirat sinovialne tekočine najpogosteje kontaminirana vzorca, so nepričakovani viri izpostavljenosti tudi biopsijski materiali, kostni mozeg, likvor, urogenitalni vzorci in posteljica ter amnijska tekočina (1).

Koncentracija viabilnih brucel v krvi in ostalih kliničnih vzorcih je različna – od 1 enote/ml, ki tvori kolonije (angl. *colony-forming unit*, CFU), do več kot 1000 CFU/ml. Najvišje koncentracije se pojavljajo v zgodnjih fazah bolezni, nato pa se zmanjšujejo zaradi odziva imunskega sistema. Medtem ko sta mletje in homogenizacija tkiv postopka z visokim tveganjem, ki ju je treba izvajati v zaprti varnostni komori, sterilne telesne tekočine (z izjemo reproduktivnih vzorcev, kot sta amnijska tekočina in posteljica) običajno ne predstavljajo večjega tveganja za prenos, razen če pride do očitne kršitve laboratorijskih varnostnih postopkov (4).

Laboratorijska potrditev bruceloze je tradicionalno temeljila na izolaciji povzročitelja z metodo kultivacije ter njegovi biokemijski identifikaciji in/ali pozitivnih seroloških testih. V zadnjih desetletjih so bili v diagnostiko uvedeni molekularni testi, ki omogočajo hitro zaznavo bakterij rodu *Brucella* brez potrebe po izolaciji živih mikroorganizmov, s čimer se tveganje za izpostavljenost laboratorijskega osebja bistveno zmanjša. Molekularni testi so še zlasti koristni pri bolnikih z negativnimi serološkimi testi, vendar je lahko zaradi nizke količine bakterij v vzorcu tovrstno dokazovanje manj občutljivo (11).

Kultivacija kljub tveganjem ostaja zlati standard, saj je izolacija brucel iz krvi, drugih sterilnih telesnih tekočin ali prizadetih tkiv nedvoumen dokaz aktivne okužbe. Pomembna prednost kulture je tudi v tem, da omogoča diagnozo v primerih, ko

ni bilo kliničnega suma na bolezen ali ko so serološki testi v zgodnji fazi okužbe še negativni ali mejni (11).

Brucele so znotrajcelične bakterije, ki počasi rastejo na kompleksno sestavljenih in obogatenih gojiščih, zato moramo ob sumu na brucelozo čas kultivacije podaljšati tudi za dva tedna. V primeru rasti povzročitelja izoliramo in identificiramo. Z izoliranimi kulturami brucel moramo ravnati previdno in delo izvajati v laboratoriju, ki ustreza stopnji biološke varnosti 3 (angl. *biosafety level 3*, BSL3). Na neendemičnih območjih številni laboratorijski delavci niso več seznanjeni z značilnostmi brucel, poraslih na gojiščih, kar vodi v nenamerno izpostavljenost, predvsem v primerih, ko ni bilo suma na okužbo in se delo s kulturami ni izvajalo v laboratoriju ustrezne varnostne stopnje.

Uvedba tehnologije MALDI-TOF za identifikacijo bakterijskih vrst je bistveno zmanjšala potrebo po delu z živimi bakterijami, vendar ni brez tveganj. Zmožnost te tehnologije za natančno identifikacijo brucel se je razvijala postopoma. Ob začetku uporabe referenčna standardna knjižnica MALDI ni vključevala reprezentativnih masnih spektrov za rod *Brucella*, zato razlikovanje od filogenetsko sorodnih vrst *Ochrobactrum* ni bilo zanesljivo. Danes je identifikacija do ravni rodu mogoča z uporabo posebne knjižnice (angl. *Security Relevant Library*, SR) (4). Nepravilna uporaba MALDI-TOF in posledične napačne identifikacije so v multicentrični raziskavi newyorških bolnišnic prispevale k večini primerov (84 %) izpostavljenosti laboratorijskega osebja (8). Ker brucela ni vedno popolnoma inaktivirana z dodajanjem majhne količine matriksa neposredno na ploščico, se priporoča predhodna kemična inaktivacija v epruveti (4).

OCENA TVEGANJA OB IZPOSTAVITVI BRUCELLA SPP.

Ob prepoznavi potencialne laboratorijske izpostavljenosti je najpomembnejša naloga analiza laboratorijskih dejavnosti, ki so potekale v času dogodka. Ocena tveganja temelji na naslednjih vprašanih (1):

- Kdo je bil v laboratoriju v času izpostavitve?
- Koliko so bile osebe oddaljene od potencialno kontaminiranega vzorca?
- Ali so osebe imele stik s kritičnimi kužninami ali izolati brucele?
- Na kakšen način so bile osebe (morebiti) izpostavljene (npr. vdihavanje aerosolov, stik s sluznico, poškodovana koža)?

Stopnje tveganja delimo na minimalno, nizko in visoko tveganje, pri čemer razvrstitev temelji na vrsti vzorca, načinu dela, uporabi zaščitne opreme in nastajanju aerosolov. Minimalno tveganje predstavlja delo z rutinskimi kliničnimi vzorci (kri, serum, likvor) ali z »obogatenimi« vzorci (izolat brucele, vzorec krvi, v katerem je brucela, amnijska tekočina, posteljica), kadar oseba, ki rokuje z vzorcem, dela v BSC2 in uporablja ustrezno OVO (vsaj rokavice in zaščitno obleko). K minimalnemu tveganju spada tudi izpostavljenost osebe, ki je bila v laboratoriju, medtem ko je druga oseba delala z rutinskim kliničnim vzorcem v laboratoriju biološke varnostne stopnje 2 (angl. *biosafety level 2*, BSL2) na odprti delovni površini, če pri tem ne nastajajo aerosoli. Če je oseba prisotna v laboratoriju, medtem ko druga oseba dela z »obogatenim« vzorcem, je pogoj za minimalno tveganje, da delo poteka v BSC2 in ne na odprti delovni površini. V navedenih primerih poizpostavitvena profilaksa in aktivno spremljanje izpostavljenih oseb nista potrebna, priporočljivo pa je pasivno spremljanje z obveščanjem o morebitnem pojavu simptomov bruceloze (1).

Preglednica 1. Ocena tveganja in ukrepi ob možni izpostavitvi *Brucella* spp. v laboratoriju.(Vir: <https://www.cdc.gov/brucellosis/media/pdfs/2025/02/brucellosi-reference-guide.pdf>)

Vrsta vzorca	Vrsta izpostavitve	Poizpostavitvena profilaksa (PEP)	Nadaljnje spremljanje
MINIMALNO TVEGANJE			
Rutinski klinični vzorec (kri, serum, likvor ipd.)	Oseba, ki dela z rutinskim kliničnim vzorcem v BSC2 in uporablja ustrezno ovo (rokavice, obleka, zaščita za oči*).	Ni potrebna.	Ni potrebno. Po presoji spremljamo simptome v naslednjih primerih: – oseba, ki dela z rutinskim kliničnim vzorcem na odprti delovni površini z osebno zaščitno opremo (rokavice, obleka, zaščita za oči) ali brez nje oziroma v BSC2 brez ustrezne zaščitne opreme, – če je oseba v laboratoriju, medtem ko druga oseba dela z rutinskim kliničnim vzorcem na odprti delovni površini in pri tem nastajajo aerosoli (centrifugiranje v odprtih nosilcih, vorteksiranje, sonikacija, razlitje ipd.)
	Oseba v laboratoriju, medtem ko druga oseba dela z rutinskim kliničnim vzorcem v BSC2 ali na odprti delovni površini, če med delom ne nastajajo aerosoli (centrifugiranje v odprtih nosilcih, vorteksiranje, sonikacija, razlitje ipd.)		
Obogateni material (kultura brucele, pozitivna hemokultura, vzorec amnijske tekočine, posteljice ipd.)	Oseba, ki dela z obogatenim vzorcem v BSC2 in uporablja ustrezno OVO (rokavice, obleka, zaščita za oči*).	Po presoji pri imunsko oslabilih ali nosečnicah. Opozorilo: sev RB51 (živo oslajeno cepivo <i>B. abortus</i> za govedo) je <i>in vitro</i> odporen proti rifampcinu, zato se ta za PEP ali zdravljenje ne uporablja.	Tedensko spremljanje simptomov in dnevno merjenje telesne temperature 24 tednov od zadnje izpostavitve okužbi. Serološko sledenje po 0, 6, 12, 18, 24 tednih od zadnje izpostavitve okužbi.
	Oseba v laboratoriju, medtem ko druga oseba dela z obogatenim vzorcem v BSC2.		
NIZKO TVEGANJE			
Obogateni material (kultura brucele, pozitivna hemokultura, vzorec amnijske tekočine, posteljice ipd.)	Oseba v laboratoriju, ki je več kot 1,5 m oddaljena od osebe, ki dela z obogatenim materialom na odprti delovni površini, kjer aerosoli ne nastajajo (centrifugiranje v odprtih nosilcih, vorteksiranje, sonikacija, razlitje ipd.)	Po presoji pri imunsko oslabilih ali nosečnicah. Opozorilo: sev RB51 (živo oslajeno cepivo <i>B. abortus</i> za govedo) je <i>in vitro</i> odporen proti rifampcinu, zato se ta za PEP ali zdravljenje ne uporablja.	Tedensko spremljanje simptomov in dnevno merjenje telesne temperature 24 tednov od zadnje izpostavitve okužbi. Serološko sledenje po 0, 6, 12, 18, 24 tednih od zadnje izpostavitve okužbi.
VISOKO TVEGANJE			
Rutinski klinični vzorec (kri, serum, likvor ipd.)	Oseba, ki dela z rutinskim kliničnim vzorcem, pride v stik s poškodovano kožo ali sluznico ne glede na stopnjo biološke varnosti laboratorija ali rabo OVO (rokavice, zaščitna oblačila, zaščita za oči*).	Doksiciklin 100 mg 2-krat na dan in rifampicin 300 mg 1-krat na dan, skupno 21 dni. Osebe, ki ne smejo prejemati doksiciklina ali rifampicina: TMP-SMX in drugi ustrezen antibiotik (vedno uporabimo dva učinkovita antibiotika). Nosečnice naj se posvetujejo z ginekologom. Opozorilo: sev RB51 je <i>in vitro</i> odporen proti rifampcinu, zato se ta za PEP ali zdravljenje ne uporablja.	Tedensko spremljanje simptomov in dnevno merjenje telesne temperature 24 tednov od zadnje izpostavitve okužbi. Serološko sledenje po 0, 6, 12, 18, 24 tednih od zadnje izpostavitve okužbi. Opozorilo: serološko sledenje po izpostavitvi RB51 in <i>B. canis</i> pri človeku ni možno.
	Oseba, ki dela z obogatenim materialom zunaj BSC2, ali oseba, ki je od nje oddaljena manj kot cca 1,5 metra.		
Obogateni material (kultura brucele, pozitivna hemokultura, vzorec amnijske tekočine, posteljice ipd.)	Oseba, ki dela z obogatenim vzorcem v BSC2 in ne uporablja ustrezne OVO (rokavice, obleka, zaščita za oči*).	Osebe, ki ne smejo prejemati doksiciklina ali rifampicina: TMP-SMX in drugi ustrezen antibiotik (vedno uporabimo dva učinkovita antibiotika). Nosečnice naj se posvetujejo z ginekologom. Opozorilo: sev RB51 je <i>in vitro</i> odporen proti rifampcinu, zato se ta za PEP ali zdravljenje ne uporablja.	Tedensko spremljanje simptomov in dnevno merjenje telesne temperature 24 tednov od zadnje izpostavitve okužbi. Serološko sledenje po 0, 6, 12, 18, 24 tednih od zadnje izpostavitve okužbi. Opozorilo: serološko sledenje po izpostavitvi RB51 in <i>B. canis</i> pri človeku ni možno.
	Vse osebe, ki so v laboratoriju med delom z obogatenimi vzorci na odprti delovni površini, kjer nastaja aerosol (centrifugiranje v odprtih nosilcih, vorteksiranje, sonikacija, razlitje ipd.)		

BSC2, biološka varnostna komora razreda II; OVO, osebna varovalna oprema; PEP, poizpostavitvena profilaksa

* Ta dokument sicer predvidi tudi zaščito za oči, ki v nekaterih drugih dokumentih za delo v BSC2 ni navedena (14).

Nizko tveganje izpostavitve zajema izključno delo z »obogatenimi« vzorci. V to skupino uvrščamo osebe, ki neposredno delajo s takim vzorcem, ter osebe, ki so od njih oddaljene manj kot 1,5 m, kadar delo poteka na odprti delovni površini, vendar ob tem ne nastajajo aerosoli (1).

V visoko tveganje izpostavitve uvrščamo osebe, ki ob delu pridejo v stik z rutinskimi kliničnimi vzorci z minimalno poškodovano kožo ali sluznico. Ob tem ni pomembno, ali je oseba v laboratoriju ustrezne biološke varnostne stopnje in ali nosi ustrezno OVO. V isto kategorijo tveganja spadajo tudi osebe, ki delajo z »obogatenim« vzorcem, in osebe, ki so od nje oddaljene manj kot 1,5 m, če delo poteka zunaj BSC2. Med osebe z visokim tveganjem uvrščamo tudi tiste, ki delajo z »obogatenimi« vzorci v BSC2, vendar ne uporabljajo ustrezne OVO. Zadnji primer visoke stopnje tveganja pa so vse osebe v laboratoriju, kadar delo z »obogatenimi« vzorci poteka na odprti delovni površini in pri tem nastajajo aerosoli (1).

Postopki, pri katerih nastajajo aerosoli, vključujejo: centrifugiranje brez zaprtih nosilcev, vorteksiranje, sonikacijo in nezgode z razlitjem (npr. razbitje epruvete). Ostali primeri dela z vzorci, kot so avtomatizirano pipetiranje suspenzije z brucelo, mletje, mešanje ali tresenje vzorca in drugi postopki za pripravo suspenzije v tekočini v ustrezni koncentraciji za identifikacijske postopke, lahko ob morebitni izpostavljenosti zahtevajo dodatno preiskavo (1).

V Preglednici 1 predstavljamo primere ocene tveganja ob morebitni izpostavljenosti in potrebo po nadaljnjih ukrepih. Oceno tveganja izvede za to ustrezno izobrazena oseba.

UKREPI ZA PREPREČEVANJE IZPOSTAVLJENOSTI BRUCELLA SPP. V BAKTERIOLOŠKIH LABORATORIJIH

Da bi se preprečile laboratorijske in poklicne okužbe z brucelo, je potrebno izvajati celovit nabor varnostnih in preventivnih ukrepov: vse vzorce je treba označiti kot sum na brucelo, kliniki so dolžni obveščati laboratorij, nujno je redno usposabljanje in obnovitveno izobraževanje zaposlenih, upoštevanje navodil varnega dela in dobre laboratorijske prakse z uporabo OVO, upoštevanje varnostnih algoritmov, ko bodisi klinik bodisi laboratorij postavi sum na brucelo (1).

Vse vzorce s sumom na brucelo je treba obravnavati vsaj v BSC2, pri čemer morajo biti laboratorijski delavci zaščiteni z zaščitnim plaščem, rokavicami, zaščitnimi očali in respiratorno masko. CDC priporoča, da se vsi laboratorijski postopki s kulturami živih brucel izvajajo ob upoštevanju BSL3 (1).

Trenutne smernice CDC, Ameriškega združenja za mikrobiologijo (angl. *American Society for Microbiology*, ASM) in Združenja javnozdravstvenih laboratorijev (angl. *Association of Public Health Laboratories*, APHL) poudarjajo več ključnih ukrepov za zmanjšanje tveganja pri obravnavi kliničnih vzorcev, izolaciji mikroorganizmov in identifikaciji neznanih bakterijskih kultur (2).

Najpomembnejši elementi so ustrezno izobraževanje laboratorijskega osebja, redno preverjanje usposobljenosti in dosledno upoštevanje navodil za varno delo v mikrobiološkem laboratoriju. Osebje mora poznati morfološke značilnosti rodu *Brucella*, vključno z njihovo značilno variabilnostjo pri barvanju po Gramu ter videzom majhnih, slabo obarvanih kokobacilov, ki jih je zlahka mogoče zamenjati z drugimi mikroorganizmi (12). Poleg tega *Brucella* pogosto kaže počasno rast, kar zahteva

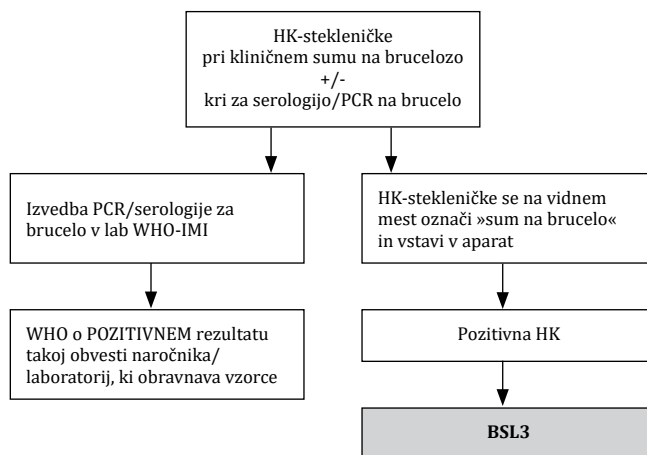
večdnevno inkubacijo in dodatno previdnost, kadar hemokulture postanejo pozitivne šele po daljšem času inkubacije (13).

Enako pomembna je dosledna uporaba BSC2 ter OVO pri obdelavi vzorcev, ki lahko vsebujejo *Brucella*. Smernice ASM jasno priporočajo, da se vse subkulture iz nejasnih vzorcev ali iz hemokultur, ki postanejo pozitivne po daljši inkubaciji, izvajajo v BSC2, zlasti kadar je v mikroskopskem preparatu, pobarvanem po Gramu, vidna za brucele značilna morfologija (2). Tudi v primerih, ko v mikroskopskem preparatu, pobarvanem po Gramu, iz hemokulture niso vidni mikroorganizmi, se priporoča izvajanje postopkov obdelave v BSC2.

Kadar hemokulture postanejo pozitivne šele po več dneh inkubacije, je treba vse subkulture obravnavati kot potencialno nevarne, saj je podaljšan čas do pozitivnosti značilen za nekatere posebno nevarne patogene, vključno z rodом *Brucella* (13). Vse postopke obdelave od primarnega nacepljanja do dokončne identifikacije iz pozno pozitivnih stekleničk naj se izvajajo v BSC2 z uporabo OVO.

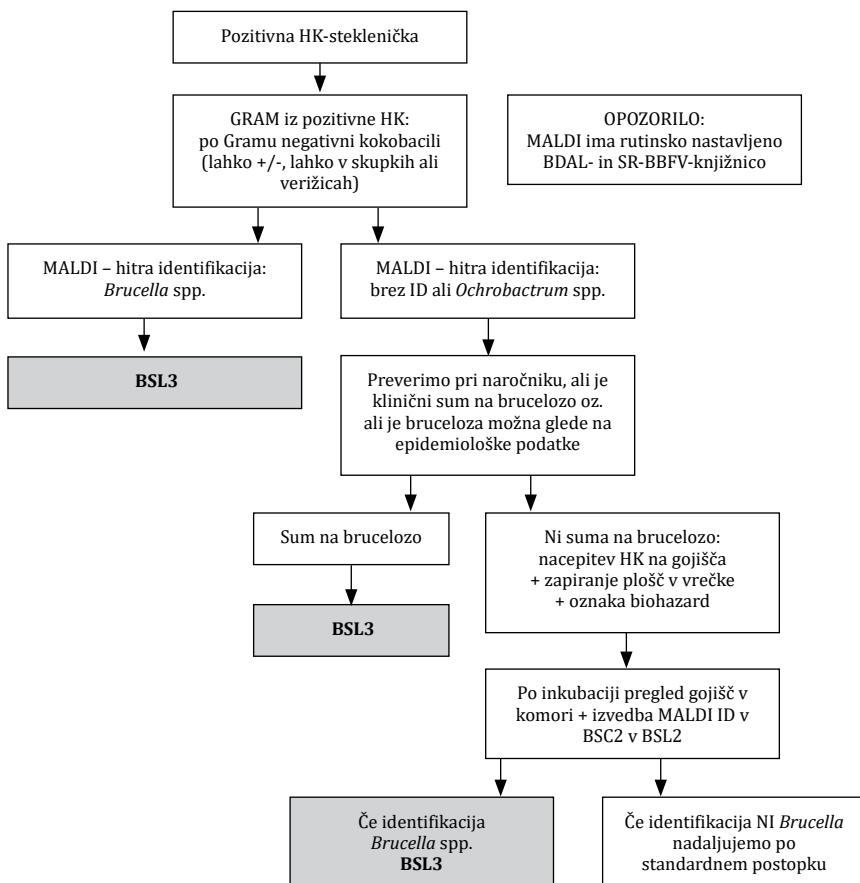
Predlagani algoritem ravnanja v primeru, ko sum poda klinični zdravnik, predstavljamo na Sliki 1.

Slika 1. Algoritem ob sumu na brucelo, ki ga postavi klinik.



Predlagani algoritem ravnanja v primeru, ko sum poda laboratorij, predstavljamo na Sliki 2.

Slika 2. Algoritem ob sumu na brucelozo, ki ga postavi laboratorij.



Če so v mikroskopskem preparatu vidni po Gramu negativni kokobacili in je z MALDI-TOF pridobljena identifikacija *Brucella* spp., delo v laboratoriju nemudoma prekinemo. Ne izvajamo nadaljnje obdelave vzorca, vključno s kultivacijo ali antibiogramom. Ves material ustrezno zaščitimo (zapremo v plastične vrečke), razkužimo zaščitno komoro in se dogovorimo za varen prevoz materiala v laboratorij BSL3.

Če so v mikroskopskem preparatu vidni po Gramu negativni kokobacili, z MALDI-TOF pa identifikacija ni uspela ali je identifikacija *Ochrobactrum* spp., klinični mikrobiolog ob obveščanju klinike poskusi od lečečega zdravnika oz. naročnika pridobiti klinične in epidemiološke podatke (npr. izpostavljenost živalim, nepasteriziranim mlečnim izdelkom, potovanja na endemična območja).

- Če še vedno obstaja sum na brucelozo, delo v laboratoriju prekinemo, ne izvajamo nadaljnje obdelave vzorca, vključno s kultivacijo ali antibiogramom. Ves material ustrezno zaščitimo (zapremo v plastične vrečke), razkužimo zaščitno komoro in se dogovorimo za varen prevoz materiala v laboratorij BSL3.
- Če kliničnega suma na brucelozo ni oz. podatka ne moremo dobiti, hemokulturo nacepimo na gojišča in plošče ustrezno zaščitimo (zapremo v plastične

vrečke). Po inkubaciji pregledovanje plošč in vse nadaljnje postopke opravi ena oseba izključno v BSC2 ob dosledni uporabi ustrezne OVO (rokavice, maska, očala, plašč z dolgimi rokavi, ki je spredaj zapet in ga po uporabi operemo ali zavržemo – plašč za enkratno uporabo). Opravimo identifikacijo z MALDI-TOF po protokolu hitre ekstrakcije z uporabo 70-odstotne mravljične kisline. Ploščico prenesemo iz komore v aparat šele, ko so nanešene vse kemikalije, ki morajo prekriti celotno tarčno mesto, in so vsa tarčna mesta popolnoma suha. Za identifikacijo uporabimo SR-knjižnico. Če identifikacija z MALDI ob vklopljeni SR-knjižnici ni *Brucella* spp., nadaljujemo delo kot pri običajnih bakterijskih kulturah. Če smo z MALDI iz bakterijske kulture identificirali *Brucella* spp., takoj prekinemo delo v laboratoriju, ne izvajamo nadaljnjih postopkov, vključno z antibiogramom. Ves material ustrezno zaščitimo, razkužimo zaščitno komoro in se dogovorimo za prevoz v laboratorij BSL3.

ZAKLJUČEK

Izpostavljenost brucelam v mikrobiološkem laboratoriju se lahko pojavi v kateremkoli koraku diagnostičnega procesa – od obdelave kliničnih vzorcev do izolacije in identifikacije povzročitelja. Ker je bruceloza v razvitih državah redka, se diagnoza pogosto postavi nepričakovano, kar povečuje tveganje za nenamerno izpostavljenost laboratorijskega osebja.

Za preprečevanje poklicnih okužb v sodobnem obremenjenem in kompleksnem laboratorijskem okolju je potreben celovit pristop, ki vključuje jasno označevanje vzorcev, izobraževanje laboratorijskega osebja o identifikaciji predstavnikov tega rodu in njegovih pasteh, dosledno upoštevanje varnih laboratorijskih praks, pravilno uporabo OVO, delo v BSL3 ter vzpostavitev jasnih algoritmov ukrepanja ob kliničnem ali laboratorijskem sumu na brucelozo. S pravilnim izvajanjem teh ukrepov se verjetnost okužbe laboratorijskega osebja močno zmanjša.

LITERATURA

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Brucellosis Reference Guide: Exposures, Testing, and Prevention. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services; februar 2017 [citirano 2025 Okt 15]. Dosegljivo na: <https://www.cdc.gov/brucellosis/pdf/brucellosis-reference-guide.pdf>.
2. Sentinel Level Clinical Laboratory Guidelines for Suspected Agents of Bioterrorism and Emerging Infectious Diseases. *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus* biovar *anthracis*. American Society for Microbiology (ASM); Association of Public Health Laboratories (APHL); Centers for Disease Control and Prevention (CDC); november 2024 [citirano 2025 Okt 15]. Dosegljivo na: https://www.asm.org/getmedia/6d0147f6-07ff-476f-899b-760213b8f5ca/Anthrax-SOP_final.pdf.
3. Baykara Y, Trapassi C. Brucella species staining as Gram-positive rod and Gram-positive cocci in chains. *Rhode Island Med J*. 2022;105(11):34–36 [citirano 2025 Okt 15]. Dosegljivo na: <https://www.rimed.org/rimedicaljournal/2022/11/2022-11-34-case-baykara.pdf>.
4. Yagupsky P. Preventing laboratory-acquired brucellosis in the era of MALDI-TOF technology and molecular tests: a narrative review. *Zoonotic Dis*. 2022;2(4):172–182. doi:10.3390/zoonoticdis2040016 [citirano 2025 Okt 15]. Dosegljivo na: <https://www.mdpi.com/2813-0227/2/4/16>.
5. Evropska agencija za varnost hrane (EFSA), Evropski center za preprečevanje in obvladovanje bolezni (ECDC). Evropska unija One Health 2023 – poročilo o zoonozah. *EFSA Journal*. 2024;22(12):9106. doi:10.2903/j.efsa.2024.9106 [citirano 2025 Okt 15]. Dosegljivo na: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/9106>.
6. Stahl JP, et al. Guidelines for the management of accidental exposure to *Brucella* in a country with no case of brucellosis in ruminant animals. *Med Mal Infect*. 2020;50(6):480–485. doi:10.1016/j.medmal.2020.05.002.

7. Traxler RM, Lehman MW, Bosserman EA, Guerra MA, Smith TL. A literature review of laboratory-acquired brucellosis. *J Clin Microbiol.* 2013;51(9):3055–3062. doi:10.1128/JCM.00135-13 [citirano 2025 Okt 15]. Dosegljivo na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3754682/>.
8. Ackelsberg J, Liddicoat A, Burke T, Szymczak WA, Levi MH, Ostrowsky B, et al. Brucella exposure risk events in 10 clinical laboratories, New York City, USA, 2015 to 2017. *J Clin Microbiol.* 2020;58(2):e01096-19. doi:10.1128/JCM.01096-19.
9. European Food Safety Authority (EFSA) | European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2024 Zoonoses Report. *EFSA J.* 2025 Dec 9;23(12):e9759. doi: 10.2903/j.efsa.2025.9759. PMID: 41377167; PMCID: PMC12686834.
10. Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) – poročila in poglavja o črevesnih nalezljivih boleznih in zoonozah v Sloveniji (poročili 2022 in 2023; opis primerov bruceloze v Sloveniji).
11. Yagupsky P, Morata P, Colmenero JD. Laboratory Diagnosis of Human Brucellosis. *Clin Microbiol Rev* 2019; 33.
12. Chow SK. Uncommon Things Being Common: Gram Variability of Brucella as a Cause of Laboratory Exposure. *J Clin Microbiol.* 2022 Jun 15;60(6):e0050722. doi: 10.1128/jcm.00507-22. Epub 2022 May 9. PMID: 35531666; PMCID: PMC9199401.
13. Yagupsky P. Detection of Brucellae in blood cultures. *J Clin Microbiol.* 1999 Nov;37(11):3437-42. doi: 10.1128/JCM.37.11.3437-3442.1999. PMID: 10523530; PMCID: PMC85661.
14. UK Health Security Agency. Brucella exposure assessment and flowchart [Internet]. London: UKHSA; 2021 [citirano 2025 Dec 1]. Dosegljivo na: <https://assets.publishing.service.gov.uk/media/6182a3678fa8f52981d40f16/brucella-exposure-assessment-and-flowchart.pdf>.

Tularemija – laboratorijske okužbe in obvladovanje tveganj

Tularemia – laboratory acquired infections and risk management

Polona Maver Vodičar,¹ Tina Tasič,^{1, 2} Barbara Zdolšek,³ Iztok Štrumbelj³

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: *Francisella tularensis*, laboratorijska okužba, biološka varnost, izpostavljenost laboratorijskega osebja, preprečevanje okužb, algoritem ukrepanja

Francisella tularensis je eden od povzročiteljev, ki jih Svetovna zdravstvena organizacija zaradi izjemno nizke infektivne doze, možnosti prenosa po zraku in odsotnosti učinkovitega cepiva uvršča med najnevarnejše mikroorganizme. Čeprav se tularemija v Sloveniji pojavlja le sporadično, so posamezni primeri pomemben izziv za javno zdravje in laboratorijsko varnost. V prispevku predstavljamo pregled literature o laboratorijsko pridobljenih okužbah s *F. tularensis* in dokumentiranih primerih izpostavljenosti, ključne dejavnike tveganja in ukrepe za preprečevanje okužb v bakterioloških laboratorijih. Analize kažejo, da so zaposleni večinoma izpostavljeni v okoliščinah, ko klinični sum na tularemijo ni postavljen, laboratorijsko osebje pa ni pravočasno obveščeno. Tveganje za laboratorijsko izpostavljenost *F. tularensis* je pogosto manj odvisno od strogosti varnostnih protokolov kot od značilnosti kliničnih primerov in pravočasnega prepoznavanja potencialno tveganih kliničnih vzorcev. Izjemno pomembno je pravočasno obveščanje laboratorija o sumu na tularemijo, stalno izobraževanje laboratorijskega osebja in dosledno izvajanje varnostnih ukrepov. Poseben poudarek namenjamo algoritmu ocene tveganja in ukrepom ob potrjeni izpostavljenosti, vključno z možnostjo antibiotične profilakse in samoopazovanja.

ABSTRACT

KEY WORDS: *Francisella tularensis*, laboratory-acquired infection, biosafety, laboratory exposure, infection prevention, risk management algorithm

Francisella tularensis is classified by the World Health Organization among the most hazardous microorganisms due to its exceptionally low infectious dose, potential for airborne transmission, and the lack of an effective vaccine. Although tularemia occurs only sporadically in Slovenia, individual cases pose a notable challenge to

¹ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 4, 1000 Ljubljana

² Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center Ljubljana

³ Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo, Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Maribor, Prvomajska ulica 1, 2000 Maribor

Korespondenca: polona.maver@mf.uni-lj.si

both public health and laboratory biosafety. This paper provides an overview of the literature on laboratory-acquired *F. tularensis* infections and documented exposure incidents, highlighting key risk factors and preventive measures in bacteriology laboratories. Evidence indicates that most exposures occur when tularemia is not clinically suspected and laboratory personnel are not informed in advance. The risk of laboratory exposure to *F. tularensis* depends less on the stringency of safety protocols than on the characteristics of clinical cases and the timely recognition of potentially hazardous specimens. Timely communication of suspected tularemia to the laboratory, continuous training of laboratory personnel, and strict compliance with biosafety procedures are essential to minimize risk. Particular attention is given to the proposed risk assessment algorithm and to response measures following confirmed exposure, including the use of antibiotic prophylaxis and self-monitoring.

UVOD

Tularemija je redka, a potencialno resna zoonoza, ki jo povzroča po Gramu negativna fakultativno intracelularna bakterija *Francisella tularensis*. Velja za enega najnevarnejših mikroorganizmov, ki spada v najvišjo kategorijo tveganja (kategorija A po klasifikaciji CDC) za potencialno biološko orožje, predvsem zaradi izjemno nizke infektivne doze, možnosti tvorbe kapljic ali aerosolov, odsotnosti učinkovitega cepiva in sposobnosti, da povzroči hudo bolezen (1). Tularemija se pojavlja sporadično v Evropi, največ prijavljenih primerov imajo na Švedskem in Finskem (2).

V Sloveniji so bile okužbe doslej večinoma sporadične; največkrat so bile povezane z naravnimi izpostavitvami (stik z divjadjo, kontaminirano vodo ali prenašalci v okolju, npr. klopi). Stopnja incidence v obdobju od 2014 do 2023 je bila med 0 in 2,6 primera/100.000 prebivalcev; v tem desetletju sta bila prijavljena 102 primera, od tega 54 leta 2021, ko je prišlo tudi do izbruha, povezanega s kontaminiranim zasebnim vodnim zajetjem na Goriškem (3). Poseben mejnik je bil tudi izbruh leta 2024 v severozahodnem delu države (Kranjsko-Sorško polje), ko je bilo evidentiranih 37 primerov tularemije; v 28 od teh primerov (75,7 %) se je razvila pljučna tularemija. Večina primerov je bila povezana s košnjo ali spravi-lom sena z intenzivnim prašenjem (3). Ta dogodek je jasno pokazal, da kljub nizki pojavnosti tularemija v Sloveniji ni zgolj teoretična nevarnost, temveč dejanska grožnja za javno zdravje.

Čeprav so primeri tularemije redki, vsak posamezen zahteva pozornost, ne le zaradi kliničnih izzivov, ampak tudi zaradi tveganja laboratorijske okužbe. Če klinični sum na tularemijo ni postavljen, se vzorci bolnikov (npr. hemokulture, brisi, biopsije) obdelajo po rutinskih protokolih, pogosto zunaj biološke varnostne komore, kar poveča možnost naključne izpostavljenosti laboratorijskega osebja *F. tularensis*. Inhalacijska pot okužbe zaradi aerosolov pri delu s kulturami je posebej nevarna in zahteva tretjo stopnjo biološke varnosti (angl. *biosafety level*, BSL-3) ob delu s kultiviranimi sevi.

V prispevku podajamo pregled literature o laboratorijskih okužbah s *F. tularensis* in o primerih izpostavljenosti, analiziramo dejavnike tveganja in zaščitne ukrepe ter predstavimo domače izkušnje iz slovenskih laboratorijev v zadnjih letih. Poseben poudarek namenjamo postavitvi algoritma za oceno tveganja ob potencialni izpostavljenosti ter obravnavi laboratorijskih delavcev ob dokumentirani izpostavljenosti v laboratoriju.

LABORATORIJSKE OKUŽBE S *F. TULARENSIS*

Večina držav nima vzpostavljenega enotnega, standardiziranega sistema vodenja laboratorijskih okužb. Podatki o njihovi pojavnosti so zato pogosto nepopolni ter temeljijo na posameznih raziskavah ali prostovoljnih prijavah, pri čemer je večina obsežnejših raziskav starejšega datuma, najboljše opredeljeni primeri laboratorijskih okužb pa izvirajo iz časa ameriškega programa razvoja biološkega orožja v štirideseatih in petdesetih letih 20. stoletja. V obdobju 1944–1956 so v Fort Detricku, Centru ameriške vojske za program biološkega orožja (zdaj program biološke obrambe) v Marylandu, ZDA, imeli 62 primerov laboratorijskih okužb s *F. tularensis* pri cepljenih posameznikih (4). Overholt in sodelavci (1961) so v istem centru v obdobju 1956–1959 opisali 42 primerov laboratorijsko pridobljene tularemije, večinoma pri cepljenih laboratorijskih delavcih, ki so se po vsej verjetnosti okužili prek aerosolov med delom s *F. tularensis* (5). Bolezen je imela pretežno blag do zmeren potek; zdravljenje s širokospektralnimi antibiotiki je prineslo hitro izboljšanje, vendar ob zgodnjem začetku terapije pogosto z relapsi, kar kaže na bakteriostatski učinek zdravil (5).

Največjo do zdaj izvedeno mednarodno analizo laboratorijsko pridobljenih okužb, objavljeno leta 1976, so opravili Pike in sodelavci, ki so obravnavali 3921 primerov s 159 različnimi povzročitelji. Ugotovili so, da je bila več kot polovica vseh primerov okužb posledica le desetih povzročiteljev; *F. tularensis* je po pogostosti zavzela peto mesto (6). Obsežna študija Vesleyja in Hartmanna, ki je zajela več kot 4000 delavcev v laboratorijih in v javnem zdravstvenem sistemu, je pokazala, da je tveganje za okužbo pri laboratorijskih delavcih (3,5/1000) večje kot pri zaposlenih v javnem zdravstvenem sistemu (1,4/1000) (7). Podobno je novejša raziskava Baron in Millerja iz leta 2008, ki je zajela 88 laboratorijev, pokazala, da so bili primeri laboratorijsko pridobljenih okužb prijavljeni v 33 odstotkih (29/88) vključenih laboratorijev (8).

F. tularensis je ena najbolj infektivnih bakterij, pri kateri že zelo nizka infektivna doza, ocenjena na zgolj 10–50 bakterij pri inhalacijski izpostavljenosti, zadostuje za okužbo (9, 10). Najpogostejši način okužbe v laboratoriju je nastanek aerosolov in inhalacija pri delu s kulturami, tveganje pa obstaja tudi ob neposrednem stiku z materialom ali poškodbah kože (11). Smernice Svetovne zdravstvene organizacije navajajo, da je respiratorna tularemija daleč najpogostejša oblika pri laboratorijsko pridobljenih primerih, pri čemer so analize pokazale prevladujočo pljučno prizadetost brez jasnega prepoznavnega trenutka izpostavitve (5, 12). Poročila o primerih kažejo, da do izpostavitve pogosto pride v okoliščinah, ko klinični sum na tularemijo ni postavljen in laboratorij ni ustrezno obveščen. Takrat je začetno ravnanje s hemokulturami ali drugimi vzorci pogosto opravljeno zunaj biološke varnostne komore, kar poveča možnost inhalacijske okužbe (8, 11).

V zgodovinskih pregledih Pike iz sedemdesetih let prejšnjega stoletja je bila tularemija med najpogostejše dokumentiranimi laboratorijskimi okužbami (6, 8, 11). Pred letom 1970 je bila incidenca v določenih laboratorijih zelo visoka – na primer 5,7 primera sistemske (tifoidne) tularemije na 1000 zaposlenih (13). Od sedemdesetih let dalje pa se je pojavnost laboratorijsko pridobljene tularemije postopno zmanjševala, kar pripisujejo vzpostavitvi bolj specializiranih laboratorijev z ustreznimi mikrobiološkimi varnostnimi komorami, večji ozaveščenosti o tveganjih za okužbo in uporabi cepiva LVS (12, 14). Kljub temu posamezni primeri še vedno niso izključeni; Lam in sodelavci so opisali primer mikrobiologinje, ki je pri delu s kulturo *F. tularensis* v laboratoriju BSL-3 in ob dosledni uporabi osebne varovalne opreme zbolela

za pljučno obliko tularemije, sprva napačno diagnosticirano kot virusna okužba v času pandemije H1N1 (15).

IZPOSTAVLJENOST *F. TULARENSIS* V BAKTERIOLOŠKIH LABORATORIJIH

Kljub uvedbi strogih bioloških varnostnih protokolov je laboratorijska izpostavljenost *F. tularensis* še vedno resno tveganje za mikrobiologe in ostale sodelavce v bakterioloških laboratorijih. Shapiro in Schwartz sta opisala primer, ko so bili laboratorijski delavci izpostavljeni *F. tularensis* kljub jasno vzpostavljenim protokolom za ravnanje v primeru bioterorizma (16). Laboratorijsko osebje namreč ni bilo vnaprej obveščeno, da bi lahko bila v kliničnih vzorcih pacienta (kri, respiratorni vzorci ter obdukcijski vzorci tkiv ter tekočin in tkiv) prisotna *F. tularensis*. Čeprav so bili vzorci primarno zasejani v varnostnih komorah, so bakterijske kolonije, ki so jih zmotno opredelili kot *Haemophilus spp.*, pozneje obdelovali na odprti delovni površini brez ustrezne osebne varovalne opreme (16). Izpostavljenih je bilo 12 članov osebja, od katerih jih je 11 prejelo profilaktično terapijo z doksiciklinom, pri eni noseči laboratorijski delavki pa so izvajali zgolj nadzor telesne temperature. Kljub izpostavljenosti se pri nikomer od zaposlenih ni razvila klinična slika tularemije (16).

Morse in Henkel sta v svoji raziskavi analizirala prijave zveznemu Programu za izbrane povzročitelje (angl. *Federal Select Agent Program*) v obdobju 2011–2015, z namenom oceniti uporabljene laboratorijske metode za identifikacijo *F. tularensis* in kategorizacijo poročane poklicne izpostavljenosti (17). Prijavljene poklicne izpostavitve so se pojavljale s pogostnostjo 33,8 na 100 izoliranih sevov *F. tularensis* v kliničnih laboratorijih, 14,0 na 100 v veterinarskih in 0,4 na 100 v referenčnih laboratorijih. Povprečno število izpostavljenih delavcev na prijavljen dogodek je znašalo 3,2 v kliničnih, 2,4 v referenčnih, 5,1 v veterinarskih in 0,9 v raziskovalnih laboratorijih (17). Poudarila sta, da je laboratorijska izpostavljenost *F. tularensis* pogosto povezana z nepričakovanimi vzorci, pri katerih laboratorij ni bil vnaprej opozorjen na možnost tularemije. Največje tveganje predstavljajo hemokulture, respiratorni vzorci ter brisi kože ali ran, kjer se bakterija pogosto poraste v obliki majhne kolonije na čokoladnem agarju po več kot 48 urah inkubacije (17). Ob tem velja dodati, da je v literaturi opisanih nekaj primerov, ko je po precepljanju pozitivne hemokulture *F. tularensis* porasla tudi na krvnem agarju (enako potrjujejo izkušnje enega od slovenskih laboratorijev), najverjetneje zato, ker je iz bujona hemokulture stekleničke prejela dovolj rastnih faktorjev, ki jih krvni agar sicer ne vsebuje (18, 19).

Aftab s sodelavci (2025) je opisal klinični primer okužbe umetnega sklepa, kjer je *F. tularensis* porasla iz periprotetičnih tkivnih vzorcev, kar je vodilo v izpostavljenost dveh laboratorijskih sodelavcev v enem od danskih mikrobioloških laboratorijev (20). Ker je šlo za popolnoma nepričakovanega povzročitelja okužbe vsadka, je laboratorijski delavec, ki je opravil identifikacijo z masno spektrometrijo MALDI-TOF, predhodno delal s kulturo in pripravil suspenzijo za testiranje občutljivosti na odprti delovni površini (20). Zaradi možnosti tvorbe aerosolov je prejel antibiotično profilakso. Drugi laboratorijski delavec je delal v istem prostoru, vendar na razdalji več kot 2 metra, zato je prejel navodila za samoopazovanje in ustrezno napotitev, če bi se pojavili simptomi, značilni za tularemijo (20).

Opisani primeri poudarjajo, da tveganje za laboratorijsko izpostavljenost *F. tularensis* pogosto ni toliko odvisno od strogosti varnostnih protokolov kot pa od pra-

vočasnega kliničnega prepoznavanja in ustrezne komunikacije med zdravnikom in laboratorijem. Kadar vzorci niso pravočasno prepoznani kot možen vir okužbe, je izpostavitve mogoča tudi v visoko reguliranih laboratorijih. Zato so še toliko bolj pomembni stalna ozaveščenost, redno usposabljanje laboratorijskega osebja, sprotno posodabljanje standardnih operativnih postopkov ter dobra komunikacija med klinikom in laboratorijem.

UKREPI ZA PREPREČEVANJE IZPOSTAVLJENOSTI

F. TULARENSIS V BAKTERIOLOŠKIH LABORATORIJIH

Največje tveganje prinaša nepričakovana identifikacija *F. tularensis*, kjer ni bil postavljen klinični sum na tularemijo oziroma laboratorij o možnosti tularemije ni bil obveščen. Glede na klinično sliko je *F. tularensis* lahko prisotna v brisih ali bioptih ulkusov ali njihovih eksudatih, hemokulturi, izločkih dihal, v sklepnih in drugih telesnih tekočinah ter brisih očesne veznice ali roženice (2, 12, 21). Še zlasti pozorni moramo biti pri drobnih kolonijah na čokoladnem agarju in njegovih ekvivalentih, ki porastejo po več kot 48 urah inkubacije in kjer ni vidne rasti na agarju MacConkey. V kliničnih laboratorijih so *F. tularensis* ob izpostavljenosti največkrat zamenjali za *Haemophilus* spp., redkeje za *Campylobacter* spp., *Pasteurella* spp. ali *Legionella* spp. (17). Splošno sprejeti varnostni algoritmi pri delu v bakteriološkem laboratoriju vključujejo navodilo, da v primeru po Gramu negativnih kokobacilov v mikroskopskem preparatu hemokulture, ki je bila pozitivna po več kot 24 urah inkubacije, vse nadaljnje ravnanje s hemokulturo izvajamo v biološki varnostni komori, ob uporabi rokavic in delovne obleke, vse do identifikacije bakterije. Na tak način se močno zmanjša možnost izpostavitve v primeru obeh visoko patogenih bakterij – *Brucella* spp. in *F. tularensis* (16, 21). V pomoč je lahko tudi barvanje z akridin oranžem, kjer naj bi bili kokobacili bolj očitni kot pri barvanju po Gramu (18).

Osnova ukrepov za preprečevanje izpostavljenosti visoko patogenim bakterijam, vključno s *F. tularensis*, so (povzeto po Barron in Miller, 2008):

- i) dobro vzpostavljeni in nedvoumno oblikovani varnostni protokoli v bakteriološkem laboratoriju ter skrbno usposabljanje zaposlenih glede tveganj pri delu z mikroorganizmi in uporabe osebne varovalne opreme; potrebna so tudi redna obnovitvena izobraževanja, priporočljivo enkrat letno;
- ii) obdelava bakterijskih kultur z drobno rastjo (< 1 mm) na čokoladnem agarju po > 24 urah inkubacije, ki ne rastejo na agarju MacConkey, ter vseh hemokultur in likvorjev, kjer so v mikroskopskem preparatu vidni po Gramu negativni kokobacili, v biološki varnostni komori z ustrezno osebno varovalno opremo;
- iii) uporaba tehničnih rešitev v laboratoriju, kot so avtomatske pipe, avtomatski podajalniki papirnatih brisač;
- iv) uporaba rokavic pri delu s kliničnimi vzorci in bakterijskimi kulturami, takojšnja zaščita (zaprtje) gojišč s sumljivo rastjo; uporaba vizirjev, kadar lahko nastanejo aerosoli; uporaba alkoholnih gelov za razkuževanje rok; skrb za razkuževanje predmetov v laboratoriju (telefoni, vijaki na mikroskopu, ročaji vozičkov);
- v) takojšnji pregled rezultatov identifikacije nenavadnih, zahtevnejših, počasi rastočih bakterijskih kultur;

- vi) prerazporeditev sodelavcev z oslabiljenim imunskim sistemom na druga delovišča;
- vii) vzpostavitev ustrezne politike obveščanja o sumu na visoko patogene mikroorganizme (8).

V vseh kliničnih laboratorijih mora biti vzpostavljen nadzor nad izpostavljenostjo na delovnem mestu, z ustreznim dokumentiranjem in po potrebi s sodelovanjem z infektologi glede predpisovanja profilakse. Najpomembnejši dejavnik pri preprečevanju izpostavljenosti je ustrezno in redno usposabljanje zaposlenih.

ALGORITEM UKREPANJA OB POTRJENI IZPOSTAVLJENOSTI F. TULARENSIS

Ker se v večini rutinskih laboratorijev bakterijske kulture iz kliničnih vzorcev z izjemo hemokultur in likvorja obdeluje na pultu (identifikacija, precepljanje tekočih gojišč, izdelava antibiograma ...), obstaja pri diagnostičnem delu tveganje za okužbo. Zato je bistveno, da je diagnostični laboratorij ob pošiljanju kliničnih vzorcev obveščen o možnosti tularemije kot diferencialne diagnoze, saj le tako lahko poskrbimo za ustrezno varnost pri delu.

V bakteriološkem laboratoriju je ob nepričakovani potrjeni identifikaciji bakterijske kulture *F. tularensis* potrebno najprej opredeliti tveganje izpostavljenosti. To je največje ob izpostavljenosti aerosolom, ki lahko povzročijo respiratorno tularemijo, najpogostejšo obliko bolezni ob laboratorijski okužbi. Infektivna doza *F. tularensis* je izjemno nizka, saj okužbo ob inhalaciji lahko povzroči že od 10 do 50 bakterij (12, 17).

V raziskavi Morse in Henkel, kjer so v okviru CDC (angl. *Centers for Disease Control and Prevention*, CDC) preverjali poročanje poklicne izpostavljenosti *F. tularensis*, so tveganje za okužbo na obrazcih za poročanje opredelili kot **nizko**, **zmerno** ali **visoko** glede na vrsto izvajanega laboratorijskega postopka in uporabo osebne varovalne opreme (17). Izpostavljenosti z nizkim tveganjem so predstavljale 87,7 % prijav; sem so se uvrstili incidenti v raziskovalnih laboratorijih, kjer je bila izpostavljenost posameznikov omejena z uporabo osebne varovalne opreme in delom v laboratoriju BSL-3, ter izpostavljenosti v kliničnih laboratorijih, ki so bile posledice subkultivacije pozitivnih hemokulturnih stekleničk, barvanja po Gramu in drugih postopkov, izvedenih v laboratoriju druge stopnje biološke varnosti (BSL-2). Zmerno in visoko tvegana izpostavljenost je bila opredeljena ob urezninah, vbodih z iglami, ugrizih živali (v raziskavo so bili vključeni tudi veterinarski laboratoriji). Zmerna izpostavljenost v bakterioloških laboratorijih je bila opredeljena tudi pri »vohanju« bakterijskih kultur in vorteksiranju suspenzij z bakterijsko kulturo na odprti delovni površini (17).

Ob izpostavljenosti je treba najprej odkriti aktivnost, ki je pripeljala do izpostavitve. Na podlagi teh aktivnosti se namreč opredeli tveganje za okužbo in sprejme odločitve o uporabi antibiotične profilakse. Sledijo ukrepi:

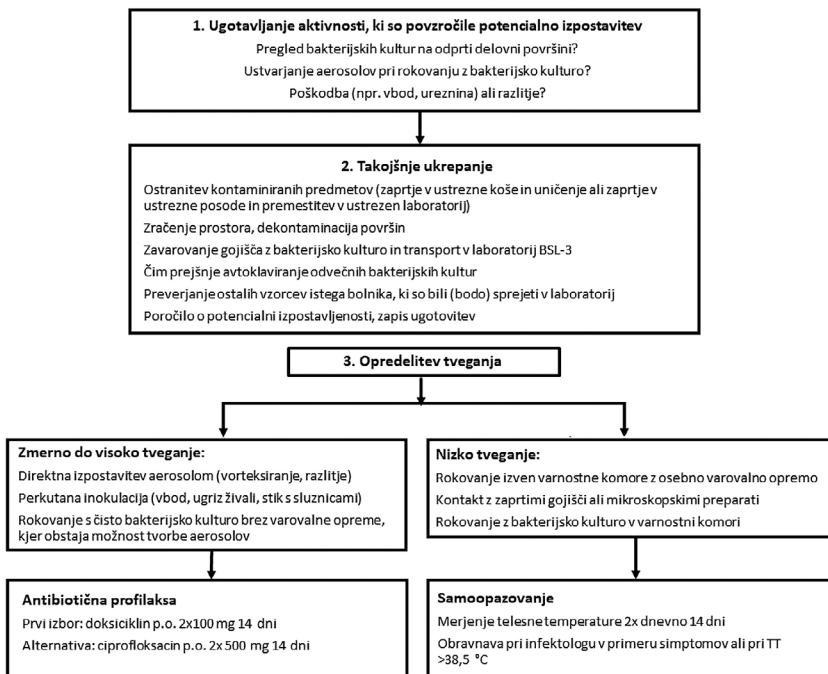
- i) Identifikacija kontaminiranih predmetov in njihova ustrezna odstranitev (zaprtje v ustrezne koše in uničenje oziroma zaprtje v ustrezno označene posode, primerne za transport nevarnih snovi in premestitev v ustrezen laboratorij), zračenje prostora in dekontaminacija površin (22).
- ii) Zavarovanje bakterijske kulture ob identifikaciji (uporaba parafilma, vrečk za biohazard, nato še zrakotesna posoda) in posredovanje v laboratorij BSL-3. Vsa odvečna gojišča čim prej avtoklaviramo; prihranimo le gojišča za pošil-

ljanje v slovenski referenčni laboratorij (IMI MF UL, Laboratorij za diagnostiko zoonoz in laboratorij SZO) skladno z delegirano uredbo Komisije (EU) 2024/2547. Vsebino in zunanost embalaže ustrezno označimo.

- iii) Potrebno je preveriti tudi, kateri drugi klinični vzorci bolnika so bili sprejeti (ali pa še bodo sprejeti) v mikrobiološki laboratorij in jih ustrezno označiti ter znotraj laboratorija ali inštituta obvestiti sodelavce. Ravnanje s kliničnimi vzorci takega bolnika se izvaja v biološki varnostni komori, ob upoštevanju pogojev, ki ustrezajo ravni BSL-3; vsako nadaljnje rokovanje z bakterijskimi kulturami istega bolnika se izvaja v laboratoriju BSL-3.
- iv) Identifikacija vseh oseb, ki so delale s kulturo *F. tularensis*; incident je potrebno ustrezno dokumentirati, izpostavljene osebe pa napotiti na obravnavo, kjer je na podlagi ocene tveganja za okužbo sprejeta odločitev, ali bodo **izpostavljene osebe le opazovane in spremljane (t. i. feverwatch oziroma samoopazovanje)** ali pa bo **vedena antibiotična profilaksa** (23) (Slika 1).

Ocena tveganja in zahteve za zagotavljanje varnosti in zdravja laboratorijskih delavcev so opredeljeni tudi v Pravilniku o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkim dejavnikom pri delu (Uradni list RS št.168/20 in 12/24). Skladno s Pravilnikom *F. tularensis* glede na tveganje za okužbo spada v 2. ali 3. skupino (*F. tularensis* subsp. *tularensis*). Izvedena mora biti ocena tveganja, opredeljena v 3. in 4. členu Pravilnika, delodajalec pa mora izpolniti svoje obveznosti skladno s členi 5–14 glede zmanjševanja tveganja, dostopa do podatkov, higienskih in individualnih ukrepov, usposabljanja, obveščanja, vodenja dokumentacije in zdravstvenega nadzora.

Slika 1. Algoritem ukrepanja ob potrjeni izpostavljenosti *F. tularensis* v laboratoriju.



Samoopazovanje

Pri samoopazovanju oziroma opazovanju vročine izpostavljene osebe dnevno spremljajo svojo telesno temperaturo in v primeru vročine (telesna temperatura nad 38,5 °C) takoj poiščejo zdravniško pomoč ter začnejo antibiotično zdravljenje tularemije. Merila za odločanje o opazovanju ali takojšnji profilaksi niso natančno opredeljena, pri odločanju je treba upoštevati naslednje dejavnike: i) narava izpostavljenosti (laboratorijski postopki s potencialnim tvorjenjem aerosolov, vdihavanje bakterijske kulture, izvajanje postopkov na odprti delovni površini, uporaba osebne varovalne opreme); ii) inkubacijska doba (tipična inkubacijska doba za tularemijo je 3–7 dni, z razponom 1–14 dni; ob identifikaciji mikroorganizma je lahko del tega obdobja že minil, v tem primeru je preostalo tveganje za okužbo nizko); iii) stopnja zaskrbljenosti (nekateri laboratorijski delavci so zelo zaskrbljeni zaradi tveganja okužbe, drugi pa morda bolj zaradi nepotrebnega jemanja antibiotikov) (23).

Antibiotična profilaksa

Pri odraslih osebah se za profilakso pri izpostavljenosti *F. tularensis* običajno priporoča doksiciklin (100 mg peroralno dvakrat dnevno 14 dni). Alternativna možnost je ciprofloksacin (500 mg peroralno dvakrat dnevno 14 dni), ki ga ameriška Uprava za hrano in zdravila (angl. *Food and Drug Administration*; FDA) za profilakso tularemije sicer ni odobrila, vendar je bila njegova učinkovitost pri preprečevanju tularemije dokazana v različnih kliničnih študijah, zato je lahko primeren za bolnike, ki ne morejo jemati doksiciklina (23).

Cepljenje

Do nedavne je bilo za zaščito laboratorijskih delavcev, ki rutinsko delajo s *F. tularensis*, na voljo oslABLJENO cepivo LVS. Danes ni več dostopno, saj je imelo številne pomanjkljivosti (24). Trenutno obstaja veliko zanimanje za razvoj novega cepiva, ne le za zaščito oseb z večjim tveganjem za okužbo (npr. laboratorijski delavci ali raziskovalci, ki rutinsko delajo s *F. tularensis*), temveč tudi v okviru protiterorističnih prizadevanj za obrambo pred biološkim orožjem (25).

DOKUMENTIRANA IZPOSTAVLJENOST *F. TULARENSIS* V BAKTERIOLOŠKIH LABORATORIJIH V SLOVENIJI V OBDOBJU 2020–2025

Na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo (IMI) UL MF so v zadnjih petih letih zaznali dve izpostavljenosti kulturi *F. tularensis* v bakterioloških laboratorijih.

V letu 2021 so iz hemokulture, odvzete bolnici brez posebnih epidemioloških okoliščin ali klinično postavljenega suma na tularemijo, po 18 urah inkubacije na čokoladnem agarju porasle drobne kolonije bakterij. V mikroskopskem preparatu, izdelanem prejšnji dan v času dežurstva, ni bilo videti bakterijskih celic, zato je bila hemokultura obdelana po protokolu za lažno pozitivne hemokulture v biološki varnostni komori. Pregled rasti na gojiščih in delo z bakterijsko kulturo za namen identifikacije z MALDI-TOF sta bila izvedena na odprti delovni površini zunaj varnostne komore, zaposlena je uporabljala obrazno masko (obdobje epidemije covid-19). Potencialno izpostavljeni sta bili dve osebi, vendar je bila izpostavljenost oprede-

ljena kot nizko tvegana, zato sta se obe osebi po ustrezni obravnavi pri infektologu odločili za samoopazovanje. Nobena se ni okužila.

Leta 2022 so prejeli bris očesne veznice bolnika, poslan na preiskavo na patogene bakterije, brez klinično postavljenega suma na tularemijo. Po 24 urah inkubacije na gojiščih ni bilo zaznane rasti, po 72 urah inkubacije (po 48 urah kultura ni bila pregledana, ker je bila nedelja) pa je bila na čokoladnem agarju vidna drobna rast, podobna *Haemophilus* spp. Gojišča so bila pregledana na odprti delovni površini, izvedeno je bilo precepljanje tekočega gojišča in identifikacija z MALDI-TOF, ki je potrdila *F. tularensis*. Bolnik je imel sicer redko obliko okuloglandularne tularemije. Ob delu z bakterijsko kulturo je bilo zaradi takratne prostorske stiske laboratorija v neposredni bližini pet potencialno izpostavljenih oseb. Tveganje za izpostavljenost je bilo opredeljeno kot zmerno, štiri osebe so se po obravnavi pri infektologu odločile za antibiotično profilakso. Nihče od izpostavljenih ni bil okužen.

Po teh dogodkih je bilo pripravljenih več aktivnosti, s katerimi so poskušali zmanjšati tveganje za izpostavljenost visoko patogenim bakterijam vsaj v okoliščinah, ko je pravočasno postavljen klinični ali laboratorijski sum na tovrstno okužbo. Izpopolnjeni so bili varnostni protokoli in algoritmi v bakterioloških laboratorijih, izvedeno je bilo izobraževanje za zaposlene o potencialnih tveganjih za okužbo pri delu, v laboratorijskem informacijskem sistemu so vzpostavili oznako za biohazard pri bolnikih, katerih kužnine so bile sprejete na IMI in so bile pri njih naročene preiskave na visoko patogene bakterije (npr. PCR ali serologija na *Brucella* spp., *F. tularensis*, *Coxiella* spp., *B. anthracis*).

V Nacionalnem laboratoriju za zdravje, okolje in hrano (NLZOH) so leta 2025 obravnavali pozitivno aerobno hemokulturo, odvzeto pri bolniku s pljučnico, brez posebnih epidemioloških okoliščin. V mikroskopskem preparatu, obarvanem po Gramu, mikroorganizmov ni bilo videti, zato je bila hemokultura obdelana po protokolu za lažno pozitivne hemokulture v biološki varnostni komori. Po 24 urah inkubacije na gojiščih, ki so bila pregledana na odprti delovni površini, ni bilo rasti, po 48 urah pa je bila vidna šibka rast na čokoladnem in krvnem agarju. Zaradi počasne rasti je mikrobiolog upošteval možnost *F. tularensis* ali *Brucella* spp., zato je bila priprava za identifikacijo z MALDI-TOF (nanos kulture in reagentov na ploščico) izvedena v varnostni komori. Ob identifikaciji *F. tularensis* so prostor zaprli, obvestili zaposlene in laboratorij več ur zračili. Preučili so druge prejete vzorce bolnika in ugotovili, da so pred dnevi obravnavali bris nazofarinksa za molekularno dokazovanje povzročiteljev in urin na antigene legionele in pnevmokoka, za kar zadoščajo rutinski varnostni ukrepi (uporaba osebne varovalne opreme in varnostne komore). Možnost izpostavljenosti je bila največja pri mikrobiologu, ki je po 48 urah pregledal rast na gojiščih, bistveno manjša verjetnost za izpostavljenost je bila ugotovljena pri sodelavcu, ki je gojišča pregledal po 24 urah, in tehniku, ki je bil v prostoru le kratek čas. Ker se z bakterijsko kulturo ni delalo zunaj varnostne komore, so izpostavljenost ocenili kot nizko tvegano. Epidemiolog in infektolog sta odločitev o antibiotični profilaksi ali samoopazovanju prepustila izpostavljenim osebam, vsi trije potencialno izpostavljeni so se odločili za samoopazovanje; nobeden se ni okužil. Vse zaposlene so takoj preventivno (če bi bila kakšna izpostavljenost spregledana) obvestili o primeru in jim svetovali, naj ob morebitnih znakih okužbe (vročina, slabo počutje) opozorijo, da so v laboratoriju obravnavali kulturo *F. tularensis*, in pokličejo vodjo. Postopki v nadaljevanju so potekali po predpisanih poteh, identifikacijo so potrdili na IMI. Bol-

nišnico so prosili, naj jih o morebitnih nadaljnjih vzorcih bolnika vnaprej obvešča, za preiskavo na patogene bakterije so naknadno odvzeli še vzorec plevralnega punktata, likvor in sputum, ki so jih poslali na IMI; nadaljnjih izpostavitvev ni bilo.

ZAKLJUČEK

Laboratorijske okužbe s *F. tularensis* kljub redkosti pomenijo pomembno tveganje za osebe, zlasti ob nepričakovani prisotnosti bakterije v kliničnih vzorcih. Med najpomembnejšimi ukrepi za preprečevanje izpostavljenosti so pravočasno obveščanje laboratorija, dosledna uporaba biološke varnostne komore ter redno izobraževanje laboratorijskih delavcev o tveganjih in ustreznih postopkih ob sumu na visoko patogene mikroorganizme.

LITERATURA

1. Dennis DT, Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, et al. Tularemia as a biological weapon: medical and public health management. *JAMA*. 2001;285(21):2763–73. doi:10.1001/jama.285.21.2763.
2. Antonello RM, Giacomelli A, Riccardi N. Tularemia for clinicians: an up-to-date review on epidemiology, diagnosis, prevention and treatment. *Eur J Intern Med*. 2025;135:25–32. doi:10.1016/j.ejim.2025.03.013.
3. Grmek Košnik I, Orožan K, Ribnikar M, Grilc E, Bitežnik B, Korva M, et al. An outbreak of pulmonary tularemia in Slovenia in summer 2024. *Epidemiologia (Basel)*. 2025;6(3):51. doi:10.3390/epidemiologia6030051.
4. Van Metre TE Jr, Kadull PJ. Laboratory-acquired tularemia in vaccinated individuals: a report of 62 cases. *Ann Intern Med*. 1959;50(3):621–32. doi: 10.7326/0003-4819-50-3-621.
5. Overholt EL, Tigertt WD, Kadull PJ, Ward MK, Charkes ND, Rene RM, et al. An analysis of forty-two cases of laboratory-acquired tularemia. Treatment with broad spectrum antibiotics. *Am J Med*. 1961;30:785–806. doi:10.1016/0002-9343(61)90214-5.
6. Pike RM. Laboratory-associated infections: summary and analysis of 3921 cases. *Health Lab Sci*. 1976;13:105–114.
7. Vesley D, Hartmann HM. Laboratory-acquired infections and injuries in clinical laboratories: a 1986 survey. *Am J Public Health*. 1988;78(9):1213–5. doi:10.2105/ajph.78.9.1213.
8. Baron EJ, Miller JM. Bacterial and fungal infections among diagnostic laboratory workers: evaluating the risks. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;60(3):241–6. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2007.09.016.
9. Jones RM, Nicas M, Hubbard A, Sylvester MD, Reingold AL. The infectious dose of *Francisella tularensis* (tularemia). *Appl Biosaf*. 2005;10(4):227–39. doi:10.1177/153567600501000405.
10. McCrumb FR. Aerosol infection of man with *Pasteurella tularensis*. *Bacteriol Rev*. 1961;25(3):262–7. doi:10.1128/br.25.3.262-267.1961.
11. Singh K. Laboratory-acquired infections. *Clin Infect Dis*. 2009;49(1):142–7. doi:10.1086/599104.
12. World Health Organization. WHO guidelines on tularaemia. Geneva: World Health Organization; 2007 [citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: <https://iris.who.int/handle/10665/43793>.
13. Burke DS. Immunization against tularemia: analysis of the effectiveness of live *Francisella tularensis* vaccine in prevention of laboratory-acquired tularemia. *J Infect Dis*. 1977;135(1):55–60. doi:10.1093/infdis/135.1.55.
14. Rusnak JM, Kortepeter MG, Hawley RJ, Anderson AO, Boudreau E, Eitzen E. Risk of occupationally acquired illnesses from biological threat agents in unvaccinated laboratory workers. *Biosecur Bioterror*. 2004;2(4):281–93. doi:10.1089/bsp.2004.2.281.
15. Lam ST, Sammons-Jackson W, Sherwood J, Ressler RE. Laboratory-acquired tularemia successfully treated with ciprofloxacin. *Infect Dis Clin Pract*. 2012;20:204–7. doi:10.1097/IPC.0b013e318234c383.
16. Shapiro DS, Schwartz DR. Exposure of laboratory workers to *Francisella tularensis* despite a bioterrorism procedure. *J Clin Microbiol*. 2002;40(6):2278–81. doi:10.1128/JCM.40.6.2278-2281.2002.
17. Morse S, Henkel R. *Francisella tularensis*: understanding reported occupational exposures and laboratory methods used for identification. *Appl Biosaf*. 2018;23(1):11–8. doi:10.1177/1535676017746695.

18. Kakoullis L, Pitman J, Flier L, Colgrove R. Fever and Ulcerative Skin Lesions in a Patient Referred for Altered Mental Status: Clinical and Microbiological Diagnosis of Ulceroglandular Tularemia. *Trop Med Infect Dis.* 2022;7(9):220. doi: 10.3390/tropicalmed7090220.
19. Gavina K, Whitacre BE, Meyer TL, Van Bentem K, Glazier M, Emery CL, et al. The brief case: suspicious Gram-negative coccobacilli-*Francisella tularensis* subsp. *novicida* isolated from an immunocompromised patient. *J Clin Microbiol.* 2023;61(6):e0078722. doi: 10.1128/jcm.00787-22.
20. Aftab H, Ronayne A, El-Galaly A, Foged C, Schønning K. Prosthetic joint infection as an unusual presentation of *Francisella tularensis* causing exposure of laboratory personnel. *IDCases.* 2025;39:e02195. doi:10.1016/j.idcr.2025.e02195.
21. Cornish NE, Anderson NL, Arambula DG, Arduino MJ, Bryan A, Burton NC, et al. Clinical laboratory biosafety gaps: lessons learned from past outbreaks reveal a path to a safer future. *Clin Microbiol Rev.* 2021;34(3):e0012618. doi:10.1128/CMR.00126-18.
22. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Factsheet about tularaemia. Stockholm: ECDC; 2023 [citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/tularaemia/facts>.
23. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Managing potential laboratory exposures to *Francisella tularensis*. Atlanta: CDC; 2025 [citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: <https://www.cdc.gov/tularemia/hcp/laboratory-exposure/index.html>.
24. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Preventing tularemia. Atlanta: CDC; 2025 [citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: <https://www.cdc.gov/tularemia/prevention/index.html>.
25. Hong KJ, Park PG, Seo SH, Rhie GE, Hwang KJ. Current status of vaccine development for tularemia preparedness. *Clin Exp Vaccine Res.* 2013;2(1):34–9. doi:10.7774/cevr.2013.2.1.34.

***Neisseria meningitidis* – laboratorijske okužbe in obvladovanje tveganj**

Neisseria meningitidis – laboratory infections and risk management

Julija Germ,¹ Petra Piber,² Andrej Rojnik³

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: *Neisseria meningitidis*, aerosol, poizpostavitvena kemoprofilaksa, cepljenje, okužba v laboratoriju, BSL-protokoli.

Laboratorijske okužbe pomenijo tveganje za zdravstveno osebje pri delu z nalezljivimi mikroorganizmi. Glavni vzrok za prenos prek aerosolov, vbodov ali stika s kožo so človeške napake. Okužba z bakterijo *Neisseria meningitidis* je redka, a potencialno resna laboratorijska okužba. Nastane lahko pri obdelavi bakterijskih kultur zunaj varnostne komore, kjer se lahko tvorijo nalezljivi aerosoli.

Za preprečevanje okužb so najpomembnejši varnostni ukrepi, kot so delo v varnostnih komorah, uporaba osebne zaščitne opreme in spoštovanje protokolov ustrezne biovarstvene stopnje. Cepljenje proti meningokoku (MenACWY in MenB) je pomemben preventivni ukrep za laboratorijsko osebje, ob morebitni izpostavitvi pa je nujna takojšnja poizpostavitvena kemoprofilaksa. Kombinacija teh ukrepov, izobraževanja in protokolov ob izpostavitvi zagotavlja učinkovito zaščito zaposlenih pred invazivnimi meningokoknimi okužbami.

ABSTRACT

KEY WORDS: *Neisseria meningitidis*, aerosol, post-exposure prophylaxis, vaccination, laboratory-acquired infection, BSL protocols

Laboratory infections pose a risk to healthcare personnel working with infectious microorganisms, with human errors being the main cause of transmission through aerosols, needle sticks, or skin contact. Infection with the bacterium *Neisseria meningitidis* is rare but can be a potentially serious laboratory-acquired infection, which may occur when handling bacterial cultures outside a safety cabinet due to aerosol generation.

¹ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 4, 1000 Ljubljana

² Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana

³ Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Celje, Gregorčičeva ulica 5, 3000 Celje

Korespondenca: julija.germ@mf.uni-lj.si

Avtorji nimamo navzkrižja interesov.

To prevent infections, key safety measures include working in safety cabinets, using personal protective equipment, and adhering to biosafety-protocols. Vaccination against meningococcus (MenACWY and MenB) is an important preventive measure for laboratory personnel, and in the event of potential exposure, immediate post-exposure chemoprophylaxis is essential. The combination of these measures, along with training and exposure-response protocols, provides effective protection for employees against invasive meningococcal infections.

UVOD

Laboratorijske okužbe

Kot laboratorijske opredeljujemo tiste okužbe, ki nastanejo pri delu z nalezljivimi ali potencialno patogenimi mikroorganizmi v laboratorijskih razmerah – bodisi v diagnostične, raziskovalne ali industrijskorazvojne namene. Prinašajo neposredno tveganje za zdravje zaposlenih, ki prihajajo v stik s povzročitelji bolezni, hkrati pa lahko imajo tudi hude javnozdravstvene posledice (1).

Po podatkih iz literature je približno 70 odstotkov laboratorijskih okužb posledica človeške napake. Najpogostejša mehanizma prenosa sta inhalacija aerosoliziranih delcev in vbod z okuženimi ali kontaminiranimi pripomočki, sledita pa nenamerno zaužitje ter vnos skozi sluznice ali poškodovano kožo (1).

Med najpogostejše dokumentiranimi povzročitelji laboratorijskih okužb so:

- bakterije, kot so *Brucella* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Francisella tularensis*;
- virusi, npr. virusi hepatitisa B in C, arbovirusi ter virusi hemoragičnih mrzlic (npr. virus *Lassa*);
- paraziti, kot so *Plasmodium* spp. in *Leishmania* spp. (1–4).

Neisseria meningitidis

N. meningitidis (oziroma meningokok) je po Gramu negativen diplokok, njegov edini naravni gostitelj je človek, pri katerem kolonizira predvsem nosno-žrelni prostor. Asimptomatski nosilci so približno 2 odstotka otrok, mlajših od pet let, ter približno četrtnina mladostnikov, starih med 15 in 19 let. Nosilstvo je glavni rezervoar za širjenje bakterije v populaciji (5).

Gre za oportunistično bakterijo, ki lahko v določenih okoliščinah preide epiteljsko in krvno-možgansko pregrado ter povzroči invazivno bolezen, najpogosteje v obliki gnojnega meningitisa ali meningokokne sepse, povzroča pa tudi epidemije (5).

Na podlagi značilnosti polisaharidne kapsule razvrščamo *N. meningitidis* v 13 seroloških skupin, pri čemer več kot 90 odstotkov invazivnih izolatov pripada skupinam A, B, C, X, Y in W-135. V Evropi prevladujejo seroskupine B, C in Y (5). Kapsula je poglavni virulentni dejavnik, saj bakterijo ščiti pred fagocitozo. Nekapsulirani sevi so običajno nepatogeni oziroma bistveno manj virulentni (5). Kljub temu so opisani redki primeri invazivne bolezni, ki jo je povzročil nekapsulirani sev, zlasti pri osebah z imunskimi pomanjkljivostmi (6).

Meningokoki se širijo kapljično, s kašljanjem in kihanjem, redkeje posredno prek kontaminiranih predmetov. Čeprav je preživetje *N. meningitidis* zunaj gostitelja kratkotrajno, lahko nekaj ur ali dni preživi na steklu ali plastiki (7). Mehanizmi, ki omogočajo prehod iz nosno-žrelnega prostora v krvni obtok, niso povsem pojasnjeni (5). Invazivna meningokokna bolezen je sicer redka – po podatkih Nacionalnega

inštituta za javno zdravje (NIJZ) je bilo v Sloveniji leta 2022 prijavljenih 7 primerov (8). Ker spada v 1. skupino nalezljivih bolezni, je njeno pojavljanje po zakonu treba prijaviti, in sicer epidemiologu na območni enoti NIJZ v treh do šestih urah po potrditvi diagnoze (9). Inkubacijska doba okužbe z *N. meningitidis* traja od 2 do 10 dni, najpogosteje 3–4 dni.

***N. meningitidis* kot laboratorijska okužba**

Neisseria meningitidis sicer velja za redkega povzročitelja laboratorijsko pridobljenih okužb, vendar so tovrstne okužbe pogosto povezane z neugodno prognozo (1). Po podatkih iz obdobja 1979–2015 je bil ta povzročitelj po pogostosti laboratorijskih okužb uvrščen na deseto mesto (10).

Ocenjuje se, da je tveganje za okužbo pri pripravi suspenzije iz kulture bakterij *N. meningitidis* zunaj varnostne komore večje kot pri tesnem stiku z bolnikom (11). Smrtnost med laboratorijskim osebjem, ki se okuži z *N. meningitidis*, pa je po opisanih primerih iz literature visoka – po nekaterih ocenah celo višja kot v splošni populaciji pri invazivni okužbi (4, 12).

Bakterija se lahko širi z aerosolnimi kapljicami, zato so tovrstni postopki v laboratorijskem okolju (npr. vorteksiranje, priprava suspenzije za izdelavo antibiotograma) posebno tvegani (5). Manj je znano tveganje za okužbo ob delu s kulturo *N. meningitidis* zunaj varnostne komore, kadar je možnost tvorbe aerosola majhna (npr. identifikacija z MALDI-TOF). Barkham in sod. so skušali oceniti tveganje za okužbo z meningokokom ob prepoznavanju bakterije na podlagi vonja. Ocenjena je bila kot majhna, kljub temu pa tovrstno pomoč pri identifikaciji bakterije odsvetujejo (13). V analizi dokumentiranih laboratorijskih meningokoknih okužb v ZDA je bilo opisanih 19 primerov, 15 (94 %) od teh je bilo povezanih z delom brez ustrezne zaščite proti aerosolu, torej brez uporabe varnostne laminarne komore ali zaščitne maske (12, 14, 15).

V mikrobiološkem laboratoriju *N. meningitidis* najpogosteje izoliramo iz respiratornih vzorcev, krvi ali likvorja, redkeje iz urogenitalnega trakta ali očesne veznice (9). Za identifikacijo se danes najpogosteje uporablja masna spektrometrija MALDI-TOF. Bakterijo gojimo pri 35–37 °C in 2–10 % CO₂, najpogosteje na čokoladnem agarju, kjer tvori sive, svetleče in rahlo izbočene kolonije s premerom 0,5–1 mm (5).

Izolate *N. meningitidis* v laboratoriju opredelimo kot invazivne ali neinvasivne glede na mesto izolacije oziroma glede na to, ali osamitev predstavlja kolonizacijo ali okužbo, vendar v laboratoriju tega ni mogoče zanesljivo opredeliti. Izolati, osamljeni iz primarno sterilnih vzorcev (npr. krvi, likvorja), po navodilih NIJZ zahtevajo javnozdravstveno ukrepanje, tj. iskanje tesnih stikov in po potrebi uvedbo kemoprofilakse z antibiotiki. Te izolate na območni enoti Nacionalnega laboratorija za zdravje, okolje in hrano (OE NLZOH) nadalje serotipizirajo. Osamitev *N. meningitidis* iz očesne veznice sicer ne predstavlja sistemske invazivne okužbe, gre pa za okužbo, ki po navodilih NIJZ prav tako zahteva prijavo in javnozdravstveno ukrepanje (5, 9).

V mikrobiološkem laboratoriju se primarno sterilne kužnine, kot so hemokulture, likvor in punktati sklepov, obdelajo v varnostni komori (priprava direktnega razmaza po Gramu, kužnine, zasejane na bakteriološka gojišča). Na meningokok posumimo ob pregledu direktnega razmaza ali ob identifikaciji z MALDI-TOF neposredno iz pozitivne hemokulture. Kadar v razmazu, obarvanem po Gramu, vidimo po Gramu negativne koke ali z MALDI-TOF identificiramo *N. meningitidis*, mora biti osebje v laboratoriju

dodatno pozorno. Vsi nadaljnji postopki (priprava in odčitavanje antibiograma) se izvedejo v varnostni komori. Če identifikacija ni potrjena, je smiselno nadaljnje delo izvajati v varnostni komori.

Postopek pri obravnavi drugih, ne primarno sterilnih kužnin je lahko drugačen. Zasajanje bakteriološkega gojišča poteka v varnostni komori. Pregledovanje primarnih kultur na bakterioloških gojiščih in identifikacija bakterij pa običajno zunaj varnostne komore, zato laboratorijski delavci lahko pridejo v stik z bakterijsko kulturo meningokoka brez zaščite. Za izolate *N. meningitidis*, osamljene iz dihal (žrelo, sputum – tudi meningokokna pljučnica, ki ni sistemska) in genitalnega trakta, po navodilih NIJZ ni potrebno javnozdravstveno ukrepanje, tudi v literaturi so opisani kot manj nevarni za laboratorijsko okužbo (9, 12, 15). V laboratoriju nevarnosti za okužbo ne moremo povsem izključiti, zato je priporočljivo, da postopke, pri katerih se tvori aerosol, izvajamo v varnostni komori. Podatkov o deležu kapsuliranih sevov v nosno-žrelnih izolatih za Slovenijo trenutno ni. V dveh ločenih raziskavah iz Italije so ugotovili kolonizacijo nosno-žrelnega prostora pri mladostnikih in mladih odraslih z nekapsuliranimi sevi v 47 % oziroma 34 % in kolonizacijo s seroskupino B v 27 oziroma 28 % (16, 17).

Varnostni ukrepi v laboratoriju

Pri delu z *N. meningitidis* je potrebno vse postopke, pri katerih lahko pride do tvorbe aerosolov, izvajati v varnostni komori. Če to ni mogoče, je obvezna uporaba osebne varovalne opreme (OVO) – laboratorijskega plašča, rokavic, zaščitnih očal ali vizirja ter respiratorne zaščite (mask tipa FFP2 ali FFP3; angl. *filtering facepiece* – FFP). Z invazivnimi sevi *N. meningitidis* je treba v laboratorijih delati po standardnih stopnje biološke varnosti 2 (angl. *Biosafety level 2*, BSL-2), kot jih opredeljuje Svetovna zdravstvena organizacija (SZO, angl. *World Health Organisation*, WHO). V nekaterih priporočilih omenjajo višjo stopnjo zaščite (BSL-2 z elementi BSL-3), kadar obstaja tveganje za nastanek aerosola (7).

Bistvenega pomena so izobraževanje in ozaveščanje zaposlenih, ki so pri delu lahko izpostavljeni meningokoku, ter pripravljen protokol za primer izpostavitve.

Cepljenje

V Sloveniji sta za zaščito pred meningokoknimi okužbami trenutno na voljo dve cepivi:

MenACWY je štirivalentno konjugirano cepivo (Nimenrix[®]), ki ščiti pred seroskupinami A, C, W-135 in Y, ter MenB (Bexsero[®]), namenjeno zaščiti pred seroskupino B (18).

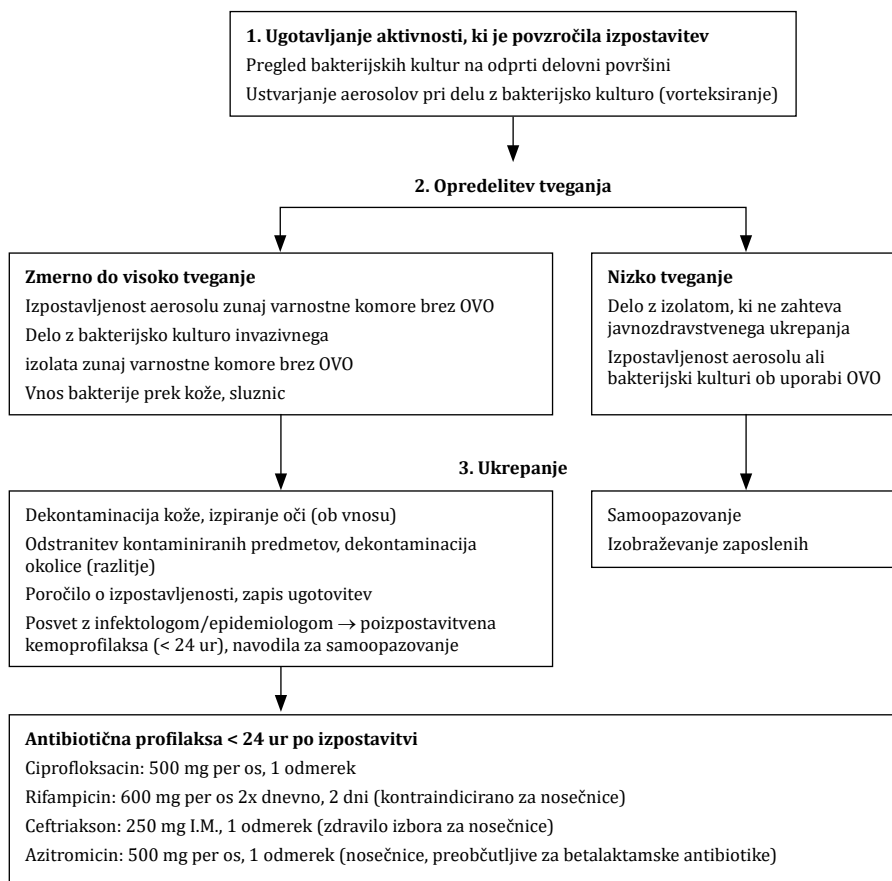
CDC (angl. *Centres for Disease Control and Prevention*) in SZO priporočata cepljenje laboratorijskih delavcev, ki lahko pridejo v stik z meningokokom (19, 20). V evropskem prostoru je praksa različna; cepljenje z MenACWY je za laboratorijske delavce priporočeno v Nemčiji, Avstriji, na Norveškem, Madžarskem in v Švici, cepljenje z MenB pa v Avstriji, na Češkem, Irskem, v Franciji, Nemčiji, na Norveškem, Poljskem in v Španiji (21, 22).

Po Programu cepljenja Republike Slovenije je v skladu z izjavo o varnosti z ocenjevanjem tveganja delovnih mest predvideno cepljenje za zdravstvene delavce, pri katerih obstaja tveganje za okužbo z meningokokom (23). Kemoprofilaksa tesnih stikov in laboratorijskih delavcev po izpostavitvi se izvede neodvisno od cepilnega statusa (9).

Poizpostavitvena kemoprofilaksa

V Sloveniji se v primeru izpostavljenosti *N. meningitidis* v laboratorijskem okolju osebo obravnava po protokolu tesnega stika, za kar je potrebna obravnava pri specialistu medicine dela ali v infektološki ambulanti. Ob izpostavljenosti je potrebno čim prej začeti kemoprofilakso (znotraj 24 ur po izpostavitvi), primerni antibiotiki so predstavljeni v Shemi 1 – Predlagan algoritem ukrepov ob izpostavitvi bakteriji *Neisseria meningitidis* v laboratoriju (9).

Shema 1. Predlagan algoritem ukrepov ob izpostavitvi bakteriji *Neisseria meningitidis* v laboratoriju.



OVO – Osebna varovalna oprema.

Dokumentirana izpostavitve *N. meningitidis* v mikrobioloških laboratorijih v Sloveniji

V bakteriološkem laboratoriju Inštituta za mikrobiologijo na Medicinski fakulteti Univerze v Ljubljani je bila leta 2025 zaznana možna izpostavitve aerosolu in vdihavanju bakterije *N. meningitidis*, osamljene iz brisa očesne veznice (vzorec ni bil obdelan v varnostni komori) pri bolniku z gnojnim konjunktivitisom. Vodja laboratorija je ob pregledovanju izvidov in identifikaciji bakterije naročila izdelavo antibiograma v varnostni komori, vendar je bil v tem času antibiogram že narejen (priprava suspenzije in nanos suspenzije na gojišče). Izolat je bil prijavljen NIJZ. Zaposlena je bila napotena k infektologinji, uvedena je bila antibiotična profilaksa s ciprofloksacinom 1 x 500 mg. Zaposlenim je bilo poslano obvestilo o ustreznem ravnanju z *N. meningitidis*, izoliranim iz očesne veznice.

V Nacionalnem laboratoriju za zdravje, okolje in hrano je bil v letu 2025 zaznan en primer možne izpostavitve *N. meningitidis* pri laboratorijskem osebju. Šlo je za »šum« v komunikaciji, ko je bila v laboratorij na tipizacijo poslana kultura *N. meningitidis*, osebje laboratorija pa je pričakovalo kulturo bakterije *Listeria monocytogenes*. Zato s kulturo niso ravnali po protokolu za obravnavo *N. meningitidis*. Takoj ko je bila pomota ugotovljena, so kontaktirali dežurnega epidemiologa, ki je za eno osebo odredil antibiotično profilakso s ciprofloksacinom 1 x 500 mg.

ZAKLJUČEK

Laboratorijske okužbe predstavljajo pomembno tveganje za zdravje zaposlenih, pri čemer so glavni vzrok za prenos patogenih mikroorganizmov človeške napake. Med povzročitelji laboratorijskih okužb se pojavljajo bakterije, virusi in paraziti. Bakterija *N. meningitidis*, čeprav redko, lahko povzroči resne in potencialno smrtonosne okužbe pri laboratorijskem osebju (1–4).

N. meningitidis kot oportunistični patogen lahko preide iz nosno-žrelnega prostora v krvni obtok. Tveganje za laboratorijsko okužbo je večje pri obdelavi bakterijskih suspenzij iz kultur (aerosol) zunaj varnostne komore (5). Pravilno izvajanje varnostnih ukrepov, kot so delo v varnostnih komorah, uporaba osebne varovalne opreme in spoštovanje protokolov ustrezne biovarstvene stopnje, bistveno zmanjša možnost okužbe. Laboratorijski delavci lahko pridejo v stik s kulturo *N. meningitidis* na bakterioloških gojiščih zunaj varnostne komore. Praviloma gre za izolate, za katere ni potrebno javnozdravstveno ukrepanje (9), vendar je priporočljiva uporaba varnostne komore pri izvajanju postopkov, pri katerih nastaja aerosol.

Cepljenje proti meningokoku (MenACWY in MenB) je preventivni ukrep za laboratorijske delavce. Priporočila med državami se razlikujejo; v Sloveniji je cepljenje predvideno za zdravstvene delavce z ocenjeno izpostavljenostjo bakteriji (18, 23). V primeru morebitne izpostavitve so nujni ocena tveganja, posvet z infektologom ali epidemiologom in takojšnja poizpostavitvena kemoprofilaksa (8, 9).

Celostno upoštevanje varnostnih ukrepov, izobraževanje osebja, predhodno cepljenje in protokoli ob izpostavitvi zagotavljajo učinkovito zaščito laboratorijskih delavcev pred invazivnimi meningokoknimi okužbami.

LITERATURA

1. Berche P. Laboratory-associated infections and biosafety. *Presse Médicale*. 2025;104277.
2. Singh K. Laboratory-acquired infections. *Clin Infect Dis*. 2009;49(1):42–7.
3. Munson E, Bowles EJ, Dern R, Beck E, Podzorski RP, Bateman AC, et al. Laboratory focus on improving the culture of biosafety: statewide risk assessment of clinical laboratories that process specimens for microbiologic analysis. *J Clin Microbiol*. 2017;56(1):e01569–17.
4. Blacksell SD, Dhawan S, Kusumoto M, Le KK, Summermatter K, O'Keefe J, et al. Laboratory-acquired infections and pathogen escapes worldwide between 2000 and 2021: a scoping review. *Lancet Microbe*. 2024;5(2):e194–202.
5. Roupheal NG, Stephens DS. *Neisseria meningitidis: biology, microbiology, and epidemiology*. Methods Mol Biol Clifton NJ. 2012;799:1–20.
6. Johswich KO, Zhou J, Law DK, St Michael F, McCaw SE, Jamieson FB, et al. Invasive potential of nonencapsulated disease isolates of *Neisseria meningitidis*. *Infect Immun*. 2012;80(7):2346–53.
7. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 6th edition. Revised 2020 [citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>.
8. Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ). *Nalezljive bolezni*. Ljubljana: NIJZ [citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: <https://nijz.si/nalezljive-bolezni>.
9. Invazivna meningokokna okužba. NIJZ: Nacionalni inštitut za javno zdravje; 2025 [citirano 2025 Sept 24]. Dosegljivo na: https://nijz.si/wp-content/uploads/2025/09/SPLET_IMB_september-2025_objava.pdf.
10. Byers KB, Harding AL. *Laboratory-Associated Infections* (chap.4,p.59–82). V: *Biological safety, principles and practices*, editors Wooley DP & Byers KB (5th ed.). Hoboken, NJ, Wiley, 2017.
11. Boutet R, Stuart JM, Kaczmarek EB, Gray SJ, Jones DM, Andrews N. Risk of laboratory-acquired meningococcal disease. *J Hosp Infect*. 2001;49(4):282–4.
12. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Laboratory-acquired meningococcal disease—United States, 2000*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2002;51(7):141–4.
13. Barkham T, Taylor MB. Sniffing bacterial cultures on agar plates: a useful tool or a safety hazard? *J Clin Microbiol*. 2002;40(10):3877.
14. Sejar JJ, Johnson D, Popovic T, Miller JM, Downes F, Somsel P, et al. Assessing the risk of laboratory-acquired meningococcal disease. *J Clin Microbiol*. 2005;43(9):4811–4.
15. Sheets CD, Harriman K, Zipprich J, Louie JK, Probert WS, Horowitz M, et al. Fatal meningococcal disease in a laboratory worker--California, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2014;63(35):770–2.
16. Gasparini R, Comanducci M, Amicizia D, Ansaldi F, Canepa P, Orsi A, et al. Molecular and serological diversity of *Neisseria meningitidis* carrier strains isolated from Italian students aged 14 to 22 years. *J Clin Microbiol*. 2014;52(6):1901–10.
17. Neri A, Fazio C, Ambrosio L, Vacca P, Barbui A, Daprai L, et al. Carriage meningococcal isolates with capsule null locus dominate among high school students in a non-endemic period, Italy, 2012–2013. *Int J Med Microbiol*. 2019;309(3-4):182–188.
18. Cepiva proti posameznim boleznim – Meningokokne okužbe. NIJZ. 2024 [citirano 2025 Sept 24]. Dosegljivo na: <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/cepljenje/cepiva-proti-posameznim-boleznim-meningokokne-okuzbe/>.
19. www.who.int/immunization-vaccines-and-biologicals/idseases/meningitis [citirano 2025 Okt 8].
20. Centers for Disease Control and Prevention. *Immunization of health-care personnel: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)*. *MMWR Recomm Rep*. 2011;60(Rr-7):1–45.
21. Malteizou HC, Poland GA. Vaccination policies for healthcare workers in Europe. *Vaccine*. 2014;32(38):4876–80.
22. Sulis G, Horn M, Borrow R, Basta NE. A comparison of national vaccination policies to prevent serogroup B meningococcal disease. *Vaccine*. 2022;40(26):3647–54.
23. Vlada Republike Slovenije. 2025. Program cepljenja in zaščite z zdravili za leto 2025. Uradni list RS, št. 12, 26. februar 2025.

Vloga visoko varnostnih laboratorijev v mikrobiološki diagnostiki

The role of high-containment laboratories in microbiological diagnostics

Miša Korva,¹ Katarina Resman Rus,¹ Martin Sagadin¹

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: biološka varnost, biološka zaščita, laboratorij 3. stopnje biološke varnosti, laboratorij 4. stopnje biološke varnosti, laboratorijske okužbe, visoko patogeni mikroorganizmi

Delo s patogenimi mikroorganizmi v laboratorijih je tvegano za osebe in okolje, zato je pomembno dosledno zagotavljanje biološke varnosti in zaščite. Biološka varnost temelji na oceni tveganja ter razvrstitvi mikroorganizmov v štiri skupine glede na njihovo patogenost, medtem ko biološka zaščita preprečuje zlorabo bioloških materialov in nepooblaščen dostop. Laboratorijske okužbe, ki izvirajo iz pomanjkljivih preventivnih varnostnih ukrepov, so najpogostejše pri delu z zelo prenosljivimi bakterijami in virusi. Tveganje se omeji z usposabljanjem osebja, uporabo zaščitne opreme in vzpostavitev standardnih operativnih postopkov. Laboratoriji visoke in najvišje varnostne stopnje (BSL-3 in BSL-4) omogočajo delo z visoko patogenimi mikroorganizmi ter zagotavljajo varno diagnostiko v hermetično zaprtih in nadzorovanih prostorih, s podtlakom, filtracijo zraka in ustrezno osebno varovalno opremo. Kužen material se po mednarodnih standardih v laboratorij varno prenese v trojni embalaži, ki preprečuje uhajanje materiala in ohranja integriteto vzorca. Visoko varnostni laboratoriji imajo pomembno vlogo v mikrobiološki diagnostiki, saj nudijo podporo ob izbruhih nalezljivih bolezni z osamitvijo patogenov, razvojem cepiv in zdravil. Visoka strokovna usposobljenost osebja in integriran pristop k obvladovanju bioloških tveganj zagotavljata najvišjo raven javnega zdravja tudi pri delu z najbolj nevarnimi mikroorganizmi.

ABSTRACT

KEY WORDS: biosafety, biosecurity, high containment laboratory, maximum containment laboratory, laboratory infections, pathogenic microorganisms

Working with pathogenic microorganisms in laboratories poses a risk to personnel and the environment, so it is essential to ensure biological safety and security at all times. Biosafety is based on risk assessment and the classification of microorganisms

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

Korespondenca: misa.korva@mf.uni-lj.si

into four groups according to their pathogenicity, while biosecurity prevents the misuse of biological materials and unauthorised access. Laboratory infections resulting from inadequate preventive safety measures are most common when working with highly transmissible bacteria and viruses. Risk reduction is based on staff training, the use of protective equipment, and the establishment of standard operating procedures. High and maximum containment laboratories (BSL-3 and BSL-4) enable work with highly pathogenic microorganisms and ensure safe diagnostics in hermetically sealed and controlled rooms with negative pressure, air filtration, and appropriate personal protective equipment. Safe transport of infectious material to the laboratory is carried out in triple packaging in accordance with international standards, which prevents material leakage and preserves sample integrity. High containment laboratories play an important role in microbiological diagnostics, as they provide support during outbreaks of infectious diseases by isolating pathogens and developing vaccines and drugs. The high professional competence of the staff and an integrated approach to biological risk management ensure the protection of public health even when handling the most pathogenic microorganisms.

UVOD

Laboratorijsko delo s patogenimi mikroorganizmi je za laboratorijsko osebje in javno zdravje tvegano, če niso dosledno zagotovljeni ustrezni varnostni ukrepi. Pri delu v laboratoriju je treba upoštevati biološko varnost (angl. *biosafety*) in biološko zaščito (angl. *biosecurity*). Biološka varnost temelji na sistematični oceni tveganja in prilagajanju glede na razred nevarnosti, v katerega uvrščamo mikroorganizem, biološko stabilnost mikroorganizma, možne načine izpostavitve, postopke, ki jih izvajamo, ter okolje, v katerem se laboratorij nahaja. Biološka zaščita zagotavlja sodobne pristope k zaščiti laboratorijske infrastrukture pred nepooblaščenim dostopom, krajo ali zlorabo bioloških materialov ter zaščiti informacij, povezanih z ravnanjem in delom s temi materiali. Za zagotavljanje varnega dela v mikrobiološkem laboratoriju so potrebne stalne investicije v infrastrukturo, nadzorne sisteme ter izobraževanje in usposabljanje osebja. V prispevku bomo obravnavali vlogo laboratorijev z visoko stopnjo zadrževalnih ukrepov (angl. *high and maximum containment laboratories*) v klinični mikrobiološki diagnostiki ter izpostavili ključne varnostne elemente za zaščito zdravstvenih delavcev in javnega zdravja.

RAZVRSTITEV MIKROORGANIZMOV GLEDE NA TVEGANJA

Za zagotavljanje biološke varnosti mikroorganizme razvrščamo v štiri skupine tveganja (od 1 do 4) glede na njihovo patogenost in tveganje za ljudi ter okolje. Skupina 1 ne prinaša tveganja, medtem ko je skupina 4 najnevarnejša, saj vključuje povzročitelje hudih bolezni, za katere običajno ni učinkovitega zdravljenja, tveganje za širjenje v skupnosti pa je veliko. Vsaka skupina tveganja (angl. *risk group*, RG) zahteva ustrezno stopnjo biološke varnosti za laboratorijsko delo. V skupino 1 (RG1) sodijo mikroorganizmi, ki niso patogeni za ljudi ali živali in predstavljajo nizko tveganje za posameznika in okolje. V RG2 sodijo mikroorganizmi, ki so patogeni za ljudi in živali, vendar ne prinašajo resne nevarnosti za širjenje v okolju. Čeprav lahko laboratorijska izpostavljenost povzroči resne okužbe pri posameznikih, so na voljo preventivni ukrepi in učinkovito zdravljenje. V RG3 uvrščamo mikroorganizme, ki so zelo patogeni za ljudi in živali ter predstavljajo visoko tveganje za posameznika, vendar imajo

zmerno tveganje za okolje, saj se običajno ne širijo neposredno med okuženimi osebami. Na voljo so učinkoviti preventivni ukrepi in omejeno zdravljenje. V RG4 sodijo mikroorganizmi, ki pomenijo visoko tveganje za posameznika in okolje, saj so zelo patogeni za ljudi in živali ter se zlahka prenašajo z osebe na osebo (posredno ali neposredno). Prav tako običajno ni na voljo cepljenje ali učinkovito specifično zdravljenje (1, 2). Razvrstitev mikroorganizmov po skupinah je prikazana v Preglednici 1; povzeta je po Pravilniku o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkim dejavnikom pri delu (3).

Preglednica 1. Mikroorganizmi, ki jih uvrščamo v RG3 in RG4.

RG 3		RG 4
<i>Bacillus anthracis</i>	Alfavirusi (virus čikungunja)	virus črnih koz
<i>Brucella abortus</i> , <i>B. melitensis</i> , <i>B. suis</i>	Bandavirusi (virus sindroma hude vročine s trombocitopenijo, virus Hartland)	virus krimsko-kongoške hemoragične mrzlice
<i>Burkholderia mallei</i> , <i>B. pseudomallei</i>	Flavivirusi (WNV, YFV, DENV, JEV, TBEV, SLEV, KFDV, OHFV, AHFV)	virus Ebola
<i>Chlamydia psittaci</i> (aviarni sevi)	Flebovirusi (virus mrzlice doline Rift)	virus Marburg
<i>Coxiella burnetii</i>	Hantavirusi (virus Hantaan, virus Dobrava, virus Puumala)	virus Hendra
<i>Francisella tularensis</i> <i>subsp. tularensis</i>	Koronavirusi (koronavirus SARS, koronavirus MERS, koronavirus SARS 2)	virus Nipah
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. africanum</i> , <i>M. ulcerans</i>	virus gripe H5N1 / H7N9 (visokopatogeni sevi)	virus Lassa
<i>Rickettsia spp.</i> , <i>Orientia tsutsugamushi</i>	Poxvirusi (virus vakcinije)	virus Lujó
<i>Salmonella typhi</i>	Rabdovirusi (virus stekline)	južnoameriški arenavirusi, ki povzročajo hemoragične mrzlice
<i>Shigella dysenteriae</i> tip 1		
<i>Vibrio cholerae</i> (nevarni sevi)		
<i>Yersinia pestis</i>		

WNV – virus Zahodnega Nila; YFV – virus rumene mrzlice; DENV – virus denge; JEV – virus japonskega encefalitisa; TBEV – virus klopnega meningoencefalitisa; SLEV – virus encefalitisa Saint Louis; KFDV – virus bolezni gozda Kyasanur; OHFV – virus hemoragične mrzlice Omsk; AHFV – virus hemoragične mrzlice Alkhumra.

LABORATORIJSKE OKUŽBE IN ZAŠČITA ZDRAVSTVENIH DELAVCEV

Laboratorijske okužbe so okužbe, pridobljene med delom s patogenimi mikroorganizmi v kliničnih, raziskovalnih in industrijskih laboratorijih. Tveganje za laboratorijske okužbe je težko opredeliti, saj večina držav nima obveznega sistema poročanja. V praksi številni primeri izpostavljenosti niso prijavljeni, predvsem zaradi strahu pred pravnimi posledicami in stigmatizacijo. Na mednarodni ravni so razpoložljivi podatki omejeni na publikacije, ki pogosto poročajo o resnih in smrtnih okužbah ali nesrečah, ki so povzročile epidemije. Tako ni sistematičnih podatkov o nadzoru, ki bi jih

lahko uporabili za izobraževalne namene in izboljšave na področju biološke varnosti. Analize laboratorijskih nesreč iz preteklosti kažejo, da je skoraj 70 odstotkov okužb posledica slabših motoričnih spretnosti, pomanjkanja izkušenj ali slabe presoje (4). Laboratorijske okužbe so lahko tudi posledica okvare laboratorijske opreme, uporabe neustreznih materialov ali nepravilnega ravnanja z odpadki. V obdobju 1979–2015 je bilo glede na dostopne objave opisanih 2392 simptomatskih laboratorijskih okužb, od tega 42 smrtnih primerov, 19 sekundarnih in 8 terciarnih okužb (5). Največ okužb je bilo z bakterijami (60 %) in virusi (32 %), redkeje s paraziti (7 %) ali glivami (< 1 %). Najpogosteje so opisane laboratorijske okužbe z brucelo, mikobakterijami, arbovirusi, salmonelami, koksielami, hantavirusi in hepatitisom B. Pomemben vir laboratorijskih okužb so tudi rutinske mikrobiološke tehnike, pri katerih nastajajo aerosoli, kot so mešanje bakterijske kulture v suspenziji s pipeto ali vrtničnim mešalnikom (vorteksom), rutinsko precepljanje primarnih plošč z bakterijskimi kulturami, sonifikacija in liofilizacija. Vir okužbe so mikroorganizmi v kapljicah, manjših od 50 µm, saj se ti aerosoli lahko prenašajo z zračnim tokom po prostorih in zgradbah ter z vdihavanjem dosežejo pljučne alveole. V laboratorijih je pogost tudi prenos prek sluznice, ko okužbo povzročijo razlitja in brizganje v oči, usta ali nos. Poleg načina izpostavitve je verjetnost okužbe odvisna tudi od infektivne doze povzročitelja. Po podatkih so v letih 1979–2015 o več laboratorijskih okužbah poročali iz raziskovalnih (65 %) kot iz kliničnih laboratorijev (28 %) (6, 7).

Zaradi večje dostopnosti laboratorijev z visoko (laboratoriji 3. stopnje biološke varnosti, BSL-3) in najvišjo stopnjo zadrževalnih ukrepov (laboratorij 4. stopnje biološke varnosti, BSL-4), izboljšanja laboratorijske opreme, postopkov dela ter preventivnega zdravstvenega varstva laboratorijskih delavcev (cepljenje in poizpostavitvena profilaksa) se je število laboratorijskih okužb z leti zmanjšalo, a kljub temu ostaja podcenjeno. Centralizirano, anonimno poročanje brez kazenskih sankcij bi omogočilo izboljšanje preventivnih ukrepov in laboratorijskih postopkov z vidika biološke varnosti (5, 8). Zdravstveni delavci v mikrobioloških laboratorijih so izpostavljeni večjemu tveganju za okužbo z biološkimi agensi. Zato so standardni operativni postopki, usposobljenost in preventivna zaščita osebja ključni elementi sistema biološke varnosti ter del celostnega pristopa k preprečevanju laboratorijskih okužb.

Zaradi življenje ogrožajočih tveganj pri delu z agensi iz skupin RG3 in RG4 je delo z njimi dovoljeno le usposobljenemu in specializiranemu laboratorijskemu osebju. Program usposabljanja vključuje delo pod strogim nadzorom in mentorstvom, odzivanje na izredne razmere na podlagi scenarijev ter redna osvežitvena usposabljanja (9). Integriran pristop vključuje več dejavnikov, ki lahko vplivajo na oceno tveganja v visoko varnostnih laboratorijih. Tak pristop kot dejavnik tveganja upošteva tudi osebnostne lastnosti delavca, empatijo, sposobnost za timsko delo, psihološko oceno, kognitivno preobremenjenost in stres, povezan z delom (10).

RAZVRSTITEV LABORATORIJEV GLEDE NA STOPNJO BIOLOŠKE VARNOSTI

Zadrževalni ukrepi v mikrobioloških laboratorijih so ključno orodje pri obvladovanju tveganja za laboratorijsko osebje. Stopnja biološke varnosti določa vrsto laboratorija, zaščitno opremo, dobro laboratorijsko prakso in opremo. Izbira ustrezne stopnje biološke varnosti za delo z določenim mikroorganizmom je odvisna od več dejavnikov: skupine tveganja (RG), biološke stabilnosti mikroorganizma v okolju, možnih

načinov izpostavljenosti, funkcije in organiziranosti laboratorija (diagnostični ali raziskovalni laboratorij), postopkov oziroma manipulacij, ki jih izvajamo, varnostne opreme in nadzora, ki sta na voljo v laboratoriju, ter razpoložljivosti učinkovitih cepiv ali zdravil. Glede na tveganja laboratorije razvrščamo v štiri stopnje biološke varnosti (angl. *biosafety levels*, BSL). Stopnje varnosti naraščajo: BSL-1 je značilna za učne laboratorije, kjer poteka delo z mikroorganizmi, ki ne povzročajo bolezni pri ljudeh. BSL-2 je najpogostejša raven v medicinski mikrobiološki diagnostiki in je namenjena delu s patogenimi mikroorganizmi, ki predstavljajo zmerno nevarnost za laboratorijske delavce in nizko za javno zdravje. Laboratorijski delavci kot osebno varovalno opremo uporabljajo laboratorijska oblačila ali plašče, laboratorijsko obutev in rokavice. Primarna osamitev mikroorganizmov iz kliničnih vzorcev (kri, plazma, serum, likvor, urin, tkiva) se izvaja v razmerah BSL-2, pri čemer, zaradi večje zaščite laboratorijskih delavcev, delo poteka v bioloških varnostnih komorah razreda II. Prav tako se v biološki varnostni komori izvajajo vsi postopki, pri katerih se med delom lahko tvorijo aerosoli oziroma dokler ni biološki agens inaktiviran s standardnim postopkom. Rutinska mikrobiološka diagnostika za dokaz mikroorganizmov RG3 poteka v razmerah BSL-2. Nadaljnji postopki, pri katerih mikroorganizmi iz skupine RG3 dosežejo visoke koncentracije, se izvajajo v laboratoriju BSL-3. Glavna naloga laboratorijev BSL-3 je osamitev in delo z bakterijskimi in virusnimi kulturami, testiranje protivirusnih učinkovin in antibiotikov, razvoj cepiv, antigenska tipizacija ter virusna nevtralizacija. Varnost dela v BSL-3 zagotavlja posebna infrastruktura laboratorija, ki preprečuje izpust mikroorganizmov v okolje. Laboratorijsko osebje uporablja osebno varovalno opremo, kot so rokavice, laboratorijski kombinезoni, respiratorji, kapuce, zaščitne maske FFP3, očala, laboratorijski čevlji ali škornji. Primarna pregrada za zaščito osebja pred patogeni je delo v biološki varnostni komori razreda II. Sekundarna pregrada so – poleg posebne arhitekture laboratorija – tudi oprema za dekontaminacijo odpadne vode, sistem za uravnavanje pretoka zraka od najmanj do najbolj onesnaženega območja, pretok vstopnega in izstopnega zraka prek HEPA-filtrov, avtoklav za dekontaminacijo odpadkov in prha za dekontaminacijo osebja.

Laboratoriji z najvišjo stopnjo zadrževalnih ukrepov (BSL-4) so namenjeni delu z najnevarnejšimi patogeni, predvsem virusi, ki povzročajo hemoragične mrzlice. Koncept BSL-4 je fizična ločitev mikrobiološkega agensa od laboratorijskega osebja. Uporabljajo se biološke varnostne komore razreda III, ki so popolnoma zaprte, vnos materiala pa je mogoč le prek transportne komore. Z agensi se ravna od zunaj prek neprepustnih rokavic, pritrjenih na komoro. Drugi način fizične ločitve laboratorijskega osebja od patogena so samostojne zaščitne obleke s pozitivnim tlakom in dovodom zraka. Glavna naloga laboratorijev BSL-4 je osamitev virusov RG4 na celičnih kulturah ali v poskusnih živalih, raziskave patogeneze, razvoj novih protivirusnih cepiv in zdravil ter razvoj postopkov za varno inaktivacijo kliničnih vzorcev. Ob pravilno izobraženem osebju in doslednem upoštevanju načel biološke varnosti so laboratoriji BSL-4 najvarnejši med vsemi mikrobiološkimi laboratoriji (9, 11–13).

PRENOS MIKROORGANIZMOV RG3 IN RG4 MED LABORATORIJI

Za prenos kužnih vzorcev veljajo strogi nacionalni in mednarodni predpisi (*United Nations Recommendations on the Transport of Dangerous Goods*, UNRTDG; *International Civil Aviation Organization*, ICAO; *International Air Transport Association*, IATA).

Vzorcev, s katerimi je treba delati v visokih varnostnih razmerah (BSL-3, BSL-4), ni dovoljeno pošiljati po zračnih cevnih transportnih sistemih, temveč morajo biti pri vsakem prenosu pravilno zavarovani. Za pravilno pakiranje in posledice v primeru nepravilnega pakiranja odgovarja pošiljatelj, zato je pomembno, da je osebje ustrezno usposobljeno. Pošiljka mora biti pripravljena tako, da infektivne snovi v notranjosti ne predstavljajo nevarnosti za ljudi ali okolje. Med infektivni material sodijo tudi kulture mikroorganizmov, klinični vzorci bolnikov, gensko spremenjeni organizmi, odpadki iz zdravstva ter biološke snovi, pridobljene iz živih organizmov za namen zdravljenja, preventive in diagnostike. Glede na nevarnost in sestavo so infektivne snovi razvrščene v kategoriji A in B. V kategorijo A so uvrščene infektivne snovi, ki ob izpostavitvi povzročijo trajne okvare, življenjsko ogrožajočo ali smrtno bolezen pri sicer zdravih ljudeh ali živalih. V kategorijo B so uvrščene vse druge infektivne snovi, ki ne ustrezajo kriterijem za infektivne snovi kategorije A. Infektivnim snovem je dodeljena UN-številka (angl. *United Nations number*), ki mora biti jasno označena na pošiljki. Snovem, ki spadajo v kategorijo A, je dodeljena oznaka UN2814, snovem v kategoriji B pa UN3373.

Pri transportu infektivnega materiala se za zagotavljanje varnosti osebja, okolja in vzorca uporablja sistem pakiranja v tri ločene embalaže (t. i. trojno pakiranje). Primarna embalaža je neprepustna posoda, epruveta, viala ali podobna embalaža, ki neposredno vsebuje vzorec ali biološki material. Mora biti hermetično zaprta in odporna na lomljenje ter izlitje. Primarna embalaža se nato namesti v sekundarno embalažo, ki je prav tako neprepustna in običajno v obliki plastične posode ali transportne vrečke. Med primarno in sekundarno embalažo je nameščen vpojni material, ki lahko v primeru razlitja vpije celotno količino vsebine primarne embalaže. Sekundarna embalaža ščiti predvsem pred mehanskimi poškodbami in preprečuje uhajanje tekočin. Sekundarna embalaža se nato namesti v zunanjo embalažo, ki vsebino zaščiti pred zunanjimi dejavniki. Med sekundarno in zunanjo embalažo se vstavijo spremni listi s seznamom vsebine pošiljke. Na zunanji embalaži so jasno označeni podatki o pošiljatelju in prejemniku ter kategoriji infektivne snovi, ki jo vsebuje pošiljka (oznaka UN in številka). Takšen način pakiranja zagotavlja varen prevoz infektivnega materiala po kopnem in zraku, preprečuje uhajanje biološkega materiala, zmanjšuje tveganje za prenos okužb ter ohranja integriteto vzorca za diagnostično obravnavo (12, 14, 15).

ZADRŽEVALNI UKREPI V VISOKO VARNOSTNIH LABORATORIJIH (BSL-3 IN BSL-4)

Za zagotavljanje varnosti laboratorijskega osebja in okolja so za delovanje visoko varnostnih laboratorijev določene specifične zahteve. Zahteve za fizično strukturo laboratorija, sistem prezračevanja ter opremo in notranjo ureditev laboratorija so povzete v Preglednici 2 (9, 12, 13).

Preglednica 2. Zadrževalni ukrepi v visoko varnostnih laboratorijih.

Fizična zasnova laboratorija
Laboratorij mora biti ločen od drugih prostorov v stavbi ali celo v ločeni stavbi.
Omogočena mora biti popolna zatesnitev laboratorija in dekontaminacija z zaplinjevanjem.
Nadzorovan, omejen dostop do območja laboratorija.
Vstop v laboratorij skozi posebna vrata ali zračno komoro (BSL-4).
Vstop v laboratorij je omejen s kodo in kartico, ki je dodeljena le zaposlenim z opravljenim osnovnim izobraževanjem in veljavnimi osvežitvenimi šolanji.
Laboratorij je označen z znakom za biološko nevarnost.
Predprostor z dvojnimi vrati določa smer vstopa in se samodejno zapre ob nevarnosti.
Sistem zasilnega napajanja.
V laboratoriju je podtlak glede na tlak v neposrednem okolju.
Sistem prezračevanja
Zmogljiv in neodvisen klimatski sistem.
Klimatski sistem mora zagotavljati diferencialne tlačne gradiente in ustrezen pretok zraka.
Pretok zraka v objektu mora biti enosmeren: od najmanj do najbolj onesnaženega območja.
Pretok zraka je računalniško nadzorovan.
Izhodni zrak se ne sme reciklirati v prostoru ali v kateremkoli drugem prostoru stavbe.
Izpust in dovod zraka v laboratorij morata biti vodena skozi sistem HEPA-filtrov.
Oprema in notranja ureditev
Pohištvo in oprema morata omogočati dekontaminacijo.
Površine morajo biti odporne na vodo, kisline, baze, topila, razkužila in enostavne za čiščenje.
Tla morajo biti neprepustna za tekočine, z zatesnjenimi zaključki, odporna proti kemikalijam in imeti površino, ki zmanjšuje nevarnost zdrsa.
Biološka varnostna komora razreda II ali III.
Lasten prehodni avtoklav z enosmernim pretokom materiala.
Sistem za dekontaminacijo odpadne vode.
Okna morajo biti fiksna in zatesnjena.
Zatesnjeni morajo biti vsi preboji in zaključki (spoji svetil, stropnih rešetk), da se prepreči uhajanje zraka iz zaprtega prostora.
Laboratorij mora obvezno imeti prho in raznoliko osebno zaščitno opremo za laboratorijske delavce.
Sistem za glasovno in podatkovno komunikacijo.

DELO V VISOKO VARNOSTNIH LABORATORIJIH (BSL-3)

Laboratorij BSL-3 na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete je infrastrukturni center za diagnostiko in raziskave na področju dela z najnevarnejšimi mikroorganizmi. Notranjost laboratorija sestavljata dve enoti. Najnižji podtlak je v prvi enoti, ki je opremljena za izolacijo patogenih mikroorganizmov na celičnih linijah ali kultivacijo na umetnih gojiščih ter z biološkima varnostnima komorama II. in III. stopnje biološke varnosti. Druga enota je namenjena opredelitvi izoliranih mikroorganizmov, raziskavam imunopatogeneze, interakcijam med gostiteljem in patogenim mikroorganizmom ter razvoju novih diagnostičnih metod. Poleg sodelo-

vanja z različnimi raziskovalnimi organizacijami v Sloveniji laboratorij nudi podporo tudi državnim institucijam pri pripravi akcijskih načrtov in dejavnosti za varovanje javnega zdravja ter preprečevanje izrednih dogodkov. Ekipo laboratorija sestavljajo visoko usposobljeni raziskovalci z večletnimi izkušnjami za delo v razmerah BSL-3, ki uspešno sodelujejo v mednarodnih mrežah in raziskovalnih projektih.

Mikrobiološka diagnostika bakterijskih povzročiteljev okužb

Primarna izolacija bakterij iz kliničnih vzorcev poteka na izbranih bakterioloških gojiščih v razmerah BSL-2. Glede na klinični sum, pogoje inkubacije in morfologijo poraslih kolonij se lahko nadaljnja diagnostika preusmeri v BSL-3. Prenos vzorcev v laboratorij BSL-3 mora potekati v skladu s predpisi za transport infektivnega materiala, kar omogoča varen vnos materiala v laboratorij. Mikrobiološka diagnostika bakterijskih povzročiteljev okužb se v laboratoriju BSL-3 izvaja v biološki varnostni komori razreda II. Pri delu je obvezna uporaba osebne varovalne opreme (neprepustni laboratorijski kombinezon, dvojne rokavice, maska FFP3, zaščita oči in obraza). Za nadaljnjo identifikacijo se bakterijske kolonije precepijo na izbrana bakteriološka gojišča (krvni, čokoladni agar in agar MacConkey). V laboratoriju BSL-3 lahko za identifikacijo bakterij uporabljamo le omejen nabor mikrobioloških metod (barvanja, direktni mikroskopski pregledi), lahko pa bakterijske kolonije inaktiviramo z mravljinčno kislino in jih nato identificiramo z metodo MALDI-TOF. Zaradi zagotavljanja biološke varnosti pogosto iz temperaturno inaktiviranih suspenzij bakterij osamimo nukleinsko kislino in za identifikacijo uporabljamo validirane molekularne metode. Molekularna diagnostika bakterijskih izolatov RG3 se izvaja v laboratoriju BSL-2. Izolirani sevi se dolgoročno hranijo v varno označenih vialah v laboratoriju BSL-3, kar omogoča nadzor nad visoko patogenimi izolati v državi ter podporo raziskavam in javnozdravstvenim ukrepom.

Mikrobiološka diagnostika virusnih povzročiteljev okužb

Diagnostika virusnih povzročiteljev skupine RG3 iz kliničnih vzorcev poteka v laboratorijih BSL-2. V BSL-3 izvajamo osamitev virusov RG3 iz kliničnih vzorcev na celičnih kulturah, virusni nevtralizacijski test ter osamitev nukleinskih kislin iz kliničnih vzorcev s sumom na viruse iz skupine RG4. Pri delu z virusnimi povzročitelji uporabljamo podobno osebno varovalno opremo kot pri delu z bakterijskimi patogeni, le da pogosto namesto maske FFP3 uporabimo respirator z ustreznim filtrom. Pri delu z virusi iz skupine RG3 delo poteka v biološki varnostni komori razreda II, pri sumu na viruse iz skupine RG4 pa v biološki varnostni komori razreda III. Pred začetkom mikrobioloških postopkov zunanost epruvete ali viale dekontaminiramo z dekontaminacijskimi sredstvi ali 10-odstotno hipokloritno raztopino, s čimer preprečimo aerosolizacijo potencialnih virusov na površini vzorca. Po temperaturni inaktivaciji (56 °C, 30 minut) nukleinsko kislino osamimo z različnimi ročnimi kompleti reagentov. Osamljeno nukleinsko kislino lahko po površinski dekontaminaciji prenesemo v laboratorij BSL-2, kjer opravimo molekularno diagnostiko. Metode, ki zahtevajo delo z infektivnimi virusi, se morajo izvajati v laboratoriju BSL-3 od začetka do konca. Prav tako vse infektivne virusne izolate hranimo v varno označenih vialah pri -80 °C.

ZAKLJUČEK

Delo s patogenimi mikroorganizmi v neustreznih razmerah predstavlja veliko tveganje za pojavitev laboratorijskih okužb in izbruhov. Visoko varnostni laboratoriji zagotavljajo višjo raven biološke varnosti ter omogočajo neprekinjeno izvajanje ključnih diagnostičnih storitev, nujnih za delovanje zdravstvenih sistemov. Poleg diagnostične vloge imajo pomembno funkcijo pri podpori javnemu zdravju, saj omogočajo hiter odziv ob epidemijah ter spremljanje učinkovitosti terapevtskih pristopov in cepljenj, kar je bistveno za uspešno obvladovanje nalezljivih bolezni. Visoko varnostni laboratoriji delujejo tudi kot referenčni centri, vključeni v evropske in svetovne mreže (Evropski center za preprečevanje in obvladovanje bolezni, Svetovna zdravstvena organizacija, referenčni laboratoriji Evropske unije za javno zdravje). Njihova naloga je potrjevanje rezultatov diagnostičnih testov, skrb za standardizacijo diagnostičnih metod in validacija novih diagnostičnih testov.

LITERATURA

1. Republika Slovenija. Pravilnik o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkim dejavnikom pri delu. Uradni list RS. 2020;168.
2. European Parliament and Council. Directive 2000/54/EC on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work. Official Journal of the European Communities. 2000. Annex III.
3. Republika Slovenija. Pravilnik o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkim dejavnikom pri delu. Priloga 3. Uradni list RS. 2020;168.
4. Berche P. Laboratory-associated infections and biosafety. *Presse Med.* 2025;104277.
5. Byers KB, Harding, AL Laboratory-Associated Infections. V: Wooley DP, Byers KB, ur. *Biological safety, principles and practices*, 5th edition. Washington, DC: ASM Press. 2017;59–82.
6. Singh K. It's time for a centralized registry of laboratory-acquired infections. *Nat Med.* 2011;17(8):919.
7. Singh K. Laboratory-acquired infections. *Clin Infect Dis.* 2009;49(1):142–7.
8. Walker D, Campbell D. A survey of infections in United Kingdom laboratories, 1994-1995. *J Clin Pathol.* 1999;52(6):415–8.
9. World Health Organization (WHO). *Laboratory biosafety manual*, fourth edition. Geneva: World Health Organization. 2020.
10. Bellati M, Russo V, Leone PA, Zito M, Luperini A. Biosafety: From a traditional approach to an integrated approach. *Front Public Health.* 2022;10:956623.
11. Bressler DS, Hawley RJ. Safety Considerations in the Biosafety Level 4 Maximum-Containment Laboratory. V: Wooley DP, Byers KB, ur. *Biological safety, principles and practices*, 5th edition. Washington, DC: ASM Press. 2017;695–717.
12. Meehan PJ, Potts J. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 6th Edition. Centers for Disease Control and Prevention. 2020.
13. Crane JT, Richmond JY. Design of Biomedical Laboratory and Specialized Biocontainment Facilities. In : Wooley DP, Byers KB, ur. *Biological safety, principles and practices*, 5th edition. Washington, DC: ASM Press. 2017;343–366.
14. World Health Organization (WHO). *Guidance on regulations for the transport of infectious substances, 2023-2024*. Geneva: World Health Organization; 2024.
15. Relich RF, Snyder JW. Packing and Shipping Biological Materials. In: Wooley DP, Byers KB, ur. *Biological safety, principles and practices*, 5th edition. Washington, DC: ASM Press. 2017;343–366.

Delo z glivami v mikrobiološkem laboratoriju: kdaj so lahko nevarne?

Working with fungi in the microbiology laboratory. When can they be dangerous?

Tadeja Matos,¹ Marija Trajkova Bostner,¹ Rok Tomazin¹

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: biovarnostna stopnja, laboratorijske okužbe, dimorfne glive, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*

Medicinska mikologija ima pomembno vlogo pri diagnostiki glivnih okužb, s katerimi se laboratorijsko osebje srečuje v vsakodnevni praksi. Čeprav so laboratorijsko pridobljene okužbe redke, predstavljajo določene vrste gliv, zlasti dimorfne endemične vrste, potencialno tveganje za zdravje zaposlenih. V prispevku obravnavamo značilnosti oportunističnih in primarno patogenih gliv ter poudarjamo pomen doslednega upoštevanja varnostnih postopkov pri delu z infektivnim materialom. Večina rutinskih postopkov poteka na stopnji biološke varnosti 2 (BSL-2), medtem ko delo z dimorfnimi endemičnimi glivami, kot so *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* in *Blastomyces dermatitidis*, zahteva stopnjo biološke varnosti 3 (BSL-3). Ustrezna ocena tveganja, uporaba osebne varovalne opreme, redno usposabljanje ter učinkovita komunikacija med kliničnim in laboratorijskim osebjem so ključni za preprečevanje laboratorijskih okužb z glivami.

ABSTRACT

KEY WORDS: Laboratory-acquired infections, biosafety, dimorphic fungi, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis*

Medical mycology plays a crucial role in the diagnosis of fungal infections that laboratory personnel may encounter in daily work. Although laboratory-acquired fungal infections are rare, certain fungal species – particularly dimorphic endemic fungi – may pose occupational health risks. This paper discusses the characteristics of opportunistic and primary pathogenic fungi and emphasises the importance of adhering to biosafety procedures when handling infectious material. Most routine procedures can be performed under Biosafety Level 2 (BSL-2) conditions, whereas work involving dimorphic endemic fungi such as *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, and *Blastomyces dermatitidis* requires Biosafety Level 3 (BSL-3) containment. Accurate risk assessment, appropriate use of personal protective equipment,

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

Korespondenca: tadeja.matos@mf.uni-lj.si

regular staff training, and effective communication between clinical and laboratory teams are essential for preventing laboratory-acquired fungal infection.

UVOD

Medicinska mikologija ima ključno vlogo pri hitrem in natančnem prepoznavanju povzročiteljev glivnih okužb. V mikoloških, pa tudi v bakterioloških, laboratorijih osebje vsakodnevno prihaja v stik z različnimi vrstami gliv. V literaturi je v zadnjih desetletjih opisanih razmeroma malo primerov prenosa gliv na laboratorijske delavce, kar pripisujemo visoki stopnji ozaveščenosti o tveganjih, dosledni uporabi osebne varovalne opreme in spoštovanju standardnih laboratorijskih postopkov, ki preprečujejo okužbe.

Številne vrste gliv so oportunistični patogeni, ki povzročajo okužbe predvsem pri imunsko oslabljenih posameznikih. Nekatere pa lahko ob nepravilnem ravnanju ali ob dolgotrajni in obsežni izpostavljenosti predstavljajo tveganje tudi za sicer imunsko kompetentne osebe. Največ primerov laboratorijskih okužb je opisanih pri delu z endemičnimi dimorfnimi glivami *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* in *Blastomyces dermatitidis*.

Glivnim sporam se lahko izpostavimo predvsem pri postopkih, ki povzročajo nastanek aerosolov, zlasti pri nepravilnem ravnanju s sporuliranimi kulturami ali s suhim materialom, ki vsebuje infektivne delce. V teh primerih so dihala običajno vstopno mesto okužbe. Prenos je možen tudi prek poškodovane kože ali sluznic, najpogosteje pri neustrezni uporabi rokavic ali drugih osebnih varovalnih sredstev. Redkejši, a možni so prenosi prek kontaminiranih površin, laboratorijske opreme ali rok, kadar nista zagotovljena ustrezna higiena in razkuževanje.

V prispevku predstavljamo vrste gliv, ki so lahko nevarne v laboratorijskem okolju, ter ukrepe, s katerimi lahko tveganje za okužbo laboratorijskega osebja zmanjšamo na najnižjo možno raven.

OPORTUNISTIČNI POVZROČITELJI

Večina gliv, ki povzročajo mikoze pri ljudeh, je oportunistične narave. Med najpogostejšimi in klinično najpomembnejšimi patogeni izstopajo vrste iz rodov *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Fusarium* ter glive iz reda *Mucorales* (1, 2). Ob upoštevanju standardnih varnostnih ukrepov, ki veljajo za stopnjo biološke varnosti 2 (angl. *bio-safety level 2*, BSL-2), je tveganje za okužbo z omenjenimi glivami izjemno nizko (3, 4).

Glive so razširjene tako v zunanjih kot notranjih okoljih. V mikoloških laboratorijih je zaradi narave dela koncentracija spor pogosto nekoliko višja kot v drugih mikrobioloških laboratorijih. Študije so pokazale povezavo med izpostavljenostjo glivam v notranjih prostorih ter poslabšanjem kroničnih bolezni dihal in preobčutljivostnih stanj, kot sta alergijski rinitis in astma (5). V povezavi s tem so najpogosteje opisani rodovi *Aspergillus*, *Alternaria* in *Cladosporium*.

Pri senzibiliziranih posameznikih je izpostavljenost glivnim antigenom povezana tudi z razvojem alergijske bronhopulmonalne mikoze, alergijskega glivnega sinusitisa in preobčutljivostnega pnevmonitisa.

Zmanjšanje vlage in odstranjevanje kontaminiranih materialov dokazano omejitava nevarnost za razvoj bolezni, povezanih z glivami, čeprav še vedno ni povsem pojasnjeno, kakšna stopnja izpostavljenosti (koncentracija spor, čas) vpliva na zdravje posameznikov ter ali so nekatere vrste gliv pri tem pomembnejše od drugih (6, 7). Iz

navedenega je mogoče sklepati, da ima lahko izpostavljenost višjim koncentracijam gliv v laboratorijskem okolju negativen vpliv na zdravje dovzetnejših posameznikov.

Dermatofiti in tveganje za laboratorijsko osebje

Dermatofiti so filamentne, keratinolitične glive iz rodov *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Nannizzia*, *Arthroderma*, *Lophophyton*, *Paraphyton*, *Guarromyces* in *Ctenomyces*. Vsi navedeni rodovi, razen zadnjih dveh, pri ljudeh povzročajo površinske okužbe kože, las, lasnih mešičkov in nohtov, znane kot dermatofitoze (8). Z dermatofiti se je mogoče okužiti ob neposrednem stiku z okuženim materialom ali posredno prek kontaminiranih površin in predmetov. Ob nepravilnem čiščenju ali preoblačenju lahko pride do sekundarne kontaminacije delovnih površin in zaščitnih oblačil (4). Spore dermatofitov so odporne proti neugodnim fizikalnim dejavnikom in se lahko na površinah ter laboratorijski opremi ohranijo daljše časovno obdobje. Tveganje za prenos okužbe na laboratorijsko osebje je ob doslednem upoštevanju varnostnih priporočil izjemno majhno, saj v literaturi ni poročil o laboratorijsko pridobljenih okužbah. Občasno so sicer opisani zoonotski prenosi dermatofitov z živali ali njihovih predmetov (npr. podlog, blazin za počitek) v veterinarskih ambulantah (9, 10). Največkrat so bili prenosi potrjeni pri vrstah *Trichophyton mentagrophytes* in *Microsporum canis*, ki sodita med najpogostejše povzročitelje dermatofitoz pri ljudeh, sicer pa med zoofilne dermatofite (11).

Priporočila za delo z oportunističnimi glivami in dermatofiti

Delo z materialom, ki lahko vsebuje dermatofitne ali oportunistične glivne povzročitelje, poteka v skladu s standardi stopnje biološke varnosti 2. To vključuje:

- pravilno uporabo zaščitnih rokavic in laboratorijskega plašča,
- dosledno upoštevanje dobre laboratorijske prakse (npr. brez dotikanja obraza, oči, ust in nosu),
- shranjevanje potencialno infektivnega materiala v ustrezne posode ter pravilno odstranjevanje odpadkov,
- delo v biološki varnostni komori razreda II pri postopkih, ki lahko povzročijo nastanek aerosola,
- redno razkuževanje delovnih površin (npr. z 70-odstotnim etanolom),
- dosledno higieno rok po zaključku dela,
- redno izobraževanje osebja o pravilnih postopkih in ukrepih ob nesrečah (npr. razlitje, stik s kožo ali sluznicami ipd.) (12).

PRIMARNO PATOGENE GLIVE

Laboratorijsko pridobljene okužbe so bile zgodovinsko najpogosteje povezane s tremi dimorfnimi endemičnimi glivami (4):

- *Blastomyces dermatitidis*
- *Coccidioides immitis/Coccidioides posadasii*
- *Histoplasma capsulatum*

Te vrste lahko povzročijo bolezen tudi pri sicer zdravih posameznikih. Pri večini laboratorijskih okužb z omenjenimi glivami gre za posledico vdihavanja konidijev micelijske oblike, kar povzroči okužbe spodnjih dihal (13).

Gliva *Blastomyces dermatitidis* je endemična v določenih predelih Severne Amerike, osrednje, vzhodne in južne Afrike ter Indije. Njena naravna ekološka niša

še ni popolnoma pojasnjena, saj je osamitev povzročitelja iz prsti izjemno zahtevna in redka. Domneva se, da je *B. dermatitidis* povezana z gozdnatimi območji z vlažno prstjo v bližini jezer, vodotokov in rek, kjer so razmere za njen razvoj ugodne (14).

Povzročča pljučno, kožno in diseminirano obliko blastomikoze. V naravi se pojavlja v micelijski obliki, ki pri temperaturi okolja tvori konidije – te nespolne spore so infektivni delci, ki se prenašajo po zraku. Po vstopu v organizem oziroma pri temperaturi 37 °C se konidiji preoblikujejo v velike, brsteče kvasovke, značilne za tkivno (parazitsko) fazo glive. Poleg *B. dermatitidis* povzročata blastomikozo še *Blastomyces gilchristii* in *Blastomyces helicus* (14). Vrsti *B. dermatitidis* in *B. gilchristii* tvorita kompleks vrst, zato bomo v tem članku obe obravnavali pod skupnim imenom *B. dermatitidis*.

Poleg mikrobioloških delavcev so v laboratorijskem okolju *B. dermatitidis* poklicno izpostavljeni tudi veterinarji in patologi, ki prihajajo v stik s potencialno okuženimi tkivi (4). Kvasne oblike glive lahko najdemo v kliničnem materialu ali v tkivih okuženih bolnikov in živali. Ob poškodbi kože ali nenamernem stiku z okuženim materialom (npr. ugriz psa, incident pri obdukciji ali histopatološki obdelavi vzorcev) lahko pride do inokulacije kužnega materiala in razvoja kožne blastomikoze, za katero je značilna tvorba lokalnih granulomov.

Micelijska oblika kulture vsebuje infektivne konidije, ki se lahko pojavljajo tudi v okoljskih vzorcih in prinašajo tveganje za okužbo dihal, ki se lahko razvije v pljučno blastomikozo. V literaturi je opisanih najmanj enajst primerov laboratorijsko pridobljenih okužb, od katerih sta se dva končala s smrtnim izidom (15).

Za delo z materialom, ki lahko vsebuje konidije *B. dermatitidis*, je potrebna stopnja biološke varnosti 3 (BSL-3), medtem ko za delo z materialom, ki vsebuje kvasne oblike (klinični material, kvasna kultura), zadostuje BSL-2 (12).

B. dermatitidis lahko raste na obogatenih gojiščih (na primer angl. *brain heart infusion*, BHI), kar lahko predstavlja tveganje tudi za bakteriologe, ki z vzorci rutinsko delajo na teh gojiščih (16). Kolonije na mikoloških gojiščih so običajno vidne 5–10 dni po zasejanju, vendar se ob nizkem inokulumu ali neustreznem odvzemu vzorca lahko razvijajo šele po 30 dneh (17).

V skladu s smernicami Centra za preprečevanje in obvladovanje bolezni (angl. *Centers for disease control and prevention*, CDC) morajo biti vsi klinični vzorci, pri katerih obstaja sum na blastomikozo, shranjeni v trdnih, neprepustnih posodah in jasno označeni z opozorilom o biološki nevarnosti (18). Vsi postopki, pri katerih lahko nastanejo aerosoli (npr. pipetiranje, vrtinčenje, centrifugiranje), morajo biti izvedeni izključno v certificirani biološki varnostni komori razreda II (18).

Coccidioides immitis in *Coccidioides posadasii* sta dimorfni glivi, endemični predvsem za sušna in polsušna območja Severne, Srednje in Južne Amerike. Hiperendemično območje sta dolina San Joaquin v Kaliforniji in južna Arizona (14). V naravi in pri sobni temperaturi rasteta v micelijski obliki, pri čemer tvorita nespolne spore – artrokonidije (3–5 µm), ki se širijo po zraku in so infektivni. Po vstopu v organizem oziroma ob inkubaciji pri 37 °C se preoblikujeta v tkivno, kvasno obliko – večcelične sferule premera do 70 µm, pri katerih ni tveganja za okužbo.

V literaturi, objavljeni pred letom 1980, je bilo opisanih več primerov laboratorijsko pridobljenih okužb z glivami rodu *Coccidioides* (15). Podobno kot pri drugih okužbah, ki so endemične za določena geografska območja, je pogosto težko zanesljivo ugotoviti, ali je okužba laboratorijskega delavca posledica poklicne izpostavljenosti ali okužbe iz naravnega okolja.

Okužbe laboratorijskih delavcev so najpogosteje povezane z nezaščitenim odpiranjem sporuliranih kultur na delovni površini in vdihavanjem visoko kužnih artrokonidijev (4). Že samo odpiranje zrele, sporulirane kulture povzroči sproščanje velikega števila artrokonidijev v okolje, medtem ko lahko padec plošče z zrelo kulturo na tla sprosti več milijonov infektivnih delcev (19). Inkubacijska doba kokcidioidomikoze (angl. *valley fever*, dolinska vročica) je 1–3 tedne, bolezen pa se najpogosteje kaže v obliki pljučnice, redkeje s kožnim izpuščajem ali artralgijski. Pri manjšem deležu okuženih se razvije diseminirana okužba s hematogenim razsojem (14). Kokcidioidomikoza je daleč najpogostejša laboratorijska glivna okužba (4).

V naravnem okolju je glavni rezervoar glive prst, bogata z artrokonidiji, ki je njena naravna ekološka niša. Na endemičnih območjih se okužijo lokalno prebivalstvo (predvsem kmetje), arheologi in turisti (20). Kljub vsemu je tveganje za okužbo v laboratoriju samo malo večje kot v splošni populaciji (4).

Gliva raste na običajnih mikoloških gojiščih. Večina sevov raste hitro in sporulira po 5–10 dneh inkubacije pri sobni temperaturi, opisani pa so tudi počasi rastoči sevi. Kolonije so morfološko zelo raznolike – lahko so puhaste, prašnate, razbrazdane, granularne ali gladke (21). Zaradi nespecifičnega videza kultur je na neendemičnih območjih ključnega pomena, da klinično osebje laboratorij vnaprej obvesti o sumu na endemično mikozo.

Za delo z materialom, ki lahko vsebuje artrokonidije *Coccidioides* spp., je potrebna BSL-3 (12). V teh razmerah se obravnava tudi vzorce prsti, ki potencialno vsebujejo infektivne delce. Za obdelavo kliničnega materiala (npr. tkiv, telesnih tekočin) in za delo s kvasno obliko glive pa zadostuje BSL-2 (12).

Avgusta 2017 so v klinični mikrobiološki laboratorij BSL-2, ki je del klinike *Clinica Alemana* v Čilu, sprejeli bronhoalveolarni izpirek (BAL) 20-letnega bolnika. Primarna nacepitev vzorca je bila pravilno izvedena v biološki varnostni komori razreda II, nadaljnji postopki do identifikacije glive pa so potekali na nezaščiteni delovni površini (22).

Na gojiščih, inkubiranih pri 35 °C, so sedmi dan opazili rast plesni, ki so jo precepili na dve novi gojišči in inkubirali pri 25 ter 35 °C. Trinajsti dan so opravili mikroskopski pregled, sedemnajsti dan pa je bila z metodo MALDI-TOF MS potrjena identifikacija *C. immitis/posadasii* (22). Po potrditvi so nemudoma sklicali izredni sestanek z vodjo laboratorija, predstavniki oddelka za infekcijske bolezni in vodjo programa za preprečevanje okužb, povezanih z zdravstvom.

Retrospektivna analiza je pokazala, da je bolnik tri tedne pred odvzemom vzorca med potovanjem po Arizoni prebolel pljučnico in bil pozneje obravnavan zaradi radioloških sprememb na pljučih (22). Do izpostavitve micelijski obliki glive je prišlo 7., 13. in 17. dan med delom s kulturami na nezaščiteni površini.

Pri oceni tveganja so upoštevali smernice ameriških referenčnih laboratorijev. Visoko tveganje je zajemalo neposredno ravnanje z micelijsko kulturo (precepljanje, mikroskopiranje, priprava za identifikacijo), nizko tveganje pa prisotnost oseb v radiju do 2,5 metra od mesta, kjer se je postopek opravljal. Osebje z imunsko oslabelostjo ali kroničnimi boleznimi je bilo prav tako uvrščeno v skupino z visokim tveganjem (22).

Skupno so identificirali 44 oseb: štiri z visokim in 40 z nizkim tveganjem za okužbo. Osebam z visokim tveganjem je bila priporočena kemoprofilaksa s flukonazolom (400 mg enkrat dnevno šest tednov). V sodelovanju z Inštitutom Roberta Kocha (Ber-

lin, Nemčija) so opravili serološko testiranje na protitelesa proti rodu *Coccidioides* z metodama imunodifuzije in vezave komplemента ter s hitrim testom Sona™ (Immy, ZDA). Pozitiven rezultat je bil potrjen le pri indeksnem bolniku, vsi drugi testi so bili negativni. Pri nikomer od izpostavljenih se ni razvila okužba (22).

Osebe, ki so prejemale profilakso, so poročale o blagih neželenih učinkih (heilitis, mialgija); ena od njih je zdravljenje predčasno prekinila. Čeprav ni bila potrjena nobena okužba, je dogodek povzročil motnje pri delu, zaskrbljenost osebja in dodatne stroške (22).

Na podlagi dogodka so bili sprejeti številni preventivni ukrepi, med drugim:

- vzpostavitev jasnih protokolov za sprejem in obravnavo kliničnih vzorcev,
- obvezno predhodno obveščanje laboratorija v primeru suma na endemično mikozo,
- uvedba dela v razmerah BSL-2 ali več (uporaba biološke varnostne komore razreda II, ločen prostor z negativnim tlakom) za vse respiratorne vzorce, iz katerih se izolirajo filamentne glive,
- pošiljanje kultur s sumom na dimorfne glive v nacionalni referenčni laboratorij, kjer se identifikacija izvaja v razmerah BSL-3.

Histoplasma capsulatum je druga najpogostejša patogena gliva, ki povzroča laboratorijsko pridobljene okužbe, takoj za *C. immitis/posadasii* (4). Zaenkrat poznamo eno patogeno vrsto – *H. capsulatum* – in njene tri različice *H. capsulatum* var. *capsulatum*, *H. capsulatum* var. *duboisii* in *H. capsulatum* var. *farciminosum*. Z okužbami ljudi sta najpogosteje povezani prvi dve varianti (14). V eni izmed zgodnjih raziskav so ugotovili, da so imeli laboratorijski delavci 2,5-krat pogosteje pozitiven kožni test na histoplazmin kot otroci iz Kansasa, endemičnega območja *H. capsulatum* (23), kar potrjuje večjo nevarnost okužbe v laboratorijskem okolju.

Kožni test za histoplazmo (angl. *histoplasmin skin test*) je bil zgodnja metoda za ocenjevanje izpostavljenosti glivi *Histoplasma capsulatum*. Po intradermalni aplikaciji 0,1 ml histoplazmina, antigenskega izvlečka iz kulture glive, se po 48–72 urah oceni induracija, ki razkrije preobčutljivost zapoznelega tipa (tip IV) (24).

Test je dobro zaznal preteklo izpostavljenost, vendar zaradi visoke pogostnosti pozitivnih rezultatov na endemičnih območjih in nezmožnosti razlikovanja med aktivno in prebolelo okužbo ni imel zadostne diagnostične specifičnosti. Zaradi nestandardiziranosti antigena in omejene uporabnosti je bil postopoma opuščен (24).

Podobno kot rodova *Blastomyces* in *Coccidioides* je *H. capsulatum* temperaturno dimorfna, primarno patogena gliva z najširšo znano geografsko razširjenostjo med tovrstnimi patogeni. Prisotna je na vseh celinah, z izrazito hiperendemičnimi območji v osrednjem in vzhodnem delu ZDA (doline rek Ohio in Misisipi) ter v Srednji in Južni Ameriki (Mehika, Argentina, Kostarika, Nikaragva, Gvatemala). V Evropi so primeri domnevno endemične histoplazmoze pri ljudeh redki; doslej je bilo opisanih manj kot deset posameznih primerov, in sicer iz Španije, Irske ter zlasti iz severovzhodne Italije (25).

Gliva uspeva predvsem v (sub)tropskem podnebjju, zlasti v zemlji, bogati z iztrebki ptic in netopirjev.

Večji izbruhi so bili povezani z značilnimi vremenskimi razmerami ali gradbenimi deli, pri katerih se mikrokonidiji sproščajo v zrak (26–28). V naravi in pri sobni temperaturi raste v micelijski obliki s tipičnimi mikro- in makrokonidiji. Mikrokonidiji so infektivni delci, odporni proti izsušitvi, ki se v gostitelju preobrazijo v kvasne

celice. Okužba se lahko iz pljuč razširi hematogeno in povzroči diseminirano (visceralno) histoplazmozo, ki lahko vodi v odpoved nadledvične žleze ali prizadetost osrednjega živčevja (kronični meningitis, možganski abscesi). Brez zdravljenja je diseminirana oblika pogosto smrtna. Pogosteje pa se akutna pljučna okužba razvije v kronično obliko, ob nastanku imunske oslabelosti pa se lahko reaktivira latentna okužba.

Okužbe laboratorijskih delavcev so opisane pri vdihavanju mikrokonidijev iz micelijskih kultur ali pri obdelavi zemlje z endemičnih območij (15, 29–31). V endemičnih regijah je pogosto težko razlikovati med laboratorijsko in naravno okužbo. Ob nezgodah, kot so poškodbe kože ali delo brez zaščite oči, se pojavijo lokalne okužbe zaradi neposredne inokulacije kužnega materiala (32–34).

Za dokazovanje histoplazmoze se uporabljajo detekcija antigena, serološki testi, histopatologija in kultura, ki skupaj zagotavljajo visoko občutljivost in specifičnost (35). Zlati standard ostaja kultura, vendar je pridobivanje vzorcev invazivno, rast plesni pa lahko traja več kot dva tedna, kar lahko odloži diagnozo. To je klinično pomembno, saj bolniki z diseminirano histoplazmozo brez zdravljenja pogosto umrejo v 10–14 dneh po začetku bolezni (36). Histopatološki dokaz kvasovk v tkivu potrjuje okužbo. Detekcija antigena, predvsem v urinu, je uporabna za diagnozo in spremljanje zdravljenja. Serološki testi (imunodifuzija, vezava kompleksa) so zlasti uporabni pri kroničnih in subakutnih oblikah bolezni. Molekularne metode, čeprav še niso standardizirane in komercialno dostopne, kažejo velik diagnostični potencial zaradi visoke specifičnosti in kratkega časa do rezultata (37, 38).

V Sloveniji se dokaz *H. capsulatum* opravi s kultivacijo in/ali serološkim preverjanjem protiteles iz krvi.

Kvasna oblika *H. capsulatum* se nahaja v tkivih okuženih živali in lahko povzroči lokalno okužbo po parenteralni inokulaciji ali stiku s sluznicami. Delo z micelijsko obliko glive, z zemljo ali drugimi materiali, ki lahko vsebujejo infektivne mikrokonidije, zahteva razmere BSL-3 (12). Za obdelavo kliničnih vzorcev in identifikacijo kvasnih kultur v rutinskih diagnostičnih laboratorijih zadostujejo razmere BSL-2 (12). Vsako kulturo, pri kateri obstaja sum na dimorfno glivo, je treba obravnavati v biološki varnostni komori razreda II; če obstaja možnost za nastanek aerosolov (npr. stresanje, vorteksiranje), je obvezna uporaba zaščitnih očal (12).

ZAKLJUČEK

Pri delu z materiali, ki lahko vsebujejo infektivne delce, je ključno, da pravilno ocenimo potencialno izpostavljenost in tveganje za okužbo, saj je to osnova za načrtovanje ustreznih varnostnih ukrepov. Tveganje za okužbe z glivami je v naših mikrobioloških laboratorijih majhno, ker večinoma obravnavamo oportunistične povzročitelje in povzročitelje površinskih mikoz z nizkim patogenim potencialom. Pri delu s takšnim materialom je treba dosledno upoštevati standarde BSL-2.

Drugače pa je pri morebitni izpostavitvi ali delu z vzorci, pri katerih obstaja sum, da vsebujejo primarno patogene endemične glive. V takih primerih mora laboratorij predhodno prejeti obvestilo pošiljatelja, ki na podlagi kliničnih in anamnestičnih podatkov utemelji sum na endemično mikozo. Glede na vrsto vzorca in pričakovano morfološko obliko glive se nato določi ustrezná raven zaščite (BSL-2 ali BSL-3) ter izvedejo ustrezni varnostni ukrepi.

LITERATURA

1. Lass-Flörl C, Steixner S. The changing epidemiology of fungal infections. *Mol Aspects Med.* 2023;94:101215.
2. Reddy GKK, Padmavathi AR, Nancharaiyah YV. Fungal infections: Pathogenesis, antifungals and alternate treatment approaches. *Curr Res Microb Sci.* 2022;3:100137.
3. Harding AL, Brandt Byers K. Epidemiology of laboratory-associated infections. In: Fleming DO, Hunt DL, eds. *Biological Safety: Principles and Practices.* 4th ed. Washington (DC): ASM Press; 2006. p. 53–77.
4. Gugnani HC, Randhawa HS. Laboratory-acquired fungal infections: a review. *Arch Microbiol Immunol.* 2020;4(2):51–6.
5. Shabankarehfard E, Ostovar A, Farrokhi S, Naeimi B, Zaeri S, Nazmara S, et al. Air- and dust-borne fungi in indoor and outdoor homes of allergic patients in a dust-storm-affected area. *Immunol Invest.* 2017;46(6):577–89.
6. Baxi SN, Portnoy JM, Larenas-Linnemann D, Phipatanakul W; Environmental Allergens Workgroup. Exposure and health effects of fungi on humans. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2016;4(3):396–404.
7. Barnes CS, Khurana Hershey GK. Indoor and outdoor fungal allergens and impacts on respiratory allergic disease. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2025;13(6):1267–71.
8. de Hoog GS, Dukik K, Monod M, Packeu A, Stubbe D, Hendrickx M, et al. Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. *Mycopathologia.* 2017;182(1-2):5–31.
9. Sewell DL. Laboratory-associated infections and biosafety. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8(3):389–405.
10. Fox JG, Lipman NS. Infections transmitted by large and small laboratory animals. *Infect Dis Clin North Am.* 1991;5(1):131–63.
11. Moskaluk AE, VandeWoude S. Current topics in dermatophyte classification and clinical diagnosis. *Pathogens.* 2022;11(9):957.
12. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL).* 6th ed. U.S. Department of Health and Human Services; 2020 [citirano 2025 Okt 10]. Dosegljivo na: <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>.
13. Wedum AG. History and epidemiology of laboratory-acquired infections (in relation to the cancer research program). *J Am Biol Safety Assoc.* 1997;2(1):12–29.
14. Ashraf N, Kubat RC, Poplin V, Adenis AA, Denning DW, Wright L, et al. Re-drawing the maps for endemic mycoses. *Mycopathologia.* 2020;185(5):843–65.
15. Pike RM. Laboratory-associated infections: summary and analysis of 3921 cases. *Health Lab Sci.* 1976;13(2):105–14.
16. Saccente M, Woods GL. Clinical and laboratory update on blastomycosis. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(2):367–81.
17. Saravanababu T, Elsayed S, Gupta R, Delport J, Rahimi Shahmirzadi M, AlMutawa F. Diagnosing blastomycosis: a review of laboratory methods and clinical utility. *J Fungi.* 2025;11(8):589.
18. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for safe work practices in human and animal medical diagnostic laboratories [citirano 2025 Okt 17]. Dosegljivo na: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/su6101a1.htm>.
19. Baron EJ, Miller JM. Bacterial and fungal infections among diagnostic laboratory workers: evaluating the risks. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;60(3):241–6.
20. Petersen LR, Marshall SL, Barton-Dickson C, Hajjeh RA, Lindsley MD, Warnock DW, et al. Coccidioidomycosis among workers at an archeological site, northeastern Utah. *Emerg Infect Dis.* 2004;10(4):637–42.
21. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Coccidioidomycosis. In: Kwon-Chung KJ, Bennett JE, eds. *Medical Mycology.* Malvern (PA): Lea & Febiger; 1992. p. 356–96.
22. Porte L, Valdivieso F, Wilmes D, Gaete P, Díaz MC, Thompson L, et al. Laboratory exposure to Coccidioides: lessons learnt in a non-endemic country. *J Hosp Infect.* 2019;102(4):461–4.
23. Urcolow ML, Guntheroth WG, Willis MJ. The frequency of laboratory infections with *Histoplasma capsulatum*: clinical and x-ray characteristics. *J Lab Clin Med.* 1952;40(2):182–7.
24. Brooks RA, Yan K, Head JR. Assessment of prior infection with histoplasmosis using skin test and serological surveys: a global systematic review. *Open Forum Infect Dis.* 2025;12(8):ofaf437. doi:10.1093/ofid/ofaf437.
25. Antinori S, Giacomelli A, Corbellino M, Torre A, Schiuma M, Casalini G, et al. Histoplasmosis diagnosed in Europe and Israel: a case report and systematic review of the literature from 2005 to 2020. *J Fungi.* 2021;7:481. doi:10.3390/jof7060481.

26. Chamany S, Mirza SA, Fleming JW, Howell JF, Lenhart SW, Mortimer VD, et al. A large histoplasmosis outbreak among high school students—Indiana, 2001. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23(10):909–14.
27. Hoff GL, Bigler WJ. The role of bats in the propagation and spread of histoplasmosis: a review. *J Wildl Dis*. 1981;17(2):191–6.
28. Morgan J, Cano MV, Feikin DR, Phelan M, Monroy OV, Morales PK, et al. A large outbreak of histoplasmosis among American travelers associated with a hotel in Acapulco, Mexico, Spring 2001. *Am J Trop Med Hyg*. 2003;69(6):663–9.
29. Schwarz J, Kauffman CA. Occupational hazards from deep mycoses. *Arch Dermatol*. 1977;113(9):1270–5.
30. Vanselow NA, Davey WN, Bocobo FC. Acute pulmonary histoplasmosis in laboratory workers: report of 2 cases. *J Lab Clin Med*. 1962;59:236–43.
31. Pike RM. Laboratory-associated infections: incidence, fatalities, causes, and prevention. *Annu Rev Microbiol*. 1979;33:41–66.
32. Tesh RB, Schneidau JD Jr. Primary cutaneous histoplasmosis. *N Engl J Med*. 1966;275:597–9.
33. Tosh FE, Balhuizen J, Yates JL, Brasher CL. Primary cutaneous histoplasmosis: report of a case. *Arch Intern Med*. 1964;114:118–9.
34. Buitrago MJ, Gonzalo-Jimenez N, Navarro M, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. A case of primary cutaneous histoplasmosis acquired in the laboratory. *Mycoses*. 2011;54(6):e859–61.
35. Azar MM, Hage CA. Laboratory diagnostics for histoplasmosis. *J Clin Microbiol*. 2017;55(6):1612–20.
36. Denning DW. Minimizing fungal disease deaths will allow the UNAIDS target of reducing annual AIDS deaths below 500,000 by 2020 to be realized. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2016;371(1709):20150468.
37. Mittal J, Ponce MG, Gendlina I, Nosanchuk JD. *Histoplasma capsulatum*: mechanisms for pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2019;422:157–91.
38. Toscanini MA, Nusblat AD, Cuestas ML. Diagnosis of histoplasmosis: current status and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2021;105(5):1837–59.

Ukrepi za zaščito zaposlenih v laboratoriju ob epidemiji respiratornih okužb ter izkušnje iz pandemij influence A(H1N1)pdm09 in SARS-CoV-2

Protective measures for laboratory personnel during epidemics of respiratory infections: insights from the influenza A(H1N1)pdm09 and SARS-CoV-2 pandemics

Katarina Prosenc Trilar,¹ Helena Ribič¹

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: biovarnost, varnost v laboratoriju, laboratorijsko osebje, respiratorni virusi, pandemija, influenza A(H1N1)pdm09, SARS-CoV-2

Laboratoriji imajo ključno vlogo pri odkrivanju, karakterizaciji in spremljanju respiratornih patogenov med epidemijami in pandemijami. Pojav visoko prenosljivih respiratornih virusov, kot sta gripa A (H1N1)pdm09 in SARS-CoV-2, je poudaril pomen biovarnosti in zaščite v laboratorijskih okoljih. Osebje, ki dela s kliničnimi vzorci ali namnoženimi respiratornimi virusi, se sooča s tveganjem nenamerne izpostavljenosti laboratorijsko pridobljenim okužbam in sekundarnemu prenosu. V prispevku predstavljamo temeljna načela biovarnosti, ravni zadrževanja patogenov v laboratorijih, osebno varovalno opremo in strategije obvladovanja tveganj, prilagojene respiratornim patogenom. Predstavljamo tudi izzive biovarnosti med pandemijo gripe leta 2009 in pandemijo covid-19, ko so se skrajno povečale potrebe po diagnostičnih zmogljivostih laboratorijev, s poudarkom na praktičnih pristopih za zaščito laboratorijskega osebja, in izkušnje, ki smo jih v dveh pandemijah pridobili.

ABSTRACT

KEY WORDS: biological safety, laboratory safety, laboratory staff, respiratory viruses, pandemic, influenza A(H1N1)pdm09, SARS-CoV-2

Laboratories play a critical role in the detection, characterization, and monitoring of respiratory pathogens during epidemics and pandemics. The emergence of highly transmissible respiratory viruses, such as influenza A (H1N1)pdm09 and SARS-CoV-2, has highlighted the critical importance of biosafety and biosecurity in laboratory settings. Personnel working with clinical specimens or virus isolates face the risk of inadvertent exposure, laboratory-acquired infections, and secondary

¹ Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano
Korespondenca: katarina.prosenc@nlzoh.si
Avtorici nimata navzkrižja interesov.

transmission. In this paper, we present the principles of biosafety, pathogen containment levels in laboratories, personal protective equipment, and risk management strategies tailored to respiratory pathogens. We present the challenges of biosafety during the 2009 influenza pandemic and the COVID-19 pandemic, when the need for laboratory diagnostic capacity has increased dramatically, with a focus on practical approaches to protecting laboratory personnel and lessons learned from the two pandemics.

UVOD

Virusi, ki povzročajo okužbe dihal, so v zgodovini večkrat preizkusili javnozdravstvene sisteme in v modernejših časih tudi laboratorijsko infrastrukturo. Epidemije in pandemije, ki jih povzročajo virusi, ki se prenašajo z vdihavanjem okuženega aerosola ali kapljično, kot so virusi gripe in koronavirusi, so pokazale, da varnost v laboratorijih ni le vprašanje zdravja pri delu. Izpad osebja v epidemiji ali pandemiji namreč pomeni manjšo zmogljivost diagnosticiranja, nadzora in raziskav bolezni in s tem slabše možnosti za javnozdravstveno ukrepanje. Navsezadnje, če so ukrepi biovarnosti neustrezni, je lahko okuženo osebje tudi dodaten vir širjenja okužbe v skupnosti.

Koncept biovarnosti zajema načela zadržanja patogenov, tehnologije in prakse, ki se izvajajo za preprečevanje nenamerne izpostavljenosti patogenom in njihovega nenamerne sproščanja. V kontekstu respiratornih virusov so ti ukrepi še zlasti pomembni zaradi možnosti prenosa z vdihavanjem in nizkega kužnega odmerka številnih povzročiteljev. Okvir ravni biovarnostnih stopenj (angl. *bio safety level*, BSL) zagotavlja standardiziran pristop k zadržanju patogenov v laboratorijih, od osnovnih praks varnega mikrobiološkega dela (BSL-1) do najstrožje stopnje varnosti (BSL-4) (1). Vendar pa tudi znotraj določenih ravni laboratorijske varnosti človeško vedenje, usposabljanje, organizacijska kultura in dobra laboratorijska praksa ostajajo odločilni dejavniki pri ohranjanju varnosti.

Pandemija gripe A(H1N1) leta 2009 je bila prvi obsežni svetovni izbruh v 21. stoletju. Laboratoriji po vsem svetu so hitro povečali diagnostične zmogljivosti za testiranje z verižno reakcijo s polimerazo v realnem času (RT-PCR), izolacijo virusa in antigensko ter gensko karakterizacijo. Izkušnje so poudarile tako pomen in moč globalnih laboratorijskih omrežij kot tudi njihovo ranljivost – zlasti glede usposabljanja za biovarnost, oskrbe z osebno varovalno opremo (OVO) in standardiziranih protokolov za varno ravnanje s kliničnimi vzorci.

Desetletje pozneje je pandemija covida-19, ki jo je povzročil koronavirus SARS-CoV-2, prinesla še večje izzive. Izjemno povpraševanje po testiranju je v kombinaciji z visoko prenosljivostjo virusa in pomanjkanjem ključnih materialov laboratorije prisililo v hitro prilagajanje. V mnogih primerih so diagnostični laboratoriji zaradi občutnega povečanja obsega dela delovali daleč preko svojih običajnih zmogljivosti, kar je dodatno otežilo zagotavljanje varnosti zaposlenih. Te okoliščine so razkrile prejšnje razlike v infrastrukturi, ki zagotavlja biovarnost, ter poudarile pomen pripravljenosti, prilagodljivosti in stalnega izobraževanja.

Obe pandemiji sta okrepili zavedanje o ključnih načelih biovarnosti, a sta razkrili tudi sistemske slabosti. Povečanje diagnostične delovne obremenitve in hitra vzpostavitev začasnih ali preurejenih laboratorijskih prostorov sta občasno privedla do odstopanj od ustaljenih varnostnih postopkov (npr. dostop, prezračevanje, ravnanje

z odpadki). Poročila o laboratorijsko pridobljenih okužbah, čeprav redka, so poudarila tveganje, povezano z delom z respiratornimi virusi (2).

V laboratorijih, ki ravnaajo z respiratornimi virusi, so glavni načini izpostavljenosti vdihavanje aerosolov, ki nastanejo med ravnanjem z vzorci (sprejem vzorcev, odpiranje ovojnine, stresanje /vorteksiranje/, odpiranje transportnih epruvet, pipetiranje, centrifugiranje idr.), stik s kontaminiranimi površinami ali opremo in prenos na sluznice dihal in oči ter perkutane poškodbe, kot so ureznine in druge nesreče s kontaminiranimi materiali (3, 4).

Učinkovita biovarnost je zato odvisna od kombinacije tehničnih pristopov, OVO, ustreznih navodil za varno delo in drugih ukrepov za zaščito zaposlenih. Tehnični pristopi vključujejo komore za varno biološko delo (angl. *biosafety cabinet*, BSC), nadzorovano prezračevanje, sobe z negativnim tlakom in filtracijske sisteme HEPA (angl. *high efficiency particulate air*), ki preprečujejo uhajanje kužnih aerosolov. Zadnja bariera je OVO, ki zagotavlja fizično zaščito laboratorijskega osebja med analitičnimi postopki. Navodila vključujejo standardne operativne postopke (SOP), ocene tveganja, programe usposabljanja in mehanizme nadzora (3, 4).

V letih 2009 in 2020 so se laboratoriji soočali z zahtevo po velikem povečanju obsega testiranja in hkrati skušali ohraniti standarde biovarnosti. Pandemija covid-19 je še zlasti razkrila krhkost globalnih dobavnih verig za OVO, razkužila in laboratorijski potrošni material (5, 6). Pomanjkanje mask/respiratorjev, rokavic in zaščitnih oblačil za enkratno uporabo je institucije prisililo v sprejetje ukrepov za nepredvidene razmere, kot so protokoli za podaljšano uporabo ali dekontaminacija – pristopi, ki so zahtevali skrbno oceno tveganja za uravnoteženje biovarnosti z operativno kontinuiteto (7).

Prepoznana je bila tudi psihološka razsežnost biovarnosti v kriznih situacijah. Strah pred okužbo, preobremenjenost in stres lahko poslabšajo upoštevanje varnostnih protokolov. Krepitev kulture biovarnosti torej presega tehnični nadzor – vključuje zavezanost vodstva, odprto komunikacijo in podporne sisteme za laboratorijsko osebje.

NAČELA BIOVARNOSTI V LABORATORIJH, KI RAVNAJO Z RESPIRATORNIMI PATOGENI

Načela biovarnosti so kombinacija fizičnih pregrad in postopkovnih ukrepov, ki preprečujejo izpostavljenost zaposlenih patogenom in njihovo nenamerno sproščanje v okolje, medtem ko ocena tveganja določa potrebno stopnjo ukrepov.

Pri respiratornih patogenih biovarnost temelji predvsem na omejevanju nastajanja aerosolov, zmanjševanju števila delcev v zraku z vzdrževanjem ustreznega prezračevanja in na ustreznem zaščitnem ravnanju osebja, vključno s pravilno uporabo OVO (1). Patogene mikroorganizme, odvisno od njihove patogenosti in načina prenosa, razvrščamo v tvegane skupine od RG1 do RG4 (angl. *risk group*, RG) (8). Številni respiratorni virusi, vključno s sezonsko gripo in koronavirusi, so razvrščeni v skupino RG2. Za viruse influence A(H1N1)1918 (pandemski sev), A(H2N2), ki je krožil med letoma 1957 in 1968, za visoko patogene viruse aviarne influence A(H5N1) in za SARS-CoV-2 velja, da za izvajanje postopkov izolacije virusov v celičnih kulturah spadajo v skupino RG3.

Glede na razvrstitev mikroorganizma v RG uporabimo ustrezno stopnjo biovarnosti od 1 do 4 (8, 9):

BSL-1: Osnovna laboratorijska oprema in zaščita (laboratorijska halja, rokavice), rutinsko čiščenje površin, brez posebnih prezračevalnih sistemov, obvezna je sterilizacija opreme, orodij in odpadkov z uporabo avtoklavov, načela in ukrepi dobre laboratorijske prakse. Uporabljamo jo pri delu z mikroorganizmi, ki ne povzročajo ali le izjemoma povzročajo bolezni pri zdravih odraslih ali pri živalih (npr. nepatogeni sevi *E. coli*).

BSL-2: Laboratoriji BSL-2 zajemajo vse zahteve BSL-1, dodatno pa se za zaščito pred aerosoli in kapljicami uporabljajo biološke varnostne komore (BSC I ali BSC II) in po presoji dodatna OVO (laboratorijska halja za enkratno uporabo, maska, očala/vizir, kapa, pokrivala za obutev). Dostop je omejen na usposobljene zaposlene in na druge v spremstvu usposobljenih zaposlenih. BSL-2 je standardna raven za diagnostično delo s patogeni, ki povzročajo blaga obolenja pri ljudeh in/ali so za njih na voljo preventivni ukrepi ali poizpostavitveno zdravljenje (npr. cepljenje) in nimajo znatnega vpliva na javno zdravje. V BSL-2 lahko delamo z večino kliničnih vzorcev, ki lahko vsebujejo respiratorne viruse, kot sta sezonska gripa, drugi virusi gripe in SARS-CoV-2. Za slednja se v laboratoriju BSL-2 lahko uporabljajo le tehnike, ki ne vključujejo namnoževanja virusa.

BSL-3: Laboratoriji BSL-3 zajemajo vse zahteve BSL-2, dodatno mora laboratorij imeti negativen tlak glede na okolico in odvajanje zraka s HEPA-filtracijo, dekontaminacijo (avtoklaviranje) v samem laboratoriju, zaprt delovni vmesnik (vstopni filter), dodatno specifično OVO (respiratorji) in strog nadzor vstopa, ki je omejen le na osebe, usposobljene za delo v BSL-3. Laboratorij BSL-3 je namenjen delu s patogeni, ki lahko povzročijo resne ali potencialno smrtonosne bolezni, za katere preventivni in poizpostavitveni ukrepi niso vedno na voljo in lahko predstavljajo veliko nevarnost za javno zdravje. Sem spadajo namnoževalne tehnike za viruse ptičje gripe in SARS-CoV-2.

BSL-4: Laboratoriji BSL-4 morajo imeti negativen tlak glede na okolico, odvajanje zraka s HEPA-filtracijo, dekontaminacijo (avtoklaviranje) v samem laboratoriju, zaprt delovni vmesnik (vstopni filter), izolacijske mehanizme (pogosto so v posebni stavbi). OVO vključuje zaščitne kombinezone za celotno telo in glavo z dovajanjem zraka, vso delovno opremo za delo z izjemno nevarnimi patogeni in prho v izstopnem filtru. Laboratorij BSL-4 je namenjen delu z najbolj nevarnimi patogeni, za katere preventivni in poizpostavitveni ukrepi niso na voljo in lahko predstavljajo veliko nevarnost za javno zdravje (npr. filovirusa Ebola in Marburg).

Med pandemijo covid-19 so Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) in nacionalni organi svetovali, da se diagnostično testiranje, ki ne vključuje namnoževanja (npr. ekstrakcija RNK in RT-PCR /verižna reakcija s polimerazo z reverznim prepisom/), lahko varno izvaja v razmerah BSL-2, medtem ko so testi izolacije in nevtralizacije virusa zahtevali BSL-3 (5). Ta diferenciacija na podlagi tveganja je omogočila hitro širitev diagnostičnih zmogljivosti ob hkratnem ohranjanju varnosti.

Laboratoriji morajo slediti ravni biovarnosti, ko se pojavijo nove variante ali patogeni, saj lahko prenosljivost in patogenost spremenita klasifikacijo določenega patogena.

Učinkovita biovarnost se začne z oceno tveganja – sistematično oceno nevarnosti, povezanih z laboratorijskimi dejavnostmi. Ocena tveganja upošteva:

- značilnosti patogena: infektivni odmerek, stabilnost v aerosolih, preživetje v okolju in razpoložljivost cepiv ali zdravil,

- tveganja zaradi postopkov: verjetnost nastanka aerosolov med odpiranjem vzorcev, pipetiranjem, stresanjem, centrifugiranjem ali uporabo avtomatiziranih aparatov,
- osebna tveganja zaposlenih: usposobljenost, izkušnje, imunski status,
- razpoložljivi prostori in oprema: postavitve oziroma organizacija laboratorija (poti), prezračevanje, filtri, vzdrževanost opreme.

Respiratorni patogeni predstavljajo posebne izzive, saj se mnogi lahko prenašajo z aerosoli in dlje preživijo na površinah (10).

Kvalitativna ocena tveganja določa, ali je potrebno zadrževanje po standardu BSL-2 ali BSL-3. Na primer, obdelava brisov zgornjih dihal za ekstrakcijo nukleinske kisline je postopek z zmernim tveganjem, ki ga je mogoče obvladovati po standardu BSL-2 z uporabo biovarnostne komore razreda BSC II. Gojenje virusa v celičnih linijah pa zahteva standard BSL-3.

Ocene tveganja je treba dokumentirati, redno pregledovati in posodabljeni vsakič, ko se laboratorijski postopki spremenijo ali se pojavijo novi podatki.

Ohranjanje biovarnosti med pandemijami respiratornih virusov prinaša več stalnih izzivov:

- Omejitve virov: omejena razpoložljivost OVO, certificiranih BSC in usposobljenega osebja, kar lahko ogrozi varnost.
- Potreba po hitrem povečanju obsega testiranja: vzpostavljanje začasnih kapacitet prinese tveganja, saj te v danem trenutku morda še nimajo popolnoma ustrezne infrastrukture.
- Ravnanje z odpadki: velike količine izvedenih testov ustvarjajo velike količine biološko nevarnih odpadkov, kar zahteva učinkovite sisteme za obdelavo in odstranjevanje.
- Velike količine nastalih odpadkov pomenijo tudi večjo obremenitev okolja. Poveča se priliv neinfektivnih odpadkov na deponije, potrebnih pa je tudi več sežigov, ki zahtevajo več energije.
- Psihosocialni dejavniki: utrujenost, stres in strah lahko vodijo do dodatnih tveganj.
- Standardizacija: spreminjanje mednarodnih in nacionalnih predpisov o biovarnosti med pandemijami lahko ustvari nejasnosti in nedoslednosti pri ravnanju s patogeni.

ZAŠČITA ZAPOSLENIH V LABORATORIJU

Zaščita laboratorijskega osebja je osrednjega pomena za sisteme biovarnosti. Respiratorni virusi so poseben izziv, ker se lahko širijo s kapljicami, aerosoli in kontaminiranimi površinami, kar poveča tveganje tudi med rutinskimi diagnostičnimi postopki.

Osebna varovalna oprema (OVO)

Po zagotovitvi ustreznih prostorov in opreme ter SOP sta OVO in varno ravnanje zadnja obrambna linija pred okužbami (Preglednica 1). Pravilna izbira, prileganje in dosledna uporaba OVO so bistveni v laboratorijih, ki delajo z respiratornimi patogeni.

Preglednica 1: Vrste osebne varovalne opreme (OVO).

Vrsta OVO	Osnovna funkcija	Primeri/Opombe
Zaščita dihal	Preprečevanje vdihavanja aerosolov in kapljic	Maske/respiratorji FFP2/N95 ¹ za BSL-2 ² ; respiratorji za čiščenje zraka z napajanjem (PAPR ³) za BSL-3 ⁴
Rokavice	Zaščita pred prenosom s stikom	Nitrilne ali lateksne rokavice; dvojne rokavice za postopke z visokim tveganjem
Zaščita oči in obraza	Zaščita kože in sluznice pred brizganjem	Zaščitna očala ali vizir
Zaščitna oblačila	Preprečevanje kontaminacije osebnih oblačil in kože	Zaščitne halje, kombinezoni ali za enkratno uporabo; neprepustni predpasniki za ravnanje s tekočinami
Obutev	Zmanjšanje kontaminacije in zdrsov	Zaprti čevlji ali prevleke za obutev za enkratno uporabo v conah z visoko stopnjo zadrževanja

¹ FFP2 – *filtering facepiece 2* (evropski standard), N95 (ameriški ekvivalent)² BSL 2 – raven biovarnosti 2 (angl. *bio safety level 2*)³ PAPR – *powered air purifying respirator*, respirator z baterijskim motorjem za pretok zraka v zaščitnem pokrivalu za glavo⁴ BSL 3 – raven biovarnosti 3 (angl. *bio safety level 3*)

OVO mora biti certificirana in ustrezne velikosti, potrebno jo je redno menjati. Ponovna ali daljša uporaba (glede na izjavo proizvajalca) zahteva predhodno oceno tveganja in metode dekontaminacije (6). Izjemno pomembno pa je tudi pravilno oblačenje, snemanje in odlaganje OVO. Nepravilnosti pri izvedbi teh postopkov močno povečajo tveganje za kontaminacijo oziroma samokontaminacijo.

Pravilen potek oblačenja OVO (BSL-2): Higiena rok → halja → maska/respirator → zaščitna očala/obrazni ščitnik → rokavice.

Pravilen potek odstranjevanja OVO (BSL-2): Rokavice → halja → higiena rok → maska za obraz/zaščita za obraz → higiena rok. Higiena rok vključuje razkuževanje. Če so roke mokre, si jih je treba umiti, osušiti in nato razkužiti.

Usposobljen opazovalec lahko vodi osebe med odstranjevanjem OVO, zlasti v laboratorijih BSL-3 (3).

Pri ravnanju z vzorci dihal, ki lahko ustvarijo aerosole, so priporočljive maske za obraz (angl. *filtering facepiece 2*, FFP2 /evropski standard/ oziroma N95 /ameriški ekvivalent/ ali višje stopnje zaščite). Za postopke, ki vključujejo kulturo živih virusov ali potencialno aerosolizacijo zunaj komor za varno laboratorijsko delo BSC, pa boljše zaščito zagotavljajo respiratorji PAPR (angl. *powered air purifying respirator*, respirator z baterijskim motorjem za pretok zraka v zaščitnem pokrivalu za glavo) (4). Za zagotovitev učinkovitosti so obvezni preizkusi prilaganja in preverjanja tesnjenja pred vstopom v prostor, v katerem smo izpostavljeni respiratornim patogenom. Maske FFP2 in FFP3 naj bi praviloma uporabljali največ 2 uri in jih potem zavrgli, saj učinkovitost zadrževanja delcev močno upade. Kirurškim maskam učinkovitost zadrževanja delcev močno upade že po 15 do 30 minutah (11).

Med pandemijo covid-19 je svetovno pomanjkanje respiratorjev FFP2/N95 privedlo dočasne uporabe tehnik dekontaminacije (npr. uparjeni vodikov peroksid, obsevanje z ultravijolično svetlobo). Študije so potrdile, da so do trije cikli dekontaminacije ohranili učinkovitost filtracije (7).

Dobra laboratorijska praksa in standardni operativni postopki

Dobra laboratorijska praksa in SOP so temelj varnosti v laboratoriju, saj so zaposleni brez njih tudi ob dobrih prostorskih in tehničnih razmerah ter ustrezni OVO lahko izpostavljeni respiratornim patogenom.

Ključni elementi dobre laboratorijske prakse za delo z respiratornimi patogeni so:

- Omejitev nastajanja aerosolov: izogibanje intenzivnemu mešanju (vorteksiranju) in hitremu pipetiranju ali mešanju in pipetiranju zunaj komor BSC, uporaba zaprtih epruvet in rotorjev.
- Nadzorovano ravnanje z vzorci, odpiranje posodic z vzorci samo znotraj komor BSC.
- Dekontaminacija pred postopki in po njih: delovne površine in orodja (pipete, centrifuge, stojala) očistimo s 70-odstotnim etanolom ali 0,1–0,5-odstotnim natrijevim hipokloritom.
- Med delom v laboratoriju ne uporabljamo telefonov in mobilnih telefonov oziroma pred uporabo snamemo rokavice in si razkužimo roke ali uporabljamo brezstično telefoniranje. Roke si razkužimo tudi po uporabi telefona. Telefon mora biti na mestu, kjer ne more priti v stik s kužninami.
- V laboratoriju je prepovedano jesti, žvečiti žvečilni gumi, piti, kaditi, žvečiti tobak (snus, fuge) ali se dotikati obraza.
- Pravilno označevanje in ločevanje kužnih materialov, da se prepreči navzkrižna kontaminacija.
- Higiena rok: pred uporabo rokavic in po njej ter takoj po morebitni izpostavljenosti.
- Pravilna uporaba BSC – zagon pred delom po navodilih proizvajalca, redno vzdrževanje, redno čiščenje in razkuževanje idr.

SOP morajo odsevati posodobljene smernice organov, kot so SZO, ameriški Center za nadzor nad nalezljivimi boleznimi (angl. *Centres for Disease Prevention and Control*, CDC) in nacionalne smernice. Vsak SOP mora opredeliti odgovornosti, zahtevano OVO, ukrepe za odzivanje na razlitje in metode odstranjevanja odpadkov (12).

Cepljenje

Cepljenje je dodaten zaščitni ukrep za laboratorijsko osebje, ki dela z respiratornimi patogeni, pri katerih je okužbo mogoče preprečiti s cepljenjem. Cepljenje proti sezonski gripi je še posebno priporočljivo za zaposlene v laboratorijih, ki delajo z vzorci iz človeških dihal, saj zmanjšuje verjetnost obolenja ob morebitni laboratorijski izpostavitvi, skrajša čas odsotnosti zaradi okužbe, pridobljene zunaj laboratorija, ter omogoča ločitev med laboratorijsko in zunajlaboratorijsko okužbo, predvsem pri delu z virusi gripe, ki niso sezonski (13).

Med pandemijo H1N1 leta 2009 se je prednostno cepljenje laboratorijskih delavcev izkazalo za učinkovito pri preprečevanju prenosa na delovnem mestu (14). Podobno so bile med pandemijo covid-19 kampanje cepljenja za laboratorijsko osebje bistvenega pomena za ohranjanje diagnostičnih zmogljivosti (15).

V ustanovah, ki delajo z visoko patogeno aviarno gripo ali drugimi novimi respiratornimi virusi, je treba razmisliti o sodelovanju v specifičnih programih cepljenja ali eksperimentalnih programih cepljenja, kadar so na voljo.

Ravnanje z odpadki in dekontaminacija

Odpadki, ki nastanejo pri diagnostičnem ali raziskovalnem delu z respiratornimi virusi – kot so uporabljeni brisi in epruvete, konice pipet in OVO za enkratno uporabo –, so razvrščeni kot biološko nevarni odpadki. Nepravilno ravnanje z njimi je lahko vir sekundarne izpostavljenosti za laboratorijsko osebje in osebje, ki čisti laboratorije.

Infektivne odpadke je treba zbirati na mestu nastanka v vrečkah za biološko nevarne odpadke, primernih za avtoklaviranje. Ostre predmete je treba odvreči v namenske posode, odporne proti prebadanju. Infektivne odpadke lahko avtoklaviramo, kemično dezinficiramo z 0,5-odstotnim natrijevim hipokloritom ali jih posredujemo v nadziran sežig (vedno v posodah, ki jih ni mogoče odpreti).

Laboratoriji BSL-3 imajo običajno avtoklave v ali tik ob laboratoriju ter nadzorovan pretok odpadkov skozi dekontaminacijske bariere. Obdelani odpadki morajo biti pred nadaljnjim odstranjevanjem jasno označeni kot neinfektivni (16).

Obvladovanje razlitij in izpostavljenosti

Na voljo morajo biti kompleti za nujne primere, če pride do razlitja, osebje pa mora biti usposobljeno za njihovo uporabo.

Takojšen odziv na razlitje vključuje:

1. Opozorilo osebju in omejitev dostopa do območja.
2. Zagotavljanje časa, da se aerosoli usedejo (najmanj 30 minut za BSL-3).
3. Uporaba ustreznega razkužila z ustreznim časom stika.
4. Varno zbiranje in odstranjevanje materialov.
5. Poročanje o incidentu za dokumentiranje in preprečevanje v prihodnje.

Organizacijski ukrepi za izboljšanje varnosti v laboratoriju

- Razporejanje delovne sile: omejitev dolžine izmen za zmanjšanje utrujenosti.
- Nadzor dostopa: omejevanje vstopa samo na nujno osebje.
- Obveščanje o incidentih: vzpostavitev nekaznovalnih sistemov poročanja.
- Upravljanje dobavne verige: vzdrževanje zaloga OVO in razkužil z načrtovanjem ukrepov v primeru pomanjkanja.
- Pripravljenost na izredne razmere: redne vaje za požar, razlitje ali medicinske nujne primere.

Med pandemijo covid-19 so mnogi laboratoriji uvedli ločevanje izmen, da bi zmanjšali navzkrižno izpostavljenost med ekipami. Ta ukrep je zagotovil neprekinjeno delovanje tudi v primeru okužb med osebjem (17).

IZKUŠNJE IZ PANDEMIJE GRIPE A (H1N1) LETA 2009

Pandemija gripe A (H1N1)pdm09 leta 2009 je bila prva pandemija 21. stoletja. Virus, ki je vseboval genske segmente prašičje, ptičje in človeške gripe, je bil prvič dokazan v Mehiki in Združenih državah Amerike aprila 2009 (18).

Kljub zmerni virulenci je hitro globalno širjenje pandemije močno obremenilo diagnostične laboratorije in jih prisililo, da so razširili zmogljivosti in uvedli ukrepe biovarnosti za ravnanje z novim respiratornim patogenom.

Takrat so Globalni sistem za nadzor in odzivanje na gripo (angl. *Global Influenza Surveillance and Response System*, GISRS) pri SZO, Nacionalni referenčni centri za gripo in javnozdravstveni laboratoriji služili kot hrbtenica za diagnostiko in karakterizacijo pandemskega virusa. Pandemija je razkrila slabosti v pripravljenosti na

pandemske dogodke, vključno z neenakomerno laboratorijsko infrastrukturo in pomanjkanjem usposobljenega osebja.

V Sloveniji je 10. maja 2009 metodo detekcije, za influenco A(H1N1)pdm09 specifičen PCR, uvedel Laboratorij za javnozdravstveno virologijo Nacionalnega laboratorija za zdravje okolje in hrano – NLZOH (takrat IVZ – Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije) in 17. junija 2009 potrdil prvi primer okužbe v Sloveniji (19).

Na začetku pandemije gripe 2009, ko infektivnost virusa in klinični potek bolezni še nista bila natančno raziskana, smo v Laboratoriju za javnozdravstveno virologijo NLZOH vzorce, ki so potencialno vsebovali nov virus, obdelovali v komori za varno biološko delo BSC-2 in uporabili dodatno OVO (respirator FFP3, zaščitna očala ali vizir, dvoje rokavic, haljo za enkratno uporabo, kapo in zaščito obutve). Za primarno obdelavo vzorcev smo uporabljali le en prostor, ki smo ga po vsaki uporabi dekontaminirali. Ko je julija 2009 Evropski center za preprečevanje in obvladovanje bolezni (angl. *European Centre for Disease Prevention and Control*, ECDC) predlagal prehod iz faze zadržanja virusa (ang. *containment*) v ukrepe blaženja pandemije (ang. *mitigation*), je sprostil tudi varnostne ukrepe, zato smo prešli na običajno stopnjo varnosti BSL-2. Oktobra 2009 je bilo na voljo tudi cepivo proti novemu sevu A(H1N1)pdm09 (20, 21).

Prvi val epidemije je dosegel vrh julija 2009 in v tem času je bil priliv vzorcev dvakrat tolikšen kot v rednih zimskih sezonah. Potrebno je bilo podaljšati delovni čas ob delavnikih in dela prostih dneh, kar je bilo z majhnim kolektivom zelo zahtevno. Dodatno je bila zaposlena ena oseba.

Do začetka drugega vala pandemije so za influenco A(H1N1)pdm09 specifičen PCR uvedli še na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo MF v Ljubljani (IMI), v Laboratoriju NLZOH Maribor (takrat Zavod za zdravstveno varstvo Maribor) in v teku pandemije še v drugih laboratorijih NLZOH.

V drugem valu, ki je dosegel vrh novembra 2009, se je priliv vzorcev še povečal, a obremenitev z diagnostiko se je porazdelila med več laboratorijev. Hkrati so bile tudi varnostne zahteve za delo v laboratoriju sproščene na običajno raven BSL-2 in na voljo je bilo cepivo.

Prednost Laboratorija za javnozdravstveno virologijo NLZOH, IMI, Laboratorija NLZOH Maribor in nekaterih drugih je bila v tem, da se je v njih že pred pandemijo uporabljala tehnologija PCR, kar je odpravilo potrebo po dodatni nabavi opreme in omogočilo hitro ter nezahtevno usposabljanje osebja.

Zaradi razmeroma hitrega prehoda na običajno stopnjo varnosti BSL-2 ni bilo pomanjkanja OVO. Število testiranih vzorcev se je sicer močno povečalo, a ne toliko, da bi zmanjkalo reagentov in drugih laboratorijskih potrebščin. Kljub temu smo v Laboratoriju za javnozdravstveno virologijo NLZOH po pandemiji A(H1N1)pdm09 na novo ocenili in povečali količine OVO in drugih materialov.

Primerjava izzivov med pandemijama gripe A(H1N1)pdm09 in SARS-CoV-2 je podana v Preglednici 2.

Preglednica 2: Primerjava značilnih izzivov med pandemijama gripe A(H1N1)pdm09 in SARS-CoV-2.

	Pandemija A(H1N1)pdm09	Pandemija SARS CoV-2
Vrsta OVO	3 mesece: BSL2 + FFP3 + kapa, očala, plašč za enkratno uporabo, zaščita obuval Nadalje: BSL2 + FFP2 + plašč za enkratno uporabo	Začetek: BSL2 + FFP2 + kapa, očala, plašč za enkratno uporabo, zaščita obuval Nadalje: BSL2 + FFP2 + plašč za enkratno uporabo
Pomanjkanje OVO	Ne	Da
Pomanjkanje opreme	Da	Da
Povečanje obsega dela	Prvi val: 2 x Drugi val: 7 x	15–16 x
Dodatno zaposlovanje	Minimalno	Obsežno
Obolevanje kadra*	Minimalno	Da
Cepljenje	Na voljo po 6 mesecih	Na voljo po 10 mesecih
Težave	Osebj	Osebj Pomanjkanje OVO
Rešitve	Širitev testiranja v več diagnostičnih laboratorijev. Dokup nekaterih aparatov.	Preusmeritev osebja iz drugih delov laboratorija, dodatna zaposlovanja. Poraba FFP2 ves delovni čas, vzdrževanje fizične razdalje po možnostih, zračenje. Smiselna racionalizacija porabe OVO, pomoč med laboratoriji, iskanje novih virov dobave. Obsežno dokupovanje različnih aparatov.

* Okužbe osebja v skupnosti ali od sodelavcev, vendar ne laboratorijske okužbe zaradi dela z infektivnim materialom.

IZKUŠNJE IZ PANDEMIJE SARS-COV-2

Pojav novega koronavirusa (SARS-CoV-2) konec leta 2019 je sprožil najboljše svetovno krizo javnega zdravja v zadnjem stoletju. Virus, ki je bil prvič odkrit v Wuhanu na Kitajskem decembra 2019, se je širil z izjemno hitrostjo (22).

Obseg pandemije je diagnostičnim laboratorijem postavil največje zahteve do tedaj. Mnogi so sicer lahko uporabili izkušnje iz pandemije A(H1N1)pdm iz leta 2009, a so obseg in trajanje pandemije ter prenosljivost SARS-CoV-2 razkrili nove ranljivosti v sistemih biovarnosti, infrastrukturi in globalnem usklajevanju.

Diagnostični steber odziva na covid-19 je bila detekcija virusne RNK v vzorcih zgornjih dihal z metodo RT-PCR. Referenčni laboratoriji SZO so hitro razvili specifične RT-PCR-metode in jih distribuirali po vsem svetu (23). Večina diagnostičnega dela je bila razvrščena in izvedena v razmerah biovarnosti BSL-2 z okrepljenimi preventivnimi ukrepi, kot so obvezna uporaba komor BSC razreda II, respiratorjev FFP2/N95 in zaščite za oči (24). Namnoževanje virusa SARS-CoV-2 in tehnike, ki zahtevajo delo z namnoženim živim virusom, pa so bile in so še danes omejene na delo v stopnji varnosti BSL-3.

V nekaj mesecih je na tisoče kliničnih in javnozdravstvenih laboratorijev prešlo na obsežno testiranje SARS-CoV-2.

Širitev je imela resne izzive za biovarnost:

- Obsežno povečanje količine vzorcev je zahtevalo razširitev v prostore, kjer so se prej izvajale druge metode ali sploh niso bili namenjeni laboratorijskemu delu, zato je bilo treba zagotoviti ustrezne pogoje, poti in pretok vzorcev. Ponekod so postavljali nove, pogostočasne in mobilne laboratorije.
- V diagnostiko so se morali vključiti zaposleni z omejenimi izkušnjami na področju virologije, molekularnih metod in varnega dela s kužninami. Potrebno je bilo hitro, stalno (fluktuacija kadrov), a skrbno usposabljanje.
- Pomanjkanje OVO in drugih laboratorijskih materialov.
- Preutrujenost zaposlenih zaradi podaljševanja delovnega časa in izmenskega dela za zagotavljanje 24-urne diagnostike vse dni v tednu.
- V transport vzorcev so bile vključene osebe, ki prej niso delovale v zdravstvu. Nujno je bilo stalno skrbno obveščanje in usposabljanje.

Pomanjkanje OVO so laboratoriji reševali z razvrščanjem postopkov v bolj nevarne (odpiranje in priprava vzorcev do inaktivacije, postopki namnoževanja virusa) in manj nevarne (ekstrakcija RNK iz inaktiviranih vzorcev, RT-PCR) ter uporabo OVO glede na tveganje. Ponekod so uvedli dekontaminacijo OVO in njeno ponovno uporabo. Za dekontaminacijo se je uporabljal uparjen vodikov peroksid, UV-sevanje ali visoka temperatura (60–70 °C za najmanj 30 min) (25).

V Sloveniji sta imela januarja 2020 IMI in Laboratorij za javnozdravstveno virologijo NLZOH že vzpostavljeno metodo za detekcijo SARS-CoV-2 z RT-PCR in 4. marca 2020 so na IMI potrdili prvo okužbo. Kot povsod po svetu so se zahteve po testiranju hitro skrajno povečale in dosegle vrh januarja 2022, ko je bilo kumulativno v Sloveniji dnevno opravljenih 15 do 20 tisoč PCR-testiranj (26). Za primerjavo – na vrhuncu kroženja respiratornih virusov v sezoni pred pandemijo (2018/19) je bilo v Sloveniji opravljenih 1300 testov PCR na teden. Hitro in veliko povečanje obsega testiranja v laboratorijih so omogočili tudi proizvajalci aparatov za hitro ekstrakcijo nukleinskih kislin, aparatov za PCR ter kartušnih platform, ki so ponudili zelo zmogljive naprave. Prav tako pomemben prispevek k dvigu obsega testiranja so dale nove informacijske rešitve, ki so zmanjšale obseg administrativnih del in pospešile pretok podatkov.

Kot drugod po svetu je tudi v Sloveniji na splošno in v laboratorijih primanjkovalo OVO, razkužil, drugih laboratorijskih pripomočkov in reagentov. Ozko grlo je bilo tudi pomanjkanje usposobljenega kadra, pri čemer je hitro uvajanje zaposlenih iz drugih delovišč gotovo predstavljalo varnostno tveganje. V Sloveniji je bilo cepljenje proti SARS-CoV-2 na voljo 27. 12. 2020, kar je zmanjšalo tudi tveganje za okužbo v laboratorijih.

ZAKLJUČEK

Tako pandemija gripe A (H1N1)pdm09 leta 2009 kot pandemija SARS-CoV-2 sta potrdili nepogrešljivo vlogo laboratorijev v globalnih sistemih zdravstvenega odzivanja. V obeh primerih so laboratoriji opravljali diagnostično testiranje, karakterizacijo patogenov in nadzor ter seveda predstavljali potencialni vir poklicnega tveganja. Čeprav sta se pandemiji razlikovali po obsegu, trajanju in metodološkem kontekstu, sta obe preizkusili vzdržljivost biovarnosti v laboratorijih pod izjemnimi pritiski. Pandemija gripe leta 2009 je prizadela predvsem nacionalne javnozdravstvene laboratorije in referenčne centre SZO, medtem ko je pandemija covid-19 prizadela na tisoče diagnostičnih laboratorijev, vključno z zasebnimi, akademskimi in terenskimi

ustanovami. Ta obsežna širitev je povečala izzive biovarnosti, hkrati pa prinesla izkušnje za prihodnje dogodke. Izkušnje, ki smo jih pridobili, lahko strnemo v nekaj točk:

- Pomen zalog OVO in drugih laboratorijskih potrebščin.
- Pomen zagotavljanja dobavnih verig čim bolj lokalno.
- Vsak laboratorij, v katerem poteka diagnostika respiratornih virusov, bi moral razmišljati o možnosti hitrega povečanja obsega testiranja:
 - Prilagoditev prostorov za varno povečanje obsega dela.
 - Usposobljenost kadrov z drugih delovišč za varno delo in osnovne metode v diagnostiki respiratornih virusov.
 - Organizacija izmenskega dela.
- Redno obnavljanje znanja za varno uporabo OVO – tudi tisto, ki ni v vsakdanji uporabi.
- Uvedba dekontaminacijskih tehnik za OVO, da so ob potrebi po ponovni uporabi OVO že vpeljane.
- Vodstva ustanov morajo ob podpori države zagotoviti zakonodajo (27) in vire za izvajanje navedenih aktivnosti. To državam nalaga tudi Uredba (EU) 2022/2371 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 23. novembra 2022 o resnih čezmejnih grožnjah za zdravje (28).
- Nujna je vključenost v mednarodne mreže zgodnjega opozarjanja (SZO, ECDC, GOARN, EWRS), redno spremljanje objav uradnih institucij ter vzdrževanje učinkovite komunikacijske poti med kliniki, laboratoriji, epidemiologi in zdravstvenimi oblastmi. Sodelovanje v teh sistemih omogoča takojšen dostop do preverjenih informacij o novih izbruhih, hitrih opozoril in priporočil za ukrepanje. Poleg institucionalnih kanalov imajo pomembno vlogo tudi platforme za izmenjavo podatkov o sekvencah patogenov (npr. GISAID), ki omogočajo zgodnje zaznavanje nenavadnih vzorcev bolezni.

Prihodnje usmeritve bi morale poudarjati trajnostne naložbe v infrastrukturo in vključevanje biovarnosti v načrtovanje pripravljenosti na izredne razmere. Vzpostavitev mednarodnih omrežij za biovarnost v laboratorijih lahko olajša hitro izmenjavo najboljših praks med izbruhi. Razvoj novih tehničnih rešitev, kot so modularne delovne postaje z negativnim tlakom in avtomatizirani roboti za ravnanje z vzorci, ponuja obetavna orodja za zmanjšanje izpostavljenosti ljudi.

Usposobljeno laboratorijsko osebje, ki strogo upošteva postopke za varno delo v vsakdanji rutini, bo bistveno zmanjšalo tveganja, ki jih prinašajo pandemske situacije.

LITERATURA

1. World Health Organization. *Laboratory biosafety manual*, 4th ed. Geneva: WHO; 2020.
2. Everington K, et al. Possible Ways COVID Lab Infection Occurred. *Taiwan Lists* 3. 2021 [citirano 2025 Nov 10]. Dosegljivo na: <https://www.taiwannews.com.tw/en/news/4382708>.
3. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories* (6th ed.). Washington DC: HHS; 2020.
4. Occupational Safety and Health Administration (OSHA). *Respiratory Protection Standard 29 CFR 1910.134*. Washington DC; 2019.
5. WHO. *Interim guidance: Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19)*. 2020.
6. Centers for Disease Control and Prevention. *Interim guidance for PPE use in laboratories during SARS-CoV-2 testing*. 2020.
7. Liao L et al. *Can N95 respirators be reused after disinfection? How many times?* *ACS Nano*. 2020;14(5):6348–6356.
8. Centers for Disease Control and Prevention & NIH. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories* (BMBL), 6th ed. Washington DC; 2020.

9. European Centre for Disease Prevention and Control. *Safe handling of specimens associated with respiratory viruses*. Stockholm; 2021.
10. Tellier R, Li Y, Cowling BJ, Tang JW. *Recognition of aerosol transmission of infectious agents: a commentary*. BMC Infect Dis. 2019;19:101.
11. Pogačnik Krajnc A et al. Size- and Time-Dependent Particle Removal Efficiency of Face Masks and Improvised Respiratory Protection Equipment Used during the COVID-19 Pandemic. Sensors (Basel). 2021 Feb 24;21(5):1567.
12. van Doremalen N et al. *Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 compared with SARS-CoV-1*. N Engl J Med. 2020;382:1564–1567.
13. Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *Influenza vaccination of healthcare personnel*. MMWR. 2021;70(5):157–162.
14. Bell DM. *Prevention of laboratory-acquired influenza infections during the 2009 pandemic*. Emerg Infect Dis. 2010;16(8):1311–1317.
15. WHO. *Operational guidance for COVID-19 vaccination in laboratories*. Geneva; 2021.
16. Rutala WA, Weber DJ. *Guidelines for disinfection and sterilization in healthcare facilities*. CDC; 2019.
17. Chen W et al. *Shift rotation and infection prevention among laboratory workers during COVID-19*. J Occup Health. 2021;63(1):e12212.
18. Al Hajjar S, McIntosh K. The first influenza pandemic of the 21st century. Ann Saudi Med. 2010;30(1):1–10.
19. Sočan M et al. Epidemiološke in klinične značilnosti bolnikov, okuženih z virusom influence a (H1N1)v Sloveniji. Zdrav vestn. 2009;78:467–72.
20. Boggild A et al. Laboratory diagnosis of 2009 H1N1 influenza A virus. Critical Care Medicine 38:p e38-e42, 2010.
21. ECDC: Timeline on the pandemic (H1N1) 2009 [citirano 2025 Nov 10]. Dosegljivo na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/seasonal-influenza/2009-influenza-h1n1-timeline>.
22. World Health Organization. *Timeline: WHO's COVID-19 response*. Geneva; 2021.
23. Corman VM et al. *Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR*. Euro Surveill. 2020;25(3):2000045.
24. WHO. *Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19): Interim guidance*. Geneva; 2020.
25. Fischer RJ et al. *Assessment of N95 respirator decontamination and reuse for SARS-CoV-2*. Emerg Infect Dis. 2020;26(9):2253–2255.
26. COVID-19 Sledilnik [citirano 2025 Nov 10]. Dosegljivo na: <https://covid-19.sledilnik.org/sl/stats#tests-chart>.
27. Pravilnik o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkim dejavnikom pri delu. Uradni list RS, št. 168/20 z dne 20. 11. 2020.
28. Uredba (EU) 2022/2371 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 23. novembra 2022 o resnih čezmejnih groznjah za zdravje in razveljavitvi Sklepa št. 1082/2013/EU.

Laboratorijsko delo s kužninami pri sumu na tuberkulozo

Laboratory work with infectious specimens in suspected tuberculosis cases

Špela Klemen,¹ Sara Truden,¹ Manca Žolnir-Dovč^{1*}

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: aerosol, laboratorij, prenos, BSL-3, usposobljenost, neustrezne razmere v Sloveniji

Mycobacterium tuberculosis (MT) je povzročiteljica tuberkuloze in je razvrščena v 3. skupino bioloških dejavnikov tveganja. Tveganje za laboratorijsko okužbo je odvisno od koncentracije bakterij in možnosti nastanka aerosola. Dokazano je, da je med laboratorijskimi delavci tveganje za okužbo s tuberkulozo nekajkrat višje kot v splošni populaciji, vendar predvsem zaradi boljših varnostnih protokolov upada. Tudi v Sloveniji so v preteklosti laboratorijski delavci večkrat oboleli za aktivno tuberkulozo, zadnji zaznan primer na Golniku je iz leta 2005. Z novejšimi molekularnimi tehnikami lahko tovrstne okužbe tudi nedvoumno potrdimo ali ovržemo. Pri preprečevanju okužb med laboratorijskim delom so zato bistvena prizadevanja za omejevanje nastajanja aerosolov. Postopke, kjer se tvori aerosol, in delo s kulturo MT moramo izvajati v laboratoriju tretje biološke varnostne stopnje (BSL-3). Nujna osebna varovalna oprema so maska FFP3, ustrezne zaščitne rokavice, zaščitna halja ali plašč in očala. Ključno je dobro zavedanje in izobraženost prav vseh laboratorijskih delavcev, saj se le tako lahko preprečijo delovne nesreče. Za delo s kulturami netuberkuloznih mikobakterij se priporoča praksa, oprema in laboratoriji druge varnostne stopnje BSL-2. V Sloveniji leta 2025 nacionalni laboratorij za diagnostiko tuberkuloze še vedno deluje v prostorih BSL-2+ in ne razpolaga z varnostno ustreznim laboratorijem BSL-3.

ABSTRACT

KEY WORDS: aerosol, laboratory, transmission, BSL-3, competence, inadequate conditions in Slovenia

Mycobacterium tuberculosis (MT) is the causative agent of tuberculosis and is classified as a risk group 3 agent. The risk of laboratory-acquired infection depends on the concentration of bacteria and the potential generation of aerosols. It has been proven that laboratory workers are several times more likely to become infected with tuberculosis than the general population, although this risk is declining due to improved

¹ Laboratorij za mikobakterije, Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, Golnik 36, 4204 Golnik

* upokojenka

Korespondenca: spela.klemen@klinika-golnik.si

safety protocols. In Slovenia, laboratory-acquired active tuberculosis has occurred in the past, with the last confirmed case at Golnik in 2005. With modern molecular techniques, such infections can now be clearly confirmed or ruled out. Preventing infections during laboratory procedures relies heavily on minimizing aerosol generation. Procedures that generate aerosols and all work with MT cultures require the use of biosafety level 3 (BSL-3) laboratories. Personal protective equipment (PPE) includes an FFP3 respirator, appropriate protective gloves, a lab coat or gown, and protective goggles. It is essential that all laboratory personnel are fully aware of the risks and receive proper training to avoid occupational exposure or accidents. For work involving nontuberculous mycobacteria (NTM), the use of biosafety level 2 (BSL-2) laboratories, procedures, and equipment is recommended. In 2025, the national laboratory for tuberculosis diagnostics in Slovenia still operates in BSL-2+ facilities and does not have a compliant BSL-3 laboratory.

UVOD

Diagnostično delo v laboratoriju mora biti ne samo kakovostno, ampak tudi varno. Potekati mora v primernih prostorih z ustrezno usposobljenim kadrom. To je še zlasti pomembno pri delu z občutljivejšimi mikroorganizmi, kot je *Mycobacterium tuberculosis* (MT) (1). Priprava ocene varnostnih tveganj je ključnega pomena za prepoznavanje morebitnih nevarnosti in načrtovanje ustreznih ukrepov za preprečevanje okužb (1).

Ti ukrepi so za varno delo laboratorijskega osebja s potencialno nalezljivimi mikroorganizmi nujni, zajemajo pa štiri področja:

- upravljanje (menedžment);
- okolje (inženiring);
- osebno varovalno opremo (OVO);
- tehnično znanje in usposabljanje (dobre mikrobiološke prakse).

Če so vsa ta področja učinkovito vodena in izvajana, bo vsako od njih zmanjšalo tveganje za izpostavljenost laboratorijskega osebja patogenu (1).

Namen prispevka je opozoriti na pomen laboratorijske varnosti pri delu z *Mycobacterium tuberculosis* (MT). Večina varnostnih protokolov sledi mednarodnim smernicam Svetovne zdravstvene organizacije, Evropskega centra za preprečevanje in obvladovanje bolezni (angl. *European Centre for Disease Prevention and Control*, ECDC) in ameriškega Centra za nadzor in preprečevanje bolezni (angl. *Centers for Disease Control and Prevention*, CDC) (2), seveda pa ima vsako okolje oziroma posamezen laboratorij specifične dejavnike tveganja, ki jih mora prepoznati in upoštevati v delovnih postopkih (1).

TVEGANJA PRI LABORATORIJSKEM DELU S TUBERKULOZO

M. tuberculosis je povzročiteljica tuberkuloze (TB) in je razvrščena v 3. skupino bioloških dejavnikov tveganja (1). Prenos *M. tuberculosis* v laboratoriju je mogoč prek **aerosola** ali s **perkutano inokulacijo** pri nenamernih izpostavitvah (3). Mogoča je tudi okužba prek očesne veznice (4). Tveganje za laboratorijsko okužbo je odvisno od **koncentracije bakterij** in morebitnega **nastanka aerosola**. Pri preprečevanju okužb so zato ključna prizadevanja za **omejevanje nastajanja aerosolov** med laboratorijskim delom (1, 2).

M. tuberculosis se širi aerogeno v majhnih delcih velikosti $< 5 \mu\text{m}$. Glede na pretok zraka v okolju lahko ti delci ostanejo v zraku več ur, dokler jih ne odstranimo z naravnim ali mehanskim prezračevanjem (5). Do okužbe pride z vdihovanjem aerosola.

Infektivni odmerek za *M. tuberculosis* je zelo nizek in naj bi bil od 1 do 10 organizmov (6, 7). Mikobakterije so odporne na razkužila in lahko dolgo preživijo na neživih površinah (2). Največje tveganje za laboratorijske delavce predstavljajo aerosoli, ki nastajajo pri dejavnostih, kot so delo s kulturo MT, priprava zamrznjenih rezov ali obdukcija okužene osebe (6). V mikrobiološkem laboratoriju so še zlasti tvegani naslednji postopki: pipetiranje, centrifugiranje, delo s kulturo MT, priprava vzorcev za mikroskopijo. Laboratorijsko osebje ogrožajo tudi nefiksirani mikroskopski preparati in posodice s kužninami, ki so lahko kontaminirane na zunanji strani (4). Ureznina ali vbod z okuženo iglo lahko pri laboratorijskih delavcih povzroči kožno tuberkulozo (2, 8). Naj omenimo še poskus samomora laboratorijske delavke, ki si je intravenozno vbrizgala kulturo TB, nakar se je pri njej razvila miliarna tuberkuloza (9). Opisani so še drugi primeri poskusov namerne samookužbe s tuberkulozo (10).

Ne glede na lokalno incidenco tuberkuloze so v skoraj vseh državah opisani primeri prenosa na zdravstvene delavce in druge bolnike (8, 11). Prve objave o tem so že iz petdesetih let 20. stoletja, ko so ugotavljali, da so ogroženi predvsem zdravstveni delavci, ki delajo na področju patologije (sodelovanje pri obdukcijah), torakalni kirurgi in laboranti v mikrobioloških laboratorijih (12). Tveganje za prenos se razlikuje glede na okolje, poklicno skupino, lokalno razširjenost TB, število in populacijo bolnikov ter učinkovitost ukrepov za nadzor okužb s TB (6) (13). Pojavnost vseh laboratorijsko povzročeni okužb (ne glede na povzročitelja) je bila večja v manjših (manj kot 25 zaposlenih) kot v večjih laboratorijih. Večje število okužb v manjših laboratorijih je lahko posledica večjega števila nespecializiranih strokovnjakov, za katere se domneva, da imajo manj izkušenj pri delu z nalezljivimi mikroorganizmi in se ne zavedajo morebitne nevarnosti v zadostni meri (7, 14). V študijah iz 20. stoletja so ugotavljali tri- do devetkrat večje tveganje za tuberkulozno bolezen med laboratorijskimi delavci kot v splošni populaciji (7, 13, 15). Po podatkih iz osemdesetih let so bile stopnje okužbe pri laboratorijskem osebju od 0,3 do 0,5 na 1000 oseb letno do kar 26,3 pri osebju, ki je sodelovalo pri obdukcijah (7, 14, 16). V Kanadi so leta 2002 ugotovili, da je bilo med laboratorijskimi delavci povprečno letno tveganje za tuberkulinsko konverzijo 1,0 %. Tveganje je bilo višje med zaposlenimi na patologiji kot na mikrobiologiji (17). Z novjšimi raziskavami in boljšimi možnostmi genotipizacije sevov TB so se v zadnjem desetletju izboljšale možnosti dokazovanja neposrednega prenosa okužbe z bolnikov ali vzorcev na zdravstvene delavce (18). Smiselno je, da referenčni laboratoriji hranijo izolate za morebitna dodatna testiranja v prihodnosti (3).

Dokazovanje laboratorijsko pridobljene tuberkuloze je oteženo, ker je vir okužbe pogosto nejasen – zaradi možnosti izpostavljenosti zunaj delovnega mesta in dolge inkubacijske dobe pred razvojem simptomatske bolezni (7). Nizozemci so med letoma 1995 in 1999 objavili študijo, v kateri jim je za 66 % (67 oseb) okužb s TB pri zdravstvenih delavcih uspelo določiti pot okužbe na podlagi epidemioloških in mikrobioloških podatkov. Osemindvajset od 67 oseb (42 %) se je okužilo na delovnem mestu, 19 (28 %) v skupnosti, 20 (30 %) pa v tujini. Relativno tveganje za okužbo s TB za delavce v zdravstvu na Nizozemskem je bilo 2,47 (8).

LABORATORIJSKE OKUŽBE S TUBERKULOZO V LABORATORIJU ZA MIKOBakterije KLINIKE GOLNIK

Podatke o tem sta na Golniku zbirali nekdanji vodji laboratorija Alenka Rus-Gashi (od 1960 do 1995) in Manca Žolnir-Dovč (od 1995 do 2023), ki sta nam zapustili vsaka

svoj zapis o zgodovini Laboratorija za mikobakterije Klinike Golnik. Podatke nam je delno uspelo preveriti in uskladiti tudi z Registrom za tuberkulozo. Precej zaposlenih v laboratoriju je v preteklosti zbolelo za aktivno tuberkulozo. Tako so imele v 63-letni zgodovini laboratorija tri zaposlene hladni absces na prstu zaradi ureznine s steklom. Pljučno tuberkulozo je imelo v letih 1960 do 2023 devet zaposlenih, od tega trije po dvakrat. V laboratoriju za nespecifično bakteriologijo je zbolela ena laborantka, ki je občasno delala v laboratoriju za tuberkulozo (nadomeščanja). Skupno torej 13 obo- lenj s pljučno TB med laboratorijskimi delavci, nekaj okužb je bilo še med sodelavci v pomivalnici (19, 20). Zadnja delavka je za pljučno tuberkulozo zbolela leta 2005. Pri zadnji laborantki se je okužba razvila 3,5 leta po delovni nesreči. Z metodo RFLP je bila dokazana povezava med bolnico iz Lendave in zaposleno. Zaradi dokazanega prenosa na delovnem mestu je kot prva zaposlena v laboratoriju za TB prejemale stoodstotno bolniško nadomestilo (20). Molekularna genotipizacija bacilov tuberkuloze se od leta 1995 postopno izboljšuje. Z njo je mogoče neposredno dokazati, da je pri zaposlenih v laboratorijih za TB možnost okužbe z bacili TB kot posledica okužbe na delovnem mestu povečana (20).

ORGANIZACIJA DELA IN POSTOPKI

Ravnanje s kliničnimi vzorci, kot je izmeček (npr. za mikroskopski pregled ali inkubacijo na gojišče), pomeni nižjo biološko nevarnost kot delo s pozitivnimi kulturami bakterij (npr. za testiranje občutljivosti za antibiotike).

Mikroskopija primarnih vzorcev, obdelava vzorcev pred kultivacijo in izolacija DNK iz kliničnih vzorcev za molekularne metode (zaznavanje DNK, odkrivanje mutacij genov, povezanih z odpornostjo proti zdravilom ali morebitno genotipizacijo) se lahko izvajajo v laboratoriju, ki ustreza **stopnji biološke varnosti 2** (angl. *bio-safety level 2*, BSL-2) (1). Pomembno je, da pri teh postopkih ne nastajajo aerosoli (2). Kljub temu pa je uporaba dobro delujoče in redno servisirane varnostne biološke komore še vedno zelo pomembna, kadar se dela z materialom, za katerega se sumi, da vsebuje *M. tuberculosis* (1).

Laboratorijske dejavnosti, povezane z gojenjem in obdelavo kultur katerekoli vrste iz sklopa *M. tuberculosis* (izolacija DNK iz pozitivnih kultur in fenotipsko testiranje občutljivosti za zdravila), zahtevajo višjo stopnjo biološke varnosti in uporabo laboratorija **BSL-3**.

Molekularne tehnike, ki vključujejo že izolirano DNK, ne zahtevajo posebnega standarda biološke varnosti (1, 2, 3).

Delo v BSL-3 izvaja za to usposobljeno osebje, ki deluje v skladu s standardnimi operativnimi postopki (SOP), pripravljenimi na podlagi lokalnih ocen tveganja.

Pri tem naj se upoštevajo naslednji dejavniki:

- pojavnost TB (vključno z odpornimi sevi) v skupnosti in med bolniki,
- zasnova laboratorija,
- raven diagnostičnih storitev za TB,
- število obdelanih vzorcev,
- ali se izvajajo postopki, pri katerih nastajajo aerosoli, in kako pogosto (3).

Pri delu z bacili tuberkuloze je potrebno upoštevati varnostne ukrepe že ob sprejemu kužnine v laboratorij. Predpostaviti moramo, da je lahko zunanost posodice za respiratorne vzorce kontaminirana z bacili, ki na stene zaidejo ob odvzemu (1). Leta 1983 so v Londonu ugotovili, da je iz zunanje površine lončkov pri 18 (6,5 %) od 279

vzorcev porasla MT. V vseh lončkih je bil izmeček, pozitiven na MT. Od celotnega števila lončkov (vključno z negativnimi kužninami) so kar pri 14 % na zunanji površini zaznali floro zgornjega respiratornega trakta, kar so obravnavali kot indikator za kontaminacijo lončka (21). Odpiranje posodic in epruvet s kužninami je dovoljeno samo v mikrobioloških komorah. V mikroskopskih preparatih bacili tuberkuloze v veliki meri preživijo fiksiranje z ognjem (22, 23), kar pa ne velja za nadaljnji postopek razbarvanja. Zato se svetuje čimprejšnje razbarvanje bacilov po fiksaciji (22). Namesto uporabe plamena za fiksacijo mikroskopskih stekelc se priporoča uporaba grelne plošče za stekelca (2).

Pri vseh postopkih je potrebno kar se da zmanjšati možnost tvorbe aerosola. Med centrifugiranjem lahko pride do razlitja, pri čemer se sprosti večja količina aerosola. Kot del preventivnih ukrepov se za centrifugiranje uporabljajo v ta namen izdelane košarice za epruvete s pokrovi. Odpirati jih je dovoljeno samo v mikrobiološki komori. Pipetiranje se izvaja izključno v mikrobiološki komori z nastavki, ki vsebujejo filtre in so za enkratno uporabo. Poudarek je na počasnem pipetiranju ob stenah epruvet, s čimer se zmanjša možnost za nastanek aerosola in kapljic. Nikakor ni dovoljeno pipetiranje z usti. Svetuje se uporaba enkratnih plastičnih zank (1). V največji meri se je potrebno izogibati uporabi ostrih predmetov. Potencialno kontaminirane tekočine je treba pred izpustom v javni kanalizacijski sistem dekontaminirati (avtoklavirati). Pri pošiljanju bakterijskih kultur *M. tuberculosis* je potrebno slediti lokalnim in nacionalnim predpisom ter izbrati kurirsko službo, usposobljeno za ravnanje z infektivnimi pošiljkami (1).

Vsak laboratorij ima predviden postopek ukrepanja v primeru nesreče pri delu in ravnanju z odpadki, ki nastanejo pri tem. Vsaka nesreča se dokumentira in poroča vodji laboratorija. Prijavljeni dogodki morajo biti temeljito raziskani in obravnavani (1, 3). Če se razlitje zgodi zunaj mikrobiološke komore, nastane aerosol. V takem primeru mora zaposleni nemudoma zapustiti prostor. Vhod v prostor je treba označiti z ustreznim napisom, ki jasno opredeljuje nesrečo pri delu in prepoveduje vstop, dokler se aerosol prek ventilacijskega sistema ne odstrani (približno 1 uro). Če ustrezno prezračevanje ni zagotovljeno, se ta čas še podaljša. Potem lahko oseba v ustrezni osebni varovalni opremi ponovno vstopi v prostor, prekrije razlito tekočino s papirnatimi brisačami in jih prelije z ustreznim dezinfekcijskim sredstvom. Dezinfekcijsko sredstvo je treba nanašati koncentrično, od zunanjega roba proti središču razlitja. Po predpisanem času delovanja razkužila kontaminiran material spravimo v avtoklavrne vrečke in te odstranimo v skladu s predpisi. Mesto razlitja se nato temeljito očisti (24). Postopki in ukrepi morajo potekati v duhu sodelovanja, da se prepreči prikrivanje podrobnosti oziroma da se ne zmanjša pripravljenost za poročanje o incidentih/nesrečah v prihodnje (1).

PRIMERI DOBRE PRAKSE IZ NAŠEGA LABORATORIJA

Glede na dolgoletne izkušnje dela s tuberkulozo so bili v Laboratoriju za mikobakterije na Kliniki Golnik sprejeti še nekateri dodatni ukrepi. Vse mikrobiološke komore imajo na delovni površini narisano rdečo črto. Del dobre laboratorijske prakse je delo za to črto, ki bi v primeru politja lahko delno ali v celoti preprečila razlitje iz komore.

V laboratoriju enkrat do dvakrat letno izvedemo simulacijo politja tekočine, ki bi lahko vsebovala bacile tuberkuloze. Naključno izbrani zaposleni prikaže, kako bi ukrepal ob razlitju kontaminirane tekočine po sebi ali površini. Pogovorimo se o mo-

rebitnih napakah in možnih scenarijih v različnih prostorih. Vsakokratno preizkus tudi pisno evidentiramo. Redno izvajamo notranje nadzore, ki poleg samega postopka dela vključujejo tudi nadzor varnega dela v laboratoriju.

USPOSABLJANJE OSEBJA

Tudi tehnično najbolj napredna oprema, prostori in protokoli ne bodo zadostovali, če laboratorijsko osebje ne upošteva pravil varnega dela v laboratoriju. Priporočljivo je, da nad celotnim načrtovanjem, izvajanjem in vzpostavitvijo laboratorija bdijo najbolj izkušeni delavci. **Za varno delovno okolje so odgovorni vsi zaposleni v laboratoriju.** Vsi morajo poznati pravila in dobro prakso varnega dela, tako za preprečevanje nesreč kot tudi zato, da se po morebitni nesreči nihče ne more sklicevati na nepoznavanje varnostnih protokolov (1). O razlagi in uporabi pravil mora biti dosežen jassen konsenz. Če tega ni, je treba pravila prilagoditi tako, da jih bo celotno osebje dosledno upoštevalo, v skladu z lokalnimi in mednarodnimi predpisi (1). Zaposleni morajo redno obnavljati znanje, kako ukrepati v primeru nesreče. Osebje, ki dela z mikobakterijami, mora biti dobro usposobljeno predvsem v tehnikah, ki zmanjšujejo nastanek aerosola, in mora redno opravljati preverjanje usposobljenosti, tudi z neposrednim opazovanjem njihovih delovnih praks (3). Poleg postopkov ravnanja z infektivnimi materiali mora osebje poznati tudi pravilno uporabo osebne varovalne opreme, varnostnih omar in ravnanje s kemikalijami (1).

Novi delavci morajo biti pred začetkom praktičnega dela v laboratoriju seznanjeni z vsemi pravili in postopki oziroma poučeni o njih. Priporočljivo je, da odgovorna oseba (pogosto vodja laboratorija) nove sodelavce seznanji z vsemi pravili in predpisi, ki veljajo v laboratoriju, ter preveri njihovo znanje pred začetkom dejanskega laboratorijskega dela s patogeni (1). Osebe, ki se uvajajo v delo v laboratoriju, so pod nadzorom usposobljene osebe, dokler ne osvojijo načel varnega in kakovostnega dela (1).

Novi zaposleni in redno laboratorijsko osebje morajo periodično opraviti **testiranje na morebitno TB-okužbo** (2) s tuberkulinskim kožnim testom (angl. *tuberculin skin test*, TST) ali testom IGRA (angl. *Interferon Gamma Release Assay*). CDC pri zaposlenih, ki opravljajo diagnostiko TB ali delajo z vzorci, iz katerih se pogosto izolira MT (npr. izmeček, izločki spodnjih dihal, tkiva), priporoča testiranje enkrat na pol leta ali enkrat letno (3). Pogostejše testiranje je priporočeno v primeru potrjene serokonverzije pri katerem od zaposlenih ali nesreče v laboratoriju, ko je tveganje za izpostavitve povečano (npr. okvara centrifuge, ki povzroči aerosolizacijo vzorca) (3). Glede na nacionalne smernice se ob novonastali okužbi izvede preventivno zdravljenje (1).

LABORATORIJ TRETJE STOPNJE BIOLOŠKE VARNOSTI (BSL-3)

Laboratorij tretje stopnje biološke varnosti je predviden za delo z mikroorganizmi, ki se prenašajo prek aerosola in pomenijo resno tveganje za zdravje posameznika, ki se lahko konča tudi s smrtnim izidom. Prakse, varnostna oprema in specifikacije objektov za BSL-3 so določene (2), v tem prispevku je opisan le del zahtev. Vhod v laboratorij mora biti opremljen z ustreznim simbolom, ki opozarja na biološko nevarnost, in dodatnimi zahtevami, ki morajo biti izpolnjene pred vstopom v laboratorij (npr. obvezno nošenje zaščitne maske). Posameznik pred vstopom v BSL-3 vstopi v predprostor, kjer so ločeni deli za čisto in uporabljeno zaščitno opremo ter prha. Vrata predprostora so samozapiralna in se odpirajo/zapirajo v ustrezni smeri, da omogočajo razliko v tlaku. Vrata so medsebojno zaklenjena (angl. *interlock*), tako da

so lahko hkrati odprta le ena. Ves čas delovanja laboratorija je **vzpostavljen podtlak**. Vrednosti tlaka so razvidne iz nadzornega sistema. V primeru odstopanja v podtlaku je sistemsko urejen alarm, ki zaposlene opozori na neustrezne delovne razmere (1). **Vstop je omejen** na osebe, ki so ustrezno usposobljene za delo v BSL-3. Nadzor se opravlja prek elektronskega sistema. Zunanjim obiskovalcem, kot so vzdrževalci, serviserji, je vstop omogočen samo ob **uporabi osebne varovalne opreme** (maska, rokavice, halja) in v spremstvu usposobljenega osebja. Pri delu z bakterijsko kulturo in ostalih postopkih pri obdelavi kužnin, kjer obstaja tveganje za okužbo, je nujno nošenje zaščitne maske FFP3. Priporočena je uporaba laboratorijske halje iz vodo-odpornega materiala z dolgimi rokavi, ki se pri delu v mikrobiološki komori prekrije z rokavicami. Po končanem delu se zaščitna oblačila zavržejo v ustrezne zabojnike in se pred pranjem dekontaminirajo (1). Pri laboratorijskem delu z mikobakterijami je pomembna izbira ustreznega razkužila (2). Vsakodnevno je treba razkužiti vse površine v laboratoriju, saj je MT zelo odporen na sušenje in lahko dolgo preživi na trdih površinah (25).

Pri gradnji BSL-3 je pomembno, da se vodijo natančni zapisi o poteku gradnje, načrtih, izbiri opreme, vzpostavitvi prezračevalnega sistema in načrtu upravljanja z infektivnim odpadom. Vsi postopki, ki vključujejo ravnanje z nalezljivim materialom, se izvajajo znotraj **biološke varnostne komore** (BSC). Nobeno delo z odprtimi epruветami se ne sme izvajati na laboratorijskem pultu (2). Zrak, ki izhaja iz BSL-3, in kontaminiran zrak, ki nastane pri delu v mikrobiološki komori, se filtrirata prek **HEPA-filtrov**. Odvod iz prostora je urejen tako, da ne povzroča motenj v podtlaku. Materiali, ki se uporabljajo za gradnjo in nato delo v laboratoriju, morajo biti odporni na agresivna čistilna sredstva, kisline, baze, dezinfekcijska sredstva in organska topila. Površine morajo biti gladke, enostavne za čiščenje in iz nerjavečega jekla. Okna morajo biti zatesnjena in odporna na razbitje. Zagotovljen mora biti ustrezen prostor za shranjevanje potrošnega materiala, bakterijskih kultur, kužnin in laboratorijskih zapisov. Varnostni sistem naj zagotavlja zasilni izhod v primeru požara ali izpada električnega toka. Zelo pomemben je priklop laboratorijske opreme na rezervne generatorje, ki omogočajo nemoteno delovanje kljub izpadu električne energije. Oprema za prvo pomoč naj bo na vidnem in lahko dostopnem mestu. Osebe, ki so zaposlene v laboratoriju BSL-3, morajo biti usposobljene za nudenje prve pomoči ob nesreči (1).

ODPADKI

Odpadki, ki nastanejo pri delu v BSL-3, morajo biti pred izstopom avtoklavirani. Optimalna je uporaba stenskega avtoklava, ki omogoča iznos dekontaminiranega materiala na drugi strani. Pri odstranjevanju odpadkov je treba upoštevati nacionalne predpise.

OSEBNA VAROVALNA OPREMA

Čeprav so biološke varnostne komore in nadzorovan pretok zraka v laboratoriju glavna varovala pred izpostavljenostjo kontaminiranim aerosolom, je potrebno zagotoviti še dodatno zaščito. Osebna varovalna oprema je pomemben del zaščite laboratorijskega delavca pred okužbo. Uporaba ustrezne opreme mora biti opredeljena v SOP in zajeta v registru tveganj. Vsi zaposleni in obiskovalci morajo spoštovati načela pravilne in varne uporabe (1). Med najpomembnejšo osebno varovalno opremo spada naslednje:

- **ZAŠČITNA MASKA** oziroma **RESPIRATOR** je najpomembnejši del osebne varovalne opreme. Kirurška maska ne nudi zadostne stopnje zaščite, potreben je zaščitni filter stopnje FFP3. Slednji prepreči prehod 98 odstotkov delcev, večjih od 0,3 μm . Vsak uporabnik tega tipa maske mora biti ustrezno podučen o pravilni namestitvi maske na obraz, saj se mora ta tesno prilegati obraznim potezam. Masko nudi zaščito za 8 ur uporabe, nato jo je treba zavreči. Maske morajo biti hranjene na dosegljivem in čistem mestu. Za zaščito obraznega dela se lahko uporabljajo tudi **ZAŠČITNA OČALA**.
 - **ROKAVICE** morajo biti zaščitne, da preprečijo stik kože z mikrobi ter zmanjšajo možnost ureznin in z njimi povezanih okužb krvi. Rokavice naj bodo za enkratno uporabo in certificirane za delo z mikroorganizmi, ki spadajo v tretjo stopnjo biološke varnosti. Po vsaki uporabi v mikrobiološki komori je treba rokavice zamenjati znotraj komore (1). Menjava je potrebna tudi, če so vidno onesnažene ali če je vprašljiva njihova celovitost (3). Po menjavi rokavic je treba roke takoj umiti s toplo vodo in milom. Material rokavic je lahko certificiran lateks, vinil ali nitril (1).
 - **LABORATORIJSKA HALJA** ali **PLAŠČ**, ki zaščiti posameznika in v celoti prekrije osebna oblačila. Dostopna mora biti vsem in ločena od osebne garderobe. Halja se mora odpirati na hrbtne strani in imeti ozke dolge rokave. Oblačila, ki se uporabljajo v laboratoriju, se ne smejo nositi zunaj laboratorija.
 - **OBUTEV** mora biti zaprta in vodoodporna ter v uporabi le znotraj laboratorija. Lahko se uporablja tudi zaščitna prevleka za čevlje za enkratno uporabo (1, 2).
- Vso opremo, namenjeno ponovni uporabi, je potrebno takoj po uporabi ustrezno dekontaminirati (2). **Odstranjevanje zaščitne opreme** poteka po postopku: rokavice, zaščitna halja, (očala), maska (1).

LABORATORIJSKO DELO Z NETUBERKULOZNIMI MIKOBATERIJAMI (NTM)

Danes je znanih že več kot 250 vrst mikobakterij. Večina mikobakterijskih vrst je pogostih v okolju (voda, prst ...). V zadnjih 20 letih je bila zaznana rast izolacij NTM pri bolnikih (2). Različne vrste mikobakterij se lahko nahajajo v izmečkih, tkivih in okoljskih vzorcih. Mikobakterije so zelo odporne na razkužila in lahko preživijo na neživih površinah. Dalj časa obstanejo v naravnih in pitnih vodnih virih, nagnjene so tudi k tvorbi biofilma. Neposreden prenos med ljudmi je izjemno redek in le pri osebah s predhodno pljučno boleznijo (cistična fibroza). Kot laboratorijsko povzročena okužba z NTM je opisan primer nenamernega vbrizganja *M. marinum* v palec, ki je laboratorijski delavec izvajal poskus na miših (26).

Neposreden stik kože ali sluznic z infektivnimi materiali in parenteralni vnos (npr. vbodne poškodbe z iglami) sta glavni laboratorijski tveganji, povezani s kliničnimi materiali in kulturami. Potencialno tveganje za okužbo pomenijo tudi aerosoli, ki nastanejo med delom s tekočimi gojišči ali homogenati tkiv. Za delo s kliničnimi materiali in kulturami mikobakterij, ki niso del sklopa *M. tuberculosis*, so priporočene prakse, oprema in laboratoriji varnostne stopnje BSL-2. Ker lahko klinični vzorci vsebujejo tudi *M. tuberculosis*, morajo biti laboratorijski delavci še zlasti pozorni, da zagotovijo pravilno identifikacijo mikobakterijskih izolatov. Posebna previdnost je potrebna pri delu z vrstama *M. ulcerans* in *M. marinum*, saj lahko povzročita okužbo kože, zato je treba preprečiti neposreden stik s kožo (2).

ZGODOVINA LABORATORIJA ZA DIAGNOSTIKO TUBERKULOZE NA GOLNIKU Z VIDIKA VARNEGA DELA

Sočasno z rastjo matične ustanove, Klinike Golnik, sta se spreminjala tudi ureditev laboratorija in delo v njem. V 20. stoletju je laboratorij za tuberkulozo sprva deloval v kombinaciji z drugimi laboratoriji (biokemičnim, hematološkim, serološkim). Tako organizacijsko kot prostorsko je obstajal na različnih lokacijah in se glede na povečevanje števila preiskav večkrat selil. Prostori pogosto niso bili funkcionalni, saj so bili prehodni. V dvajsetih letih 20. stoletja so mikroskopsko že pregledovali izmečke, od leta 1930 pa tudi kultivirali kužnine. Na začetku petdesetih letih so začeli testirati občutljivost za antituberkulotike (streptomycin, izoniazid, PAS). Sprva je bila omejitev pri številu testiranj premajhen termostat. Iz laboratorijskega arhiva se ne da ugotoviti, kdaj so uvedli biološki preizkus na morskih prašičkih z namenom identifikacije bacilov tuberkuloze v kužninah. V poročilu za leto 1955 je podatek, da je bilo 58 pregledov s kultivacijo iz organov seciranih morskih prašičkov. Z uvedbo različnih identifikacijskih biokemičnih testov in iz etičnih razlogov so bili v sedemdesetih letih preizkusi na laboratorijskih živalih popolnoma ukinjeni. V tem obdobju je imel laboratorij seveda tudi prostor za gojenje živali. Sredi šestdesetih let je bila zgrajena prva centralna klimatska postaja in napeljane prezračevalne cevi po vsem laboratoriju (19).

V prvih letih delovanja bolnišnice je bil zaposlen en laborant, ki je opravljal vse laboratorijske preiskave. Že pred drugo svetovno vojno, še bolj verjetno pa po njej, se je število laborantov povečalo, saj so poleg mikroskopskih pregledov začeli opravljati tudi kultivacijo bacilov tuberkuloze. Leta 1960 je bilo v bakteriološkem laboratoriju zaposlenih 11 oseb. Ker se je povečevalo število preiskav, se je povečalo tudi število zaposlenih. V nekaj letih se je povzpelo na okrog 25 do 30. V šestdesetih letih, ko so preiskave v bakteriološkem laboratoriju dosegle največje število, je bilo tako delo laborantov kot čistilk zelo naporno. Laboratorij je imel velika, z debelimi temno zelenimi zavesami zagrnjena okna, obrnjena na jug. Aseptične komore niso imele odvoda za zrak, zato je temperatura v neposrednem delovnem prostoru narasla na več kot 30 °C. Imeli so samo dve centrifugi, v vsaki je bilo prostora le za osem epruvet. Razmaze iz kužnin so delali ob gorilniku na delovnem pultu. V prostoru sta velik del delovnega časa vladala vročina in smrad. Tudi delo pomivalnk laboratorijske posode je bilo naporno. Ker je bilo aparatov malo, so bili vklopljeni skoraj ves čas. Zaradi izpostavljenosti tuberkulozi in tveganju za okužbo je delovni čas trajal 6 ur. Precejšen je bil tudi tako imenovani »infekcijski dodatek«, ki je znašal do 25 odstotkov plače. Po letu 1961 sta bili obe bonifikaciji ukinjeni. Z upadanjem števila preiskav in pridobitvijo dodatnih prostorov leta 1965 so se delovne razmere v obeh laboratorijih, v pomivalnici in sterilizaciji nekoliko izboljšale. Leta 1972 se je bakteriološki laboratorij razdelil v laboratorij za bakteriologijo tuberkuloze (znotraj njega je deloval tudi imunološki laboratorij) in laboratorij za nespecifično bakteriologijo (19).

Pričevanje dr. Mance Žolnir-Dovč, ko se je leta 1985 zaposlila na Golniku in prvič prišla v laboratorij

»Laboratorij je imel takrat ogromno svetlo sobo za administracijo, v kateri smo ročno v orjaško debelo knjigo ločeno vpisovali vse zunanje in domače kužnine. Dve oranžni centrifugi sta stali v veliki prehodni sredinski sobi brez oken in ventilacije, v kateri smo desetletja centrifugirali s kemikalijami obdelane kužnine v steklenih

10-mililitrskih centrifugirkah, pokritih le z aluminijsko folijo. Ker so bile steklene epruvete povsem dotrajane, je vsak dan v centrifugi počila vsaj ena. V tistem času je vsaka tretja epruveta vsebovala bolj ali manj viabilne bacile TB. V isti sredinski sobi brez oken so zaposleni desetletja v koritu pri vodovodni pipi tudi barvali preparate po Ziehl-Neelsnu (ZN) ter pri tem vdihavali kemikalije in bacile. Ob ogromnem številu kužnin je to pomenilo, da je ena zaposlena laborantka celoten delovni dan samo mikroskopirala. Zaradi monotonosti dela se je neredko zgodilo, da je delavka ob mikroskopu tudi zaspala. Če se je to zgodilo, smo takoj pomislile na možnost aktivne TB pri tej sodelavki. Testi občutljivosti iz čistih izolatov bacilov TB so se izvajali v ločeni sobi, ki pa v letu 1985 še ni imela nobene mikrobiološke komore, ki bi zmanjšala možnost okužbe z bacili TB. Tako so laborantke bakterijsko suspenzijo z milijardami TB-bacilov hranile kar na pultu pred seboj in jih največkrat pipetirale z usti ob uporabi steklene pipete. V pipeti je bil le kos vate, ki naj bi preprečeval/zmanjševal vdihovanje bacilov v pljuča laborantke. Spomnim se, kako je najbolj izkušena sodelavka za testiranje občutljivosti bacilov TB, tik pred odhodom v pokoj nehote posrkala v usta bakterijsko suspenzijo bacilov in po dveh letih tudi zbolela za aktivno TB. Takrat smo v laboratoriju sicer že imeli tudi ročni pipetor (t. i. izraelec), ki bi lahko preprečil takšno vrsto nesreče pri delu. Verjetno pa ga sodelavka ni uporabljala, saj je bilo delo z njim počasnejše oziroma bolj zamudno (20).

Kot bi bilo včeraj se spominjam dne, ko so nam sodelavci iz naše tehnične službe izdelali prvo mikrobiološko komoro s sistemom napa, ki je vsaj malo zmanjšala možnost okužbe na delovnem mestu. Prve industrijske standardizirane mikrobiološke komore smo dobili v letih 1994 in 1995, kar je pomenilo velik korak naprej glede laboratorijske varnosti. Leta 1998 se je laboratorij iz začasnih prostorov vrnil v prenovljene prostore, ki so nastali na stari lokaciji, kjer je laboratorij še danes. Prostorji so se preuredili, pregradili, uredile so se posebne sobe za izvajanje molekularnih metod, za barvanje preparatov so montirali digestorij z odsesavanjem zraka ... Še vedno pa v prostorih ni bil vzpostavljen podtlak. V tem obdobju se je število zaposlenih gibalo med 6 in največ 8, skupaj z vodjo laboratorija. Izobrazba zaposlenih se je postopno zviševala, kar je bila po eni strani logična posledica uvajanja bolj sofisticiranih molekularnih bioloških metod, po drugi strani pa tudi posledica imenovanja Laboratorija za mikobakterije Golnik kot Nacionalnega referenčnega laboratorija (NRL) za mikobakterije za Republiko Slovenijo. Na začetku leta 2008 se je na Golniku v obstoječem laboratoriju z omejitvami, ki jih zahtevajo prostori, vzpostavil BSL2+ laboratorij. V določenih sobah, kjer potekajo najbolj tvegani postopki, se je vzpostavilo območje s podtlakom.« (20)

V Sloveniji v letu 2025 na žalost še vedno nimamo varnostno ustreznega laboratorija za diagnostiko tuberkuloze, kar je res že prava redkost v evropskem prostoru. Kljub dolgoletnemu trudu Klinike Golnik za gradnjo novega laboratorija BSL-3, smo še vedno le pri gradbenih načrtih in državnih obljubah o skorajšnjem začetku gradnje.

ZAKLJUČEK

V zadnjih desetletjih se je pri diagnostiki tuberkuloze zgodil velik napredek, predvsem na molekularnem področju. Ogromno znanja je bilo pridobljeno o možnostih prenosa TB, povečalo se je zavedanje o zaščiti zdravstvenih delavcev, kar je pripeljalo do sprememb tudi na področju laboratorijske varnosti. Za delo s kulturo TB je

potreben laboratorij stopnje biološke varnosti 3 (BSL-3), uporaba osebne varovalne opreme ne sme biti vprašljiva, osebje se mora stalno izobraževati in zavedati pomena varnosti, administrativno pa je treba spremljati in posodabljati dejavnike tveganja ter sprejemati ustrezne ukrepe v lokalnem okolju. V Sloveniji imamo na področju diagnosticke tuberkuloze velik primanjkljaj na infrastrukturnem področju, saj še vedno čakamo na ustrezen laboratorij varnostne stopnje BSL-3.

LITERATURA

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union: updated 2022. LU: Publications Office; 2023 [citirano 2025 Avg 18]. Dosegljivo na: <https://data.europa.eu/doi/10.2900/433652>.
2. Centers for Disease Control and Prevention National Institutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories—6th Edition, Revised June 2020.
3. Guidelines for Preventing the Transmission of Mycobacterium tuberculosis in Health-Care Settings, 2005 [citirano 2025 Avg 28]. Dosegljivo na: <https://www.cdc.gov/MMWR/Preview/MMWRhtml/rr5417a1.htm>.
4. Willis C, JM Grange S, Hawtin P. Tuberculosis acquired in laboratories and necropsy rooms. *Communicable disease and public health / PHLIS*. 1. oktober 1999;2:210–4.
5. Fennelly KP. Particle sizes of infectious aerosols: implications for infection control. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8(9):914–24.
6. Sewell DL. Laboratory-acquired infections: Are microbiologists at risk? *Clin Microbiol Newsl*. 1. 2006;28(1):1–6.
7. Sewell DL. Laboratory-associated infections and biosafety. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8(3):389–405.
8. Vries G de, Šebek MMGG, Weezenbeek CSBL van. Healthcare workers with tuberculosis infected during work. *European Respiratory Journal*. 30. november 2006;28(6):1216–21.
9. Jones OR, Platt WD, Amill LA. Miliary Tuberculosis Caused by Intravenous Self-injection of Tubercle Bacilli, Treated Successfully with Streptomycin Therapy. *Am Rev Tuberc*. 1949;60(4):514–9.
10. Chien JTT, Wiggins ML. Self-Inoculation with M. Tuberculosis and Ps. Aeruginosa by a Diabetic Woman. *American Review of Tuberculosis*. 2019.
11. Baussano I, Nunn P, Williams B, Pivetta E, Bugiani M, Scano F. Tuberculosis among Health Care Workers - Volume 17, Number 3—March 2011 - *Emerging Infectious Diseases journal - CDC*.
12. Reid DD. Incidence of Tuberculosis Among Workers in Medical Laboratories. *Br Med J*. 1957;2(5035):10–4.
13. Menzies D, Joshi R, Pai M. Risk of tuberculosis infection and disease associated with work in health care settings. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2007;11(6):593–605.
14. Jacobson JT, Orlob RB, Clayton JL. Infections acquired in clinical laboratories in Utah. *J Clin Microbiol*. 1985;21(4):486–9.
15. Harrington JM, Shannon HS. Incidence of tuberculosis, hepatitis, brucellosis, and shigellosis in British medical laboratory workers. *Br Med J*. 1976;1(6012):759–62.
16. Müller HansE. Laboratory-acquired mycobacterial infection. *The Lancet*. 1988;332(8606):331.
17. Menzies D, Fanning A, Yuan L, FitzGerald JM. Factors Associated with Tuberculin Conversion in Canadian Microbiology and Pathology Workers. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167(4):599–602.
18. Diel R, Niemann S, Nienhaus A. Risk of tuberculosis transmission among healthcare workers. *ERJ Open Res*. 2018;4(2):00161–2017.
19. Rus-Gashi A. Zgodovina bakteriološkega laboratorija za tuberkulozo (do leta 1995). 2007.
20. Žolnir-Dovč M. Laboratorij za TB/mikobakterije Golnik med leti 1995–2023. 2025.
21. Allen BW, Darrell JH. Contamination of specimen container surfaces during sputum collection. *J Clin Pathol*. 1983;36(4):479–81.
22. Cardoso CL, Giacomelli LRB, Helbel C, Sant'Ana JJ, Martins FM, Barreto AMW. Survival of tubercle bacilli in heat-fixed and stained sputum smears. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001;96:277–80.
23. Allen BW. Survival of tubercle bacilli in heat-fixed sputum smears. *J Clin Pathol*. 1981;34(7):719–22.
24. Laboratory Biosafety Manual. 4th ed. Geneva: World Health Organization; 2020.
25. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories [citirano 2025 Avg 26]. Dosegljivo na: <https://www.cdc.gov/MMWR/preview/mmwrhtml/su6101a1.htm>.
26. Chappler RR, Hoke AW, Borchardt KA. Primary Inoculation With Mycobacterium marinum. *Arch Dermatol*. 1977;113(3):380.

Preprečevanje okužb zdravstvenih delavcev pri delu s tuberkuloznimi bolniki

Prevention of infections in healthcare workers when caring for patients with tuberculosis

Petra Svetina, Eva Megušar¹

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: tuberkuloza, aerogeni prenos okužbe, zdravstveni delavci, ukrepi za preprečevanje prenosa okužbe

Tuberkuloza (TB) je še vedno najpogostejša nalezljiva bolezen. Povzročajo jo bacili *Mycobacterium tuberculosis* (MT), ki se prenašajo s kužnim aerosolom. Bolezen se v državah z nizko incidenco pogosteje pojavlja v občutljivih skupinah prebivalstva, kamor sodijo tudi zdravstveni delavci. Tveganje za okužbo oziroma prenos okužbe znotraj zdravstvenih ustanov je odvisno od tipa zdravstvene ustanove in od populacije bolnikov v njej, pa tudi od upoštevanja ukrepov za preprečevanje prenosa okužbe z bacili TB. Med ukrepe sodijo: administrativni ukrepi, tehnični ukrepi in ukrepi uporabe osebne varovalne opreme pri zdravstvenih delavcih (osebni respiratorji).

V zdravstvenih ustanovah, kjer se zdravijo bolniki s TB ali obravnavajo bolniki s sumom na TB, je možen prenos okužbe z bacili MT na druge bolnike ali na zaposlene (zdravstvene, laboratorijske in druge delavce, zaposlene v zdravstveni ustanovi).

Za preprečevanje okužb pri zdravstvenih delavcih je nujno strogo upoštevanje ukrepov, s katerimi preprečimo prenos okužb s kužnega bolnika na zdravstvene delavce.

Zaradi možnosti stika z bolnikom s TB ali sumom na TB mora imeti vsaka zdravstvena ustanova protokole za obravnavo takih bolnikov, ki poleg navodil glede obravnave bolnikov vključujejo tudi ukrepanje zdravstvenih delavcev v primeru stika. Protokoli morajo zajemati tudi navodila, kako ukrepati po nezaščitem stiku zdravstvenega delavca z bolnikom s TB.

Če se to zgodi, je treba izdelati oceno stika, in če je ta označen kot tesen ali tvegan, je treba zdravstvenega delavca pregledati in testirati na latentno okužbo z bacili MT. Seznam stikov se pripravi ob pomoči Komisije za obvladovanje bolnišničnih okužb (KOBO) zdravstvene ustanove in Registra tuberkuloze Republike Slovenije, ki uredi preglede izpostavljenih zdravstvenih delavcev.

ABSTRACT

KEY WORDS: tuberculosis, airborne transmission of infection, healthcare workers, measures to prevent transmission of infection

¹ Univerzitetna Klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik
Korespondenca: petra.svetina@klinika-golnik.si

Tuberculosis (TB) is still the most common infectious disease. It is caused by the *Mycobacterium tuberculosis* bacillus (MT), which is transmitted through infectious aerosol. The disease is more common in vulnerable populations, including healthcare workers, in countries with low TB incidence. The risk of infection or transmission of infection within healthcare facilities depends on the type of healthcare facility and the patient population within it, as well as compliance with measures to prevent the transmission of TB bacteria. The measures include: administrative measures, technical measures, and measures for wearing personal protective equipment by healthcare workers (personal respirators).

In healthcare facilities where patients with TB are treated or patients with suspected TB are being evaluated, the MT bacillus can be transmitted to other patients or employees (healthcare, laboratory, and other workers employed at the healthcare facility).

TB, which include instructions for treating patients as well as actions for healthcare workers in the event of contact with TB patients. Protocols must also include instructions on how to act after an unprotected contact of a healthcare worker with a TB patient. In the event of an unprotected contact between a healthcare worker and an infectious TB patient, a contact assessment is necessary, and if the contact is deemed a close or high-risk contact, the healthcare worker must be examined to rule out TB and tested for latent infection with MT bacilli. The contact list is managed with the help of the Committee for infection prevention and control and the TB Register of the Republic of Slovenia, which organizes examinations of exposed healthcare workers.

UVOD

Tuberkuloza (TB) je s svojo pojavnostjo in umrljivostjo še vedno velik javnozdravstveni problem. Je najpogostejša nalezljiva bolezen, za katero je leta 2023 zbolelo 10,6 milijona ljudi, zaradi TB ali njenih posledic je istega leta umrlo 1,25 milijona ljudi. Bolezen prizadene vse starostne skupine, pogosteje se pojavlja v občutljivih skupinah prebivalstva (1, 2).

V Sloveniji je TB redka bolezen, zato sodi med države z nizko incidenco TB, za katere je značilno pojavljanje boleznih predvsem v občutljivih skupinah prebivalstva. Mednje zaradi možnosti izpostavljenosti ob delu z bolniki s TB sodijo tudi zdravstveni in laboratorijski delavci (1)

TB povzroča bacil *Mycobacterium tuberculosis* (MT). Prenaša se s kužnim aerosolom, ki ga v okolico izkašljejejo tuberkulozni bolniki. Aerosol nastaja pri kašlju, kihanju, govorjenju ali petju oseb s pljučno TB ali TB grla. Nastaja tudi pri bolnikih s TB ob zdravljenju z zdravili v obliki aerosola, pri indukciji izmečka, pri bronhoskopiji in pri drugih invazivnih posegih v delih telesa, kjer se nahajajo bacili MT, in navsezadnje tudi pri ravnanju z izmečki in drugimi izločki na bolnišničnih oddelkih, v ambulantah in v laboratorijskih za diagnostiko TB (3).

V zdravstvenih ustanovah, kjer se zdravijo bolniki s TB ali obravnavajo bolniki s sumom na TB, je možen prenos okužbe z bacili MT na druge bolnike ali na zaposlene (zdravstvene, laboratorijske in druge delavce, zaposlene v zdravstveni ustanovi).

Za preprečevanje okužb pri zdravstvenih delavcih je nujno strogo upoštevanje ukrepov, s katerimi prenos okužb preprečimo.

Zaradi možnosti stika z bolnikom s TB ali sumom na TB mora imeti vsaka zdravstvena ustanova protokole za obravnavo takih bolnikov, ki poleg navodil glede

obravnave bolnikov vključujejo tudi ukrepanje zdravstvenih delavcev v primeru stika. Protokoli morajo zajemati tudi navodila, kako ukrepati po nezaščitenem stiku zdravstvenega delavca z bolnikom s TB.

SLOVENSKA PRIPOROČILA ZA PREPREČEVANJE OKUŽB ZDRAVSTVENIH DELAVCEV PRI DELU S TUBERKULOZNIMI BOLNIKI

Preprečevanje prenosa okužbe z bacili MT v zdravstvenih ustanovah

V zdravstvenih ustanovah, kjer se zdravijo bolniki s TB ali obravnavajo bolniki s sumom na TB, je možen prenos okužbe z bacili MT na druge bolnike ali na zaposlene (zdravstvene, laboratorijske in druge delavce, zaposlene v zdravstveni ustanovi).

Tveganje za prenos okužbe je odvisno od zdravstvene ustanove in od populacije bolnikov, ki se v njej obravnavajo, od prevalence TB v okolici, od skupine zdravstvenih in/ali laboratorijskih delavcev. Na stopnjo tveganja močno vplivajo učinkovitost izvajanja ukrepov za preprečevanje prenosa okužbe znotraj ustanove, hitrost postavitve diagnoze TB, hitrost izvajanja ukrepov izolacije in upoštevanje uporabe osebne respiratorne zaščite med zdravstvenimi delavci.

Najpomembnejši cilji učinkovitega preprečevanja prenosa okužbe z bacili MT v zdravstvenih ustanovah so:

- zgodnje odkrivanje bolnikov s TB;
- izvajanje ukrepov osamitve (izvajanje aerogene izolacije);
- ustrezno zdravljenje bolnikov s TB;
- nadzor nad zdravstvenim stanjem zaposlenih.

Za preprečevanje prenosa okužbe z bacili MT v zdravstvenih ustanovah in s tem tudi preprečevanje okužb zdravstvenih delavcev je nujno dosledno izvajanje vseh ukrepov za preprečevanje prenosa. Ukrepi so hierarhično urejeni in zajemajo: administrativne ukrepe, tehnični ukrepe in uporabo osebne varovalne opreme.

Najpomembnejši so **administrativni ukrepi**, med katere sodijo ocena tveganja in izdelava ustreznih pisnih protokolov na podlagi ocene tveganja, implementacija in izvedba učinkovitih delovnih navad in postopkov, izobraževanje, treningi in svetovanje zdravstvenim delavcem glede TB, testiranje zdravstvenih, laboratorijskih in drugih delavcev, zaposlenih v zdravstveni ustanovi, za okužbo z bacili MT in za samo bolezen.

S **tehnološkimi ukrepi** – lokalna ventilacija navzven, HEPA-filtri, »directional flow« oziroma usmerjen pretok zraka, sobe z negativnim tlakom – preprečujemo širjenje kužnega aerosola in znižujemo koncentracijo kužnih delcev v prostoru. Izvajamo jih v prostorih, kjer se zadržujejo bolniki s TB ali s sumom na TB, oziroma v prostorih, kjer se hranijo kužnine teh bolnikov.

Uporaba osebne varovalne opreme je zadnji v hierarhiji zaščitnih ukrepov pred okužbo z bacili MT pri zdravstvenih, laboratorijskih in drugih delavcih, zaposlenih v zdravstveni ustanovi. Posebne obrazne maske (zaščitni respiratorji), ki naj bi se uporabljale, morajo zagotavljati filtriranje 95 % vseh delcev velikosti enega mikrona in več, imeti morajo manj kot 10 % uhajanja zračnega toka ob stiku maske z obrazom. Zdravstveni, laboratorijski in drugi zaposleni delavci so dolžni uporabljati osebno respiratorno opremo v okoliščinah, ko bi lahko bili izpostavljeni bacilom MT

(npr. bolniški TB-oddelki; v ambulantih ob pregledu bolnika s TB ali s sumom na TB; v laboratorijih za diagnostiko TB), v prostorih, kjer se izvajajo postopki, pri katerih se tvori kužni aerosol, in v drugih izbranih okoljih glede na oceno tveganja (npr. prostori za indukcijo izmečka; prostori, kjer se zadržujejo bolniki s TB ali s sumom na TB ...). Zaščitni respiratorji se morajo pravilno uporabljati ves čas izpostavljenosti kužnemu aerosolu, biti morajo pravilno nameščeni in na koncu izmene oziroma po 8 urah jih je potrebno zavreči. Zdravstvene, laboratorijske in druge delavce je treba poučiti o pravilni uporabi osebne varovalne opreme ter občasno preverjati ustreznost namestitve in tesnjenja.

Nadzor nad zdravstvenim stanjem zaposlenih

V zdravstvenih ustanovah, kjer obstaja možnost, da bodo zdravstveni, laboratorijski ali drugi delavci izpostavljeni bacilom MT, morajo ti pred zaposlitvijo opraviti testiranje za latentno okužbo z *Mycobacterium tuberculosis* (LTBO). V preteklosti se je uporabljal kožni tuberkulinski test, danes pa ga vse bolj nadomeščajo testi, s katerimi določamo sproščanje interferona gama (angl. *Interferon Gamma Release Assay*, IGRA; pri nas se uporablja krvni gamainterferonski test QuantiFERON-TB Gold test), ki so bolj specifični in občutljivi ter bolj primerni za izvajanje serijskega testiranja zaposlenih v zdravstvenih ustanovah.

Vsaka zdravstvena ustanova je dolžna opraviti oceno tveganja tako za ambulante kot za bolnišnične oddelke in na podlagi te ocene pripraviti ustrezne pisne protokole za pregledovanje zaposlenih za okužbo z bacili MT in za samo bolezen. Prav tako je zdravstvena ustanova dolžna zagotoviti preglede in testiranje bodočim zaposlenim pred začetkom dela, testiranje zaposlenih ob nezaščitenih stikih s kužnimi bolniki s TB in glede na oceno tveganja tudi serijska testiranja. Nadzor nad rednim izvajanjem testiranja zaposlenih opravlja komisija za obvladovanje bolnišničnih okužb (KOBO) oziroma oseba, ki je zadolžena za nadzor nad preprečevanjem okužb v zdravstveni ustanovi. Pregledi in testiranja se izvajajo pri specialistih pulmologih ali pri specialistih internistih z dodatnim znanjem s področja tuberkuloze. Rezultati testiranja, morebitni dejavniki tveganja za okužbo z bacilom in obolevanje morajo biti evidentirani v zdravstveni dokumentaciji vsakega zaposlenega v zdravstveni ustanovi. Kadar je ugotovljena LTBO oziroma konverzija pri testiranju in kadar obstaja sum na TB, mora zaposlenega obravnavati specialist pulmolog oziroma internist z dodatnim znanjem s področja TB, ki se na podlagi dodatnih dejavnikov tveganja odloči za preventivno (kemoprofilaktično) zdravljenje po priporočilih za zdravljenje LTBO.

Če je zdravstveni delavec na delovnem mestu v stiku s bolnikom s TB, je treba opraviti: oceno kužnosti indeksnega primera, oceno okolja, kjer je prišlo do kontakta, ugotovitev najbolj izpostavljenih in dovzetnih oseb (tesni kontakti – prvi krog), oceno potrebe po razširitvi pregleda na drugi in tretji krog stikov ter po eventualni pomoči širše skupnosti. Na podlagi teh podatkov osebe Registra za tuberkulozo razporedi osebe, ki so bile v stiku s TB bolnikom v skupine: visoko rizični kontakti – osebe, ki so bile v stiku s kužnim bolnikom več ur dnevno, več dni zapored (npr. ožji družinski člani, sodelavci) ali so izvajale posege, kjer je tveganje za okužbo veliko (npr. nezaščiten stik ob bronhoskopiji, razlitje kulture z MT v laboratoriju), nizko rizični kontakti (npr. osebe, ki so bile občasno v stiku z bolnikom s TB, ali osebe, ki so bile v stiku z bolnikom z nekužno obliko TB pljuč) in netvegani kontakti – osebe, ki so bile v stiku z bolnikom z nepljučno TB. Hiter pregled zdravstvenega delavca je

nujen po visoko tveganih stikih (npr. kronični bolnik na imunosupresivni terapiji) ali ob simptomatiki, ki je značilna za TB, medtem ko se ostale zdravstvene delavce, ki so obravnavani kot kontakti, pregleda ne prej kot 2 meseca po zadnjem nezaščitenem stiku. **Če se osebe**, ki so obravnavane kot kontakti, na pregled ne odzovejo, se jih še dvakrat pozove; **če na pregled še vedno ne pridejo**, se v Register za tuberkulozo sporoči, da se oseba na vabilo ni odzvala (1, 3, 4, 5, 6).

ZAKLJUČEK

Čeprav je TB v Sloveniji redka bolezen, obstaja možnost prenosa okužbe pri zdravstvenih, laboratorijskih in ostalih delavcih, ki delajo v ustanovah, kjer se zdravijo bolniki s TB ali s sumom na TB. Zato je v teh ustanovah nujno izvajanje vseh ukrepov za preprečevanje prenosa okužbe na zaposlene. Poleg tega je treba ob nezaščitenem stiku delavca s kužnim bolnikom ali nesrečah pri ravnanju **s kužninami opraviti ustrezne preglede in testiranje na latentno okužbo z MT** ter v primeru dokazane okužbe uvesti preventivno zdravljenje.

Preprečevanje prenosa okužbe ter odkrivanje okužbe pri izpostavljenih osebah in preventivno zdravljenje latentne okužbe so najpomembnejši ukrepi za odpravo TB v državah z nizko incidenco.

LITERATURA

1. Register za tuberkulozo Republike Slovenije.
2. Global tuberculosis report 2024. Geneva: World Health Organization; 2024.
3. Consolidated guidance on tuberculosis data generation and use. Module 1. Tuberculosis surveillance. Geneva: World Health Organization; 2024. Dosegljivo na: <https://iris.who.int/handle/10665/376612>.
4. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 2: screening – systematic screening for tuberculosis disease. Geneva: World Health Organization; 2020. Dosegljivo na: <https://iris.who.int/handle/10665/340255>.
5. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 1: prevention - infection prevention and control. Geneva: World Health Organization; 2023. Dosegljivo na: <https://iris.who.int/handle/10665/372738>.
6. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 1: prevention - tuberculosis preventive treatment. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 2024. Dosegljivo na: <https://iris.who.int/handle/10665/378535>.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for preventing the transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in health-care settings, 2005. MMWR 2005; 54 (RR-17):1-142.

Obravnavanje incidenta v zdravstveni ustanovi in mikrobioloških laboratorijih

Post-exposure measures in healthcare facilities and microbiological laboratories

Sergeja Gregorčič,¹ Kristina Fujs Komloš,² Martin Kurent³

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: izpostavitve na delovnem mestu, HIV, virus hepatitisa B, virus hepatitisa C

Zdravstveni in laboratorijski delavci so zaradi narave dela lahko izpostavljeni okužbi s krvno prenosljivimi virusi (virus imunske pomanjkljivosti (HIV), virus hepatitisa B (HBV) in virus hepatitisa C (HCV)). V Sloveniji je pojavnost okužb z omenjenimi virusi v splošni populaciji ocenjena na manj kot 1 %, višja pa je znotraj posameznih skupin. Za preprečevanje prenosa okužb je, poleg splošnih ukrepov preprečevanja, pomembno tudi ustrezno ukrepanje ob izpostavitvi. Za preprečevanje prenosa HIV je na voljo poizpostavitvena kemoprofilaksa. Ob izpostavitvi okužbi s HCV je potrebno spremljanje. V primeru potrjene okužbe razpolagamo z možnostjo protivirusnega zdravljenja. Prenos okužbe s HBV najuspešneje preprečujemo s predizpostavitvenim cepljenjem in preverjanjem uspešnosti cepljenja pri poklicno tveganih skupinah pred nastopom dela.

ABSTRACT

KEY WORDS: occupational exposure, HIV, hepatitis B virus, hepatitis C virus

Healthcare and laboratory workers may be exposed to infection with blood-borne viruses (human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV)). In Slovenia, the estimated incidence of infections with the mentioned viruses in the general population is below 1%, but it is higher in certain groups. In addition to general prevention measures, appropriate action following exposure is important to prevent the transmission of infections. Post-exposure chemoprophylaxis is available to prevent HIV transmission. Monitoring is required after exposure to HCV, with the option of antiviral treatment in case of proven infection. Transmission of HBV is best prevented by pre-exposure immunoprophylaxis and verification of the success of vaccination in occupational risk groups before starting work.

¹ Služba za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb, UKC Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

² Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 4, 1000 Ljubljana

³ Klinični inštitut za medicino dela, prometa in športa, UKC Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

Korespondenca: sergeja.gregorcic@kclj.si

UVOD

Incident je vsak nenameren ali nepričakovan dogodek, ki škoduje ali bi lahko škodoval navzočim. V slovenskem zdravstvenem okolju se izraz uporablja za dogodke, kjer je možna izpostavitve okužbi s krvno prenosljivimi virusi (KPV), med katerimi so najpomembnejši virus človeške imunske pomanjkljivosti (HIV), virus hepatitisa B (HBV) in virus hepatitisa C (HCV) (1). Za prenos KPV so tvegane izpostavitve kužni krvi, tkivom, drugim kužnim izločkom ali virusni kulturi ob perkutani poškodbi, stiku s sluznicami ali poškodovano kožo (1, 2). Nezgode pri delu, ki delavca izpostavijo potencialni okužbi s KPV, želimo s poznavanjem delovnih procesov, zagotavljanjem varnega delovnega okolja in uporabo osebne varovalne opreme v čim večji meri preprečiti. V situacijah, ko se vendarle zgodijo, pa je treba ustrezno ukrepati, da tveganje za prenos okužb zmanjšamo.

EPIDEMIOLOGIJA OKUŽB S KPV V SLOVENIJI

V Sloveniji je ocenjena pojavnost okužbe s KPV v splošni populaciji nizka (pod 1 %), višja pa je v posameznih skupinah z večjim tveganjem za okužbo (osebe, ki injicirajo droge (OID), moški, ki imajo spolne odnose z moškimi (MSM), spolni delavci, zaporniki). Za prijavljene primere, razen za okužbe z virusom HIV, najpogosteje nimamo podatka o načinu prenosa, zato so ocene o pojavnosti okužb s HBV in HCV v posameznih skupinah, pridobljene in dopolnjene z vzporednimi metodologijami (rezultati testiranja zapornikov, testiranja v Centrih za zdravljenje in preprečevanje odvisnosti od prepovedanih substanc), orientacijske (3–5). Podatki kažejo, da se je stopnja razširjenosti okužbe s HBV med OID, ki vstopajo v programe zdravljenja odvisnosti, gibala med 0 in 18 %, za HCV pa je bila opažena najvišja prevalenca protiteles proti HCV (anti-HCV) 48,1 % v letu 2016 (6, 7). V zadnjih letih pogosteje prepoznavamo okužbe s HBV in HCV med MSM. Konec leta 2023 naj bi v Sloveniji živelo nekaj več kot 900 oseb s HIV, od katerih približno desetina naj ne bi vedela, da je okužena. Večina okuženih je moških, pretežno iz skupine MSM. Do konca leta 2023 je bilo v Sloveniji prijavljenih 856 novih diagnoz okužbe s HIV, med njimi je 786 (92 %) oseb prejelo protiretrovirusna zdravila, med prejemniki teh zdravil pa je 773 oseb (98 %) imelo zelo nizko ali nezaznavno virusno breme. Tako velika večina oseb, ki živijo s HIV v Sloveniji, s spolnimi odnosi ne more okužiti drugih (8). Zaradi laboratorijskih omejitev zaznavnosti virusa in prisotnosti virusa v celicah pri parenteralnih izpostavitvah še ne moremo slediti sloganu »nezaznavno je brez tveganja« (9).

POKLICNA IZPOSTAVLJENOST

Večina poklicnih izpostavitvev ne privede do okužbe. Tveganje za prenos okužbe ni enoznačno in je odvisno od vrste, načina in trajanja izpostavitve, vrste virusa in virusnega bremena, dovzetnosti poškodovanca za okužbo ter prevalence aktivne okužbe s KPV v populaciji, kadar imamo opravka s kliničnim materialom. Perkutani vbodi z votlo iglo so za prenos KPV najbolj tvegani. Pri takšni izpostavitvi je tveganje za okužbo s HBV ob stiku s HBe Ag-pozitivno krvjo 23–37 % in ob HBe Ag-negativni krvi 1–6 %, za okužbo s HCV 1,8–4,2 % in za okužbo s HIV 0,3 % (2, 10–12). Prenos prek sluznic je za vse KPV manj verjeten, ni pa možen prek nepoškodovane kože (2, 9, 10). Za virusa HBV in HIV so na voljo podatki o njihovi obstojnosti na površinah, onesnaženih s kužno krvjo, pri sobni temperaturi vsaj teden dni, tako da do preno-

sa lahko pride ob posredni ali neposredni izpostavitvi prek poškodovane kože ali sluznic, kar podpirajo tudi izsledki analize povečanega pojava bolnišničnih okužb s HBV, kjer se večina novookuženih zaposlenih ni spominjala perkutane poškodbe, jih je pa tretjina navedla skrb za bolnika z okužbo s HBV (11, 12).

Kri in okrvavljene druge telesne tekočine so najnevarnejše kužnine za prenos okužbe.

Okužba s HBV je znano poklicno tveganje za zdravstvene in laboratorijske delavce, predvsem tiste, ki imajo opravka s krvjo, saj je bila pred uvedbo cepljenja prevalenca okužb s HBV med zdravstvenimi delavci približno desetkrat višja kot v splošni populaciji in je naraščala z leti zaposlitve v zdravstvu (17). Za okužbe s HCV in HIV nimamo tako prepričljivih epidemioloških podatkov, dokumentirani pa so primeri okužb z obema virusoma po izpostavitvi na delovnem mestu (2, 18).

Na podlagi urgentnih obravnav zaradi izpostavitve KPV na delovnem mestu so v Združenih državah Amerike ocenili, da je najbolj tvegano delovno okolje bolnišnica z 11,3 obravnave na 1000 zaposlenih, najbolj tvegan poklic pa diplomirana medicinska sestra s 15,3 obravnave na 1000 zaposlenih (19).

VARNO DELOVNO OKOLJE IN PREDIZPOSTAVITVENA ZAŠČITA

Delodajalec mora zagotoviti varnost in zdravje delavcev pri delu. Za vsako dejavnost, pri kateri obstaja tveganje za izpostavljenost biološkim dejavnikom, je treba določiti vrsto, stopnjo in trajanje izpostavljenosti delavcev z namenom, da se oceni tveganje za zdravje in varnost ter določi ukrepe, ki jih je treba sprejeti (20). Pri ocenjevanju tveganj ter pripravi in izvajanju ukrepov delodajalec sodeluje s strokovnimi službami (s strokovnim delavcem za varstvo in zdravje pri delu, z izvajalcem medicine dela, z drugimi strokovnimi službami), vendar ga to ne odvezuje odgovornosti (21). Pravilnik o pogojih za pripravo in izvajanje programa preprečevanja in obvladovanja bolnišničnih okužb narekuje, da mora imeti bolnišnica pisna pravila, ki določajo cepljenja, potrebna za delavce na posameznih delovnih mestih, ter indikacije za imunoin kemoprofilakso (22). Za področje incidentov v zdravstvu je pomembna Uredba o varovanju delavcev pred tveganji zaradi poškodb z ostrimi pripomočki, ki v Evropski uniji na enoten način ureja obveznosti delodajalcev in delavcev. Med drugim določa, da mora delodajalec ob seznanitvi s poškodbo delavca z ostrim pripomočkom:

- oskrbeti poškodovanega delavca, vključno s preiskavami po izpostavljenosti oziroma poškodbi, ter poskrbeti za zdravljenje in zdravstveni nadzor, če je to potrebno;
- raziskati vzroke in okoliščine, zaradi katerih je nezgoda nastala (23).

Ukrepi na področju varnosti in zdravja pri delu, vključno s cepljenjem, ne smejo finančno bremeniti delavcev (24).

Najboljša zaščita pred KPV je izogibanje incidentom in uspešno zaključeno cepljenje proti HBV.

Na delovnem mestu morajo biti zagotovljene razmere za varno delo, vsi zaposleni pa morajo upoštevati higienske ukrepe, pravilno uporabljati osebno varovalno opremo, varno ravnati z ostrimi predmeti in opremo ter odlagati kontaminirane predmete (brez posredovanja ali podajanja med delavci) v zavarovane, neprepustne in označene zabojnike za odpadke s pokrovi, ki onemogočajo poseganje v vsebino kontejnerja. Pomembno vlogo pri preprečevanju in zmanjšanju tveganja izpostavljenosti KPV ima

izobraževanje delavcev o tveganjih in posledicah poklicne izpostavljenosti, preprečevanju incidentov ter ukrepih ob incidentu (20, 24).

Med preventivne ukrepe za preprečevanje poklicnih okužb s HBV sodi cepljenje proti hepatitisu B. V Sloveniji je na razpolago od leta 1983 in je že od takrat priporočljivo za osebe, ki bi lahko bile izpostavljene okužbi na delovnem mestu. Od leta 1998 je cepljenje vključeno v nabor obveznih cepljenj otrok in mladostnikov. Temeljno cepljenje sestavljajo trije odmerki cepiva po shemi 0, 1, 6 mesecev. Ker je cepivo visoko učinkovito, rutinska kontrola zaščitnih protiteles proti beljakovini zunanje ovojnice HBV (anti-HBs) ni predvidena. Za zaposlene na delovnih mestih, kjer se to zahteva v skladu s oceno tveganja, se pred nastopom dela preveri cepilni status. Pri necepljenih ali nepopolno cepljenih se cepljenje zaključi po shemi s tremi odmerki, pri popolno cepljenih pa se preveri prisotnost anti-HBs. Če je raven anti-HBs 1-2 meseca ali kadarkoli pozneje po zaključenem cepljenju nad 10 IU/l, je zaposleni zaščiten pred boleznijo. V nasprotnem primeru po zaključeni shemi cepljenja prejme pozitivni odmerek in opravi še eno kontrolo anti-HBs 1-2 meseca po prejemu odmerku. Če ni dosežena ciljna raven in je izključena aktualna okužba s HBV, mora zaposleni prejeti še eno serijo cepiva (3 odmerki po standardni shemi). Mesec ali dva po 6. odmerku je treba ponovno preveriti odgovor na cepljenje. Če je bilo cepljenje uspešno, nadaljnje kontrole niso potrebne. V primeru ponovne neodzivnosti cepljenja ni smiselno ponavljati, lahko pa poskusimo s kombiniranimi cepivi, cepivom z višjo koncentracijo beljakovine zunanje ovojnice HBV (HBsAg) in podkožno aplikacijo cepiva (2, 9, 20). Neodzivniki na cepljenje so dovzetni za okužbo, zato jim je potrebno svetovati glede zaščitnih ukrepov za preprečevanje okužbe s HBV in izbire delovnega mesta. Rutinsko dajanje spodbujevalnih odmerkov cepiva pri odzivnikih ni potrebno. Podatek o odzivu na cepljenje mora biti evidentiran, zaposleni pa s podatkom o zaščiti seznanjen.

OBRAVNAVA INCIDENTA

Incident pravimo dogodku, pri katerem je oseba nenamerno izpostavljena možni okužbi s KPV ob perkutani poškodbi ali stiku sluznic oziroma poškodovane kože s krvjo, tkivom ali drugo potencialno kužno telesno tekočino. Dogodek, ki privede do incidenta, je lahko vbod, ureznina z uporabljenim, kontaminiranim ostrim predmetom (igla, skalpel, lanceta ipd.), razlitje telesne tekočine na poškodovano kožo (opraskanine, odrgnine, dermatitis), razlitje telesne tekočine na sluznice (predvsem očne) ali ugriz (1, 21).

Skladno z zakonskimi določili mora imeti ustanova izdelan načrt obravnave in ukrepanja (17, 18). Ob vsakem incidentu je potrebno takojšnje izvajanje prve pomoči, poročanje o incidentu odgovorni osebi, ovrednotenje incidenta in svetovanje z morebitnimi dodatnimi ukrepi za preprečevanje prenosa KPV (2, 9, 21).

Prva pomoč v primeru vboda/vreza z ostrim predmetom ali politja kože s krvjo ali drugo potencialno kužno telesno tekočino vključuje izpiranje prizadetega predela pod mlačno tekočo vodo 10 minut. Kožo je treba dobro osušiti in razkužiti z alkoholnim razkužilom, ki naj deluje vsaj 2–3 minute, nato po potrebi oskrbeti poškodbo. Pri obrizganju sluznice (tudi očne) je nujno izpiranje z mlačno vodo ali fiziološko raztopino vsaj 10 minut. Če poškodovanec nosi kontaktne leče, jih je treba pred izpiranjem odstraniti in zavreči (25).

Za ovrednotenje incidenta je potrebno poznavanje statusa poškodovanca (cepljenje proti hepatitisu B, morebitna že znana okužba s KPV) in osebe, ki je vir kužnine

(indeks oseba). Če je le mogoče, indeks osebo testiramo na prisotnost okužbe s KPV, razen če je okužba že znana. Če to ni mogoče, si pomagamo z razpoložljivimi epidemiološkimi podatki (MSM, osebe iz držav z visoko prevalenco okužb s KPV, OID idr.) in okoliščinami incidenta, da ocenimo tveganje za prenos okužbe ter potrebo po poizpostavitvenih ukrepih, ki se med posameznimi virusi razlikujejo (2, 9, 21, 22).

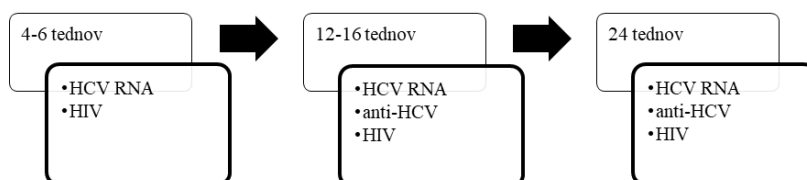
Glede na zapisano je pri večini poklicnih izpostavitvev KPV delavec ob dogodku proti HBV zaščiten, vendar pogosto nimamo dokazila o zaščiti. Zato se ob incidentu še vedno pogosto preveri status anti-HBs. Če so vrednosti nad 10 IU/l, dodatni ukrepi niso predvideni, ob nižjih vrednostih in visoko tvegani izpostavitvi pa poškodovani delavec prejme poživitveni odmerek. Neodzivnike na cepljenje ob visokem tveganju izpostavitve HBV napotimo k infektologu za aplikacijo HBV specifičnih imunoglobulinov. Kadar so potrebni dodatni ukrepi, je časovni okvir čim prej, najpozneje v 72 urah po izpostavitvi. Pri poškodovancih, kjer smo začeli ali nadaljevali shemo cepljenja, je potrebna preverba uspešnosti cepljenja z določanjem anti-HBs po zaključenem cepljenju (2, 18). Če prisotnosti anti-HBs ne dokažemo ali se med spremljanjem pojavijo znaki in simptomi hepatitisa, je treba izključiti na novo pridobljeno okužbo s HBV.

Pri izpostavitvi okužbi s HCV nimamo učinkovitih poizpostavitvenih ukrepov, obstajajo pa učinkovita protivirusna zdravila za zdravljenje aktualne okužbe s HCV, zato poškodovanca laboratorijsko spremljamo. Specifična protitelesa proti HCV se v krvi pojavijo 8–12 tednov po okužbi, že pred tem obdobjem pa okužbo s HCV odkrijemo s testiranjem prisotnosti virusnega genoma oziroma HCV RNK, ki se v krvi v povprečju pojavi v dveh tednih po izpostavitvi. Običajno se spremljanje poškodovanca začne s testiranjem na anti-HCV ob incidentu, testiranje na HCV RNK se izvede 4–6 tednov po incidentu ter na anti-HCV in HCV RNK 12–16 in 24 tednov po incidentu ter ob morebitni pojavitvi bolezenskih znakov (Slika 1). Če nastane aktualna okužba, uvedemo zdravljenje hepatitisa C s protivirusnimi zdravili za 8 ali 12 tednov, s čimer lahko okuženega delavca pozdravimo v skoraj vseh primerih (2, 18).

Izpostavljenega delavca, za katerega je znano, da je v incidentu udeležena indeks oseba HIV-seropozitivna ali je ocenjeno visoko tveganje za prenos HIV, vedno takoj napotimo k infektologu, saj je treba poizpostavitveno zaščito (angl. *post-exposure prophylaxis*, PEP) s protiretrovirusnimi zdravili začeti čim prej, znotraj 72 ur po incidentu. Upravičenost uporabe PEP ocenimo po 48 urah; če je indicirana, z njo nadaljujemo 28 dni (2, 18).

Če HIV-serostatusa indeks osebe ne poznamo, poškodovanca po ustreznem svetovanju spremljamo s serološkim presejalnim testiranjem na HIV ob incidentu, po 6 tednih ter po 4–6 mesecih po incidentu (Slika 1).

Slika 1. Algoritem mikrobiološkega spremljanja po morebitni izpostavitvi okužbi z virusom hepatitisa C (HCV) in virusom človeške imunske pomanjkljivosti (hiv).



ZAKLJUČEK

Prenosi okužb s KPV v delovnem okolju so zelo redki, a ker lahko imajo resne posledice za zdravje poškodovanca, si je treba še naprej prizadevati, da bodo jasno oblikovana in zapisana strokovna in zakonska stališča do poklicnih izpostavitvev KPV v vsakdanji praksi tudi v čim večji meri zaživila.

LITERATURA

1. Lužnik-Bufon T. Incident-možnost parenteralnega prenosa okužb pri zdravstvenih delavcih. *Med Razgl.* 2001(40(S2)):129–36.
2. CDC. Updated U.S. Public Health Service Guidelines for the Management of Occupational Exposures to HBV, HCV, and HIV and Recommendations for Postexposure Prophylaxis. 2001(50(RR11)):1–42.
3. Stanje na področju prepovedanih drog v Sloveniji 2024. NIJZ; 2025 [citirano 2025 Sept 23]. Dosegljivo na: <https://nijz.si/publikacije/stanje-na-podrocju-prepovedanih-drog-v-sloveniji-2023/>.
4. ECDC. ECDC evidence brief: Prevention of hepatitis B and C in the EU/EEA. Stockholm: ECDC; 2024.
5. NIJZ. Okužba s HIV v Sloveniji. Podatki o prijavljenih primerih do vključno 20. novembra 2024. 2024 [citirano 2025 Sept 23]. Dosegljivo na: <https://nijz.si/publikacije/okužba-s-hiv-v-sloveniji-do-vkljucno-20-11-2024/>.
6. NIJZ. Stanje na področju prepovedanih drog 2017. NIJZ; 2018 [citirano 2025 Sept 23]. Dosegljivo na: https://nijz.si/wp-content/uploads/2022/07/npslo_2017.pdf.
7. Jandl M, Hočevar Grom A, Belščak Čolaković A, Drev A, Havašič N, Tratar A. Report on the drug situation 2024 of the Republic of Slovenia. Ljubljana: NIJZ; 2024 [citirano 2025 Sept 23]. Dosegljivo na: https://nijz.si/wp-content/uploads/2024/12/NP_2024_obl_eng_3_4_25.pdf.
8. Klavs I, Kustec T, Berlot L, Kastelic Z, Avsec M, Tomažič J. Okužba s HIV v Sloveniji v letu 2023. Okužba s HIV v Sloveniji. NIJZ; 2024 [citirano 2025 Sept 23]. Dosegljivo na: https://nijz.si/wp-content/uploads/2025/07/HIV_2cet2025.pdf
9. Gosbell IB, Hoad VC, Styles CE, Lee J, Seed CR. Undetectable does not equal untransmittable for HIV and blood transfusion. *Vox Sang.* 2019;114(6):628–30.
10. Lauer JL, VanDrunen NA, Washburn JW, Balfour HH. Transmission of hepatitis B virus in clinical laboratory areas. *J Infect Dis.* 1979;140(4):513–6.
11. Henderson DK, Fahey BJ, Willy M, Schmitt JM, Carey K, Koziol DE, idr. Risk for occupational transmission of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) associated with clinical exposures. A prospective evaluation. *Ann Intern Med.* 1990;113(10):740–6.
12. Jagger J, Puro V, De Carli G. Occupational transmission of hepatitis C virus. *JAMA.* 2002;288(12):1469–71.
13. Denault D, Gardner H. OSHA Bloodborne Pathogen Standards. V: *StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [citirano 2025 Sept 23].* Dosegljivo na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570561/>.
14. Beltrami EM, Williams IT, Shapiro CN, Chamberland ME. Risk and management of blood-borne infections in health care workers. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13(3):385–407.
15. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis.* 2006;6(1):130.
16. Levy BS, Harris JC, Smith JL, Washburn JW, Mature J, Davis A, idr. Hepatitis B in ward and clinical laboratory employees of a general hospital. *Am J Epidemiol.* 1977;106(4):330–5.
17. Denes AE, Smith JL, Maynard JE, Doto IL, Berquist KR, Finkel AJ. Hepatitis B infection in physicians. Results of a nationwide seroepidemiologic survey. *JAMA.* 1978;239(3):210–2.
18. Loboda Č, Gregorčič S. Zaščita zdravstvenih delavcev pred virusnimi okužbami. V: *Protimikrobno zdravljenje in zaščita.* Ljubljana: Sekcija za protimikrobno zdravljenje; str. 87–96. Infektološki simpozij 2023; let. 2023).
19. Chen GX, Jenkins EL. Potential work-related bloodborne pathogen exposures by industry and occupation in the United States Part I: An emergency department-based surveillance study. *American J Industrial Med.* 2007;50(3):183–90.
20. Pravilnik o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkim dejavnikom pri delu, Uradni list RS, št. 168/20 in 12/24).
21. Zakon o varnosti in zdravju pri delu (ZVZD-1), Uradni list RS, št. 43/11.

22. Pravilnik o pogojih za pripravo in izvajanje programa preprečevanja in obvladovanja bolnišničnih okužb, Uradni list RS, št. 74/99, 92/06 in 10/11.
23. Uredba o varovanju delavcev pred tveganji zaradi poškodb z ostrimi pripomočki, Uradni list RS, št. 46/13.
24. Program cepljenja in zaščite za leto 2025, Uradni list RS, št. 12/2025.
25. Lužnik Bufon T, Klavs I, Avsec-Letonja D, Dragaš A, Dolenc M, Dolinšek M. Strokovne podlage za pripravo programa za obvladovanje in preprečevanje okužb, ki so povezane z zdravstvom oz. zdravstveno oskrbo. Let. 2009. Ljubljana: Ministrstvo za zdravje RS; 126–35 str.
26. NIJZ. Priporočila za cepljenje oseb, ki so pri opravljanju dela izpostavljene možnosti okužbe z virusom hepatitisa B. 2019. Dosegljivo na: https://nijz.si/wp-content/uploads/2019/05/cepljenje_zd_protihbv_2019-1.pdf.

Okužbe z virusom gripe in Sars-CoV-2 pri zdravstvenih delavcih in njihovo preprečevanje

Influenza and Sars-CoV-2 infections in healthcare workers and their prevention

Tatjana Mrvič,¹ Miroslav Petrovec²

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: zdravstveni delavci, gripa, Sars-CoV-2, breme, preprečevanje

Okužbe z virusi gripe in Sars-CoV-2 pri zdravstvenih delavcih (ZD) so najbolj pogoste s poklicem povezane okužbe. ZD jih lahko prenesejo na ranljive bolnike, ki lahko zbolijo s težko klinično sliko ali celo umrejo. Multimodalne strategije, ki vključujejo higieno rok, univerzalno uporabo zaščitnih mask, hitro mikrobiološko diagnostiko okužb, epidemiološko spremljanje in dobro komunikacijo z zaposlenimi kot tudi promocijo cepljenja ZD, so se izkazale za učinkovite pri zmanjševanju bremena gripe v zdravstvenih ustanovah. Te strategije smo prav tako uspešno vpeljali v prakso ob pandemiji covid-19 in jih uporabljamo tudi v obdobju po njej. Največji izziv ostaja nizek delež precepljenosti ZD, čeprav sta cepivi proti gripi in covidu-19 dokazano učinkoviti in prispevata k zmanjševanju bremena bolezni v zdravstvenih ustanovah.

ABSTRACT

KEYWORDS: healthcare workers, influenza, Sars-CoV-2, burden, prevention

Influenza and Sars-CoV-2 infections among healthcare workers (HCWs) are the most common occupational infections. HCWs can transmit these infections to vulnerable patients, who may develop severe disease or even die. Multimodal strategies that include hand hygiene, universal use of protective masks, rapid microbiological diagnosis of infections, epidemiological surveillance, and good communication with employees, as well as promotion of vaccination in HCW, have proven to be effective in reducing the burden of influenza in healthcare facilities. We have successfully implemented these strategies in practice during the COVID-19 pandemic and continue to use them in the post-pandemic period. The biggest challenge remains the low vaccination coverage among HCWs, despite the fact that influenza and COVID-19 vaccines have been proven to be effective and contribute to reducing the burden of disease in healthcare facilities.

¹ Univerzitetni klinični center, Zaloška 2, 1000 Ljubljana

² Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

Korespondenca: tatjana.mrvic@kclj.si

UVOD

Zdravstveni delavci (ZD) so ena od osmih poklicnih skupin, ključnih za delovanje družbe, in v razvitem svetu predstavljajo 20 odstotkov kritične delovne sile (1). Okužbe dihal, ki jih povzročita virusa gripe in Sars-CoV-2, so najbolj pogoste s poklicem povezane okužbe. ZD jih lahko prenesejo na ranljive bolnike, pri katerih okužba včasih poteka s težko klinično sliko ali je za njih celo smrtno nevarna. Zaščita ZD z zgodnjim prepoznavanjem okužb, nefarmakološkimi ukrepi in cepljenjem zmanjša število prenosov in preprečuje bolnišnične okužbe z obema virusoma (2).

V prispevku predstavljamo breme okužb z gripo in Sars-CoV-2 pri ZD ter načine preprečevanja okužb v zdravstvenih ustanovah.

GRIPA PRI ZDRAVSTVENIH DELAVCIH

Virusi gripe so pomemben vzrok hude bolezni, smrtnosti in hospitalizacij po vsem svetu. Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) poroča, da letno z resnim potekom gripe zboli 3 do 5 milijonov ljudi, 290 do 650 tisoč pa jih zaradi gripe ali njenih posledic umre (2). V raziskavi iz leta 2018 je bila med vsemi vzroki smrti v obdobju 2012 do 2018 letna smrtnost zaradi gripe ocenjena na 16,1/100.000 prebivalcev EU (3).

Pri ZD je v primerjavi s splošno populacijo tveganje za okužbo z virusi gripe povečano. Metaanaliza iz leta 2011 je pokazala, da je bila incidenca laboratorijsko potrjene gripe med necepljenimi ZD 18,7-odstotna, kar je bilo 3,4-krat več kot v splošni populaciji zdravih odraslih (4). Ko ZD zbolijo za gripo, se poveča odsotnost z dela, kar moti delovne procese, okrepi pa se tudi verjetnost za bolnišnične okužbe (5).

Prenos gripe z ZD na bolnike je dobro dokumentirano in znano tveganje v zdravstvenih ustanovah. Epidemiološke in molekularne raziskave so dokazale neposreden prenos z ZD na bolnike, vključno z bolnišničnimi izbruhi na akutnih in negovalnih oddelkih (6, 7). Velik delež ZD z laboratorijsko potrjeno gripo okužbo preboleva asimptomatsko ali z blagimi simptomi, ob tem pa izločajo virus in predstavljajo nevarnost za prenos okužbe. V multicentrični kohorti je bila skoraj polovica ZD z gripo asimptomatskih in dodatnih 42 odstotkov je imelo le blage simptome, kar kaže na pomen uvajanja dodatnih ukrepov za preprečevanje širjenja okužb, ne samo iskanje simptomatskih ZD (8, 9). Prenos gripe z asimptomatskih ZD je sicer redkejši, a možen, medtem ko so simptomatski oboleli ZD pogostejše vir okužbe za druge (10). Poseben problem je tudi t. i. prezentizem, ko ZD delajo, čeprav imajo simptome okužbe dihal in so brez vročine, večinoma zaradi občutka dolžnosti, lahko pa tudi zaradi podcenjevanja možnosti prenosa okužbe na sodelavce in/ali bolnike (9).

Cepljenje proti gripi je najbolj učinkovita strategija za preprečevanje bolezni. Vsakoletno cepljenje je dobro prepoznani učinkovit preventivni ukrep pred okužbo. SZO ga priporoča za rizične populacije, pri katerih lahko bolezen poteka težje. Med prioritete skupine za cepljenje uvršča tudi ZD (2). To priporočilo je sprejelo več kot 40 držav in regij po svetu. Kljub temu pa se precepljenost ZD med državami in celinami zelo razlikuje. Metaanaliza iz leta 2023, ki je zajela 92 raziskav iz 26 držav, objavljenih do februarja 2023, je pokazala, da je skupni delež ZD, cepljenih proti gripi, po svetu 41,7 %. V državah v razvoju je precepljenost znašala 46,9 %, v razvitih državah pa 35,6 %. Deleži cepljenih ZD po celinah pa so bili: Amerika 67,1, Bližnji vzhod 51,3, Oceanija 48,7, Evropa 42,5, Azija 28,5 in Afrika 6,5 % (11). Po podatkih Evropskega centra za preprečevanje in obvladovanje bolezni je bil skupni delež cepljenih ZD v EU v sezoni 2023/24 le 22 % (razpon 5–58 %) (12).

Učinkovitost cepiva proti gripi je v primerjavi z drugimi cepivi daleč od optimalne. Nanj vplivajo antigenska podobnost med cepilnimi antigeni in krožečimi virusi gripe, mutacije virusov, vzgojenih na kokošjih jajcih, in predhodna imunost (13). Dokazi iz sistematičnega pregleda randomiziranih kontroliranih raziskav pa kljub temu kažejo, da lahko inaktivirana cepiva proti gripi, ki so jih prejeli zdravi odrasli, preprečijo 59 odstotkov laboratorijsko potrjenih primerov gripe. Če so cepilni sevi skladni s sevi gripe, ki kroži, pa je bilo dokazano, da se incidenca gripi podobne bolezni zmanjša za 42 odstotkov (14).

Nefarmakološki ukrepi, kot so higiena rok, nošenje zaščitnih mask pri ZD in bolnikih ter mikrobiološko presejanje bolnikov s simptomi okužbe, lahko bistveno zmanjšajo prenose bolnišnično pridobljene gripe. Medtem ko so dokazi o učinkovitosti posameznih intervencij mešani, so se multimodalni pristopi z upoštevanjem navedenih komponent in dodatno promocijo cepljenja ZD ter komunikacijskimi kampanjami izkazali za učinkovite (15). Implementacija teh ukrepov je bila učinkovita tudi pri preprečevanju okužb s Sars-CoV-2 med pandemijo covid-19 in po njej.

OKUŽBE S SARS-COV-2 PRI ZDRAVSTVENIH DELAVCIH

Pandemija covid-19 je pokazala, da večina držav ni imela vzpostavljenih ustreznih načrtov za preprečevanje in obvladovanje širjenja okužbe. Zaradi visokega potenciala širjenja Sars-CoV-2 so bile in so še vedno okužbe s tem virusom eden od najbolj pogostih neželenih bolnišničnih dogodkov, ki vplivajo na varnost bolnikov. Ob začetku pandemije so bili zaradi pomanjkanja jasnih navodil, osebne varovalne opreme in neustrezne zdravstvene infrastrukture okužbi najbolj izpostavljeni ravno ZD. Obolevnost zaradi covid-19 med ZD je bila višja kot v splošni populaciji (16, 17). Ocenjuje se, da je v obdobju prvega in drugega vala (2020–2021) zbolelo 43 % ZD po vsem svetu (18). SZO je ocenila, da je do maja 2021 po svetu zaradi okužbe z virusom Sars-CoV-2 umrlo 115.500 (80.000 do 180.000) ZD, kar je bilo verjetno precej podcenjeno (19). Po regijah SZO je največ ZD umrlo ravno v Evropi v prvem letu pandemije (19). SZO je v obdobju od 1. junija 2020 do 31. decembra 2021 izvedla obsežno globalno raziskavo v 21 državah z namenom opredelitve nevarnostnih dejavnikov za okužbo pri ZD. V raziskavo je bil vključen 5501 ZD. Izkazalo se je, da so bili glavni rizični dejavniki za okužbo neupoštevanje navodil o uporabi osebne varovalne opreme, neizvajanje higiene rok po stiku z bolniki ter neposreden daljši stik z bolniki, okuženimi s covidom-19 (> 15 minut). Ob uporabi partikularnih mask med postopki, kjer se tvorijo aerosoli, uporabi zaščitnih plaščev/kombinezonov in rokavic pri stiku s kontaminiranimi materiali in/ali površinami se je tveganje za okužbo zmanjšalo. Nobene razlike v obolevnosti pa niso opažali pri ZD, ki so nosili ali partikularne ali kirurške maske med rutinskim delom (21). Nefarmakološki ukrepi (higiena rok, uporaba osebne varovalne opreme, dosledno čiščenje/razkuževanje), ki smo jih v zdravstvu izvajali v času pandemije covid-19, so posredno vplivali na pojavnost drugih bolnišnično pridobljenih okužb, čeprav so poročila o tem sicer nasprotujoča. V več poročilih, predvsem iz Italije, Brazilije in Nemčije, so opisovali bistveno povečanje števila okužb, ki jih povzročijo večkratno odporne bakterije (VOB) (22–24). Podobno smo ugotavljali tudi v Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani, kjer se je breme izolatov VOB v kliničnih in nadzornih kužninah v času od marca 2020 do decembra v primerjavi s predpandemskim obdobjem bistveno povečalo (25). Na drugi strani pa v Španiji in Franciji tega niso ugotavljali (26, 27). Na paradoksnih vpliv covid-19 na pojavnost bolnišničnih okužb in deleže VOB je vplivalo več dejavnikov. Veliko število

bolnikov s covidom-19 in pomanjkanje ZD zaradi obveznih izolacij v primeru okužbe ali karantene ob stiku s potrjenimi primeri je vodilo do zaposlovanja manj izkušenih ZD. Dodatno so bili ZD psihično in fizično izčrpani ter izgoreli, kar je prinašalo izzive v vsakodnevem delu (28–30).

S trajanjem pandemije in dostopnostjo cepljenja so se nevarnostni dejavniki za okužbo ZD spremenili. V kanadski raziskavi so ugotavljali, da so bili rizični dejavniki za okužbo ZD povezani z izpostavljenostjo obolelim družinskim članom ali sodelavcem in ne več obolelim bolnikom (31).

Cepljenje proti covidu-19 je postalo eden od glavnih stebrov obvladovanja okužbe pri ZD v času pandemije. V prvem obdobju po registraciji cepiva se je s 1. oziroma 2. odmerkom cepiva proti covidu-19 v Evropski uniji in Evropski ekonomski skupnosti (EU/EEA) cepil velik delež ZD (86 in 80 %), prav tako je ostal visok delež cepljenih ZD s prvim pozitivnim odmerkom (32). Čeprav se je učinkovitost cepiva s pojavom novih različic virusa nižala in je po podatkih v času kroženja Omikrona zbolelo 5,5-krat več cepljenih ZD kot v valu Delta oziroma celo 7,7-krat več kot v obdobju pred Delto, pa se je izkazalo, da je cepljenje s tremi odmerki ZD ščitilo pred hudo boleznijo in potrebo po hospitalizaciji (33, 34). S trajanjem pandemije, prekuženostjo in predhodno precepljenostjo populacije je postopoma izginil strah ZD pred okužbo, kar je nato vplivalo na zmanjševanje deleža cepljenih s pozitivnimi odmerki ter opuščanje osnovnih ukrepov za preprečevanje širjenja okužb (uporaba mask, higiena rok) v zdravstvenih ustanovah. Pomembno je zavedanje, da se je s kroženjem novih sevov virusa zmanjšala učinkovitost cepiva za zaščito pred brezsimptomno ali blago obliko bolezni, na blažji potek okužbe pa vplivajo tudi predhodne okužbe. To pa ima za posledico večjo pojavnost bolnišničnih okužb, saj ostajajo ZD, čeprav okuženi, v delovnem procesu. Zato je še toliko bolj pomembno, da imajo zdravstvene ustanove izdelana natančna navodila za preprečevanje in obvladovanje širjenja virusnih okužb dihal in da ZD dosledno upoštevajo standardne ukrepe pri delu z vsemi bolniki.

Breme covid-19 se za ZD nadaljuje tudi po zaključku pandemije. Številni še vedno občutijo izgorelost, stres in čustveno izčrpanost. Poudariti je potrebno tudi duševne težave, kot so anksioznost in depresija, ki so bile v obdobju pandemije pogoste (35). ZD se soočajo tudi s fizičnimi in delovnimi izzivi. Nekateri, ki so preboleli okužbo v pandemiji, imajo še vedno zdravstvene težave (36). Podhranjen ali preobremenjen zdravstveni sistem predstavlja dodaten pritisk za ZD, ki morajo zagotavljati ustrezno zdravstveno oskrbo in so osebno odgovorni za bolnike (35). Čustvena izčrpanost in stres sta privedla tudi do velike fluktuacije ZD po zaključku pandemije, kar dodatno obremenjuje ZD, ki ostajajo v poklicu, in vpliva na obravnavno bolnikov (35). Marsikje je pandemija razgalila tudi predhodne sistemske pomanjkljivosti v zdravstvenih sistemih, kar se kaže s kroničnim pomanjkanjem delovne sile in virov, to pa vpliva na vsakodnevno delo (35).

ZAKLJUČEK

Izbruhi, vsakoletne epidemije in pandemije virusnih okužb dihal so za zdravstvene kapacitete stalen izziv. Ključno je, da imajo zdravstvene ustanove pripravljene preventivne ukrepe, s katerimi zmanjšujejo oziroma omejujejo širjenje okužb na individualni ravni med ZD in bolniki kot tudi na ravni ustanove.

Okužbe ZD z virusom gripe in Sars-CoV-2 predstavljajo veliko breme v zdravstvenih sistemih povsod po svetu. Multimodalne strategije, ki vključujejo higieno rok, univerzalno uporabo zaščitnih mask, hitro mikrobiološko diagnostiko okužb, epidemiološko spremljanje in dobro komunikacijo z zaposlenimi kot tudi promocijo cepljenja ZD, so se izkazale za učinkovite pri zmanjševanju bremena gripe v zdravstvenih

ustanovah. Enake strategije lahko uspešno uporabljamo tudi za preprečevanje širjenja Sars-Cov-2. V Sloveniji smo multimodalne strategije uspešno usvojili in v praksi uporabili v času pandemije covid-19. Takrat se je izkazalo, da so enotna nacionalna navodila, redna izobraževanja/delavnice za zdravstvene delavce o pravilni uporabi osebne varovalne opreme, izolacijskih ukrepov in higieni rok, dodatno svetovanje, ki ga ponudijo kompetentni strokovnjaki s področja preprečevanja in obvladovanja bolnišničnih okužb, ter dostopna in hitra mikrobiološka diagnostika ključni za uspešno preprečevanje širjenja okužb v zdravstvenih ustanovah. Trenutno največji izziv pri nas in drugje po svetu je nizek delež precepljenosti ZD, čeprav sta cepivi proti gripi in covidu-19 dokazano učinkoviti in prispevata k zmanjšanju bremena bolezni v zdravstvenih ustanovah. Tu pa je pomembna tudi vloga politike in različnih interesnih skupin, ki bi morale na državni ravni na podlagi strokovnih dokazov podpreti oziroma pripraviti programe za učinkovito zaščito pred obema okužbama.

LITERATURA

1. International Labour Office. World Employment and Social Outlook 2023: The Value of Essential Work; International Labour Office: Geneva, Switzerland, 2023 [citirano 2025 Okt 24]. Dosegljivo na: https://www.ilo.org/sites/default/files/wcmstp5/groups/public/@dgreports/@dcomm/@publ/documents/publication/wcms_871016.pdf
2. WHO. *Influenza (seasonal)*. Geneva: World Health Organization. (2023) [citirano 2025 Okt 24]. Dosegljivo na: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))
3. Nielsen J, Vestergaard LS, Richter L, et al. European all-cause excess and influenza-attributable mortality in the 2017/18 season: should the burden of influenza B be reconsidered? *Clin Microbiol Infect.* 2019 Oct; 25(10): 1266–1276.
4. Kuster SP, Shah PS, Coleman BL, et al. Incidence of influenza in healthy adults and healthcare workers: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* (2011) 6:e26239.
5. Gianino MM, Kakaa O, Politano G, et al. Severe and moderate seasonal influenza epidemics among Italian healthcare workers: A comparison of the excess of absenteeism. *Influenza Other Respir Viruses.* 2021 Jan;15(1):81-90.
6. Eibach D, Casalegno JS, Bouscambert et al. Routes of transmission during a nosocomial influenza A(H3N2) outbreak among geriatric patients and healthcare workers. *J Hosp Infect.* 2014 Mar;86(3):188–93.
7. Wilson KE, Wood SM, Schaecher KE, et al. Nosocomial outbreak of influenza A H3N2 in an inpatient oncology unit related to health care workers presenting to work while ill. *Am J Infect Control.* 2019 Jun;47(6):683–687.
8. Bénet T, Amour S, Valette M, et al. Incidence of Asymptomatic and Symptomatic Influenza Among Healthcare Workers: A Multicenter Prospective Cohort Study. *Clin Infect Dis.* 2021 May 4;72(9):e311–e318.
9. Ridgway JP, Bartlett AH, Garcia-Houchins S, et al. Influenza among afebrile and vaccinated healthcare workers. *Clin Infect Dis.* 2015 Jun 1;60(11):1591–5.
10. Tamò R, Turk T, Böni J, et al. Secondary attack rates from asymptomatic and symptomatic influenza virus shedders in hospitals: Results from the TransFLUas influenza transmission study. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2022 Mar;43(3):312–318.
11. Fan J, Xu S, Liu Y, et al. Influenza vaccination rates among healthcare workers: a systematic review and meta-analysis investigating influencing factors. *Front Public Health.* 2023 Nov 6;11:1295464.
12. European Centre for Disease Prevention and Control. Survey Report on National Seasonal Influenza Vaccination Recommendations and Coverage Rates in EU/EEA Countries: Data from the 2024 ECDC Influenza Survey, 2021–22 to 2023–24 Influenza Seasons (Publications Office, 2024).
13. Gouma, S, Anderson, EM, Hensley, SE. Challenges of making effective influenza vaccines. *Annu. Rev. Virol.* 7, 495–512 (2020).
14. Demicheli V, Jefferson T, Ferroni E, et al. Vaccines for preventing influenza in healthy adults. *Cochrane Database Syst Rev.* (2018) 2: Cd001269.
15. Gallouche M, Terrisse H, Larrat S, et al. Effect of a multimodal strategy for prevention of nosocomial influenza: a retrospective study at Grenoble Alpes University Hospital from 2014 to 2019. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2022 Feb 8;11(1):31.

16. Shah ASV, Wood R, Gribben C, et al. Risk of hospital admission with coronavirus disease 2019 in healthcare workers and their households: Nationwide linkage cohort study. *BMJ* 2020, 371, m3582.
17. Nguyen LH, Drew, DA, Graham, MS, et al. Risk of COVID-19 among front-line health-care workers and the general community: A prospective cohort study. *Lancet Public Health* 2020, 5, e475–e483.
18. Chou R, Dana T, Buckley DI, et al. Update Alert 11: Epidemiology of and risk factors for coronavirus infection in health care workers. *Ann Intern Med* 2022;175:W83e4.
19. World Health Organization. The Impact of COVID-19 on Health and Care Workers: A Closer Look at Deaths; Health Workforce Department—Working Paper 1; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2021.
20. Bandyopadhyay S, Baticulon RE, Kadhum M, et al. Infection and mortality of healthcare workers worldwide from COVID-19: A systematic review. *BMJ Glob. Health* 2020, 5, e003097.
21. Cassini A, Mo Y, Simniceanu A, et al. COVID-19 in Health Workers Collaborative Group. Infection prevention and control risk factors for SARS-CoV-2 infection in health workers: a global, multi-centre, case-control study. *J Hosp Infect.* 2025 Jan;155:40–50.
22. Kampmeier S, Tönnies H, Correa-Martinez CL, et al. A Nosocomial Cluster of Vancomycin Resistant Enterococci among COVID-19 Patients in an Intensive Care Unit. *Antimicrob. Resist. Infect. Control* 2020, 9, 154.
23. Polly M, de Almeida BL, Lennon RP, et al. Impact of the COVID-19 Pandemic on the Incidence of Multidrug-Resistant Bacterial Infections in an Acute Care Hospital in Brazil. *Am. J. Infect. Control* 2022, 50, 32–38.
24. Porretta AD, Baggiani A, Arzilli G, et al. Increased Risk of Acquisition of New DelhiMetallo-Beta-Lactamase-Producing Carbapenem-Resistant Enterobacterales (NDM-CRE) among a Cohort of COVID-19 Patients in a Teaching Hospital in Tuscany, Italy. *Pathogens* 2020, 9, 635.
25. Mrvič, T, Stevanoska S, Beović B, et al. The Impact of COVID-19 on Multidrug-Resistant Bacteria at a Slovenian Tertiary Medical Center. *Antibiotics* 2024, 13, 214.
26. Garcia-Vidal C, Sanjuan G, Moreno-García, E, et al. Incidence of Co-Infections and Superinfections in Hospitalized Patients with COVID-19: A Retrospective Cohort Study. *Clin. Microbiol. Infect.* 2021, 27, 83–88.
27. Contou D, Claudinon A, Pajot O, et al. Bacterial and Viral Co-Infections in Patients with Severe SARS-CoV-2 Pneumonia Admitted to a French ICU. *Ann. Intensive Care* 2020, 10, 119.
28. Zhou T, Guan R, Rosenthal SL, et al. Supporting Health-Care workers and patients in Quarantine wards: evidence from a survey of Frontline Health-Care workers and inpatients with COVID-19 in Wuhan, China. *Front Public Health.* 2021;9:705354.
29. Young KP, Kolcz DL, O'Sullivan DM, et al. Health Care Workers' Mental Health and Quality of Life during COVID-19: results from a mid-pandemic, National Survey. *Psychiatr Serv.* 2021;72(2):122–8.
30. Evanoff BA, Strickland JR, Dale AM, et al. Work-related and personal factors Associated with Mental Well-being during the COVID-19 response: survey of Health Care and other workers. *J Med Internet Res.* 2020;22(8):e21366.
31. Coleman BL, Robertson NM, Harrison RA, et al. Risk factors for infection with SARS-CoV-2 in a cohort of Canadian healthcare workers: 2020-2023. *Epidemiol Infect.* 2025 Jun 23;153:e72.
32. McGlacken T, Codd, M. Comparison, by Country, of the Uptake of COVID-19 Vaccination by Health Care Workers in the EU/EEA. *Eur. J. Public Health* 2023, 33 (Suppl. S2), ckad160.1040
33. Savulescu C, Prats-Urbe A, Brolin K, et al. Incidence of SARS-CoV-2 Infection Among European Healthcare Workers and Effectiveness of the First Booster COVID-19 Vaccine, VEBIS HCW Observational Cohort Study, May 2021-May 2023. *Vaccines (Basel).* 2024 Nov 19;12(11):1295.
34. Thompson MG, Natarajan K, Irving SA, et al. Effectiveness of a Third Dose of mRNA Vaccines Against COVID-19–Associated Emergency Department and Urgent Care Encounters and Hospitalizations Among Adults During Periods of Delta and Omicron Variant Predominance—VISION Network, 10 States, August 2021–January 2022. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2022, 71, 139–145.
35. Gupta N, Dhamija S, Patil J, et al. Impact of COVID-19 pandemic on healthcare workers. *Ind Psychiatry J.* 2021 Oct;30(Suppl 1):S282–S284.
36. Luedtke L, Haller-Wolf J, Kriston Let al. Post-COVID in healthcare workers and its consequences on quality of life, activities, participation, need for rehabilitation and care experiences: protocol of a cohort study. *BMJ Open.* 2024 Nov 17;14(11):e083422.

Cepljenje zdravstvenih delavcev: obvezna in priporočena cepljenja v Sloveniji

Vaccination of healthcare workers: mandatory and recommended vaccinations in Slovenia

Tatjana Mrvič,¹ Anja Šterbenc Železnik,^{1, 2} Maja Sočan,³ Irena Grmek Košnik^{3, 4}

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: zdravstveni delavci, cepiva, nalezljive bolezni, priporočila, Slovenija

Pri zdravstvenih delavcih (ZD) in sodelavcih je tveganje za izpostavljenost povzročiteljem nalezljivih bolezni ter za njihov prenos na paciente in sodelavce povečano. V Sloveniji pravni okvir določata Zakon o nalezljivih boleznih (ZNB) in Pravilnik o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkim dejavnikom pri delu; letne, operativne usmeritve pa izhajajo iz Programa cepljenja in zaščite z zdravili ter strokovnih priporočil Nacionalnega inštituta za javno zdravje (NIJZ). Ključna obveznost pred izpostavitvijo za ZD je cepljenje proti hepatitisu B, med priporočila za vse ZD pa sodijo cepljenja proti gripi (vsako sezono), covidu-19 (posodobljeni odmerek), tetanusu, davici, oslovskemu kašlju/tetanusu, davici (po shemi za odrasle) ter dokaz imunosti ali cepljenje proti ošpicam, mumpsu, rdečkam (MMR) in noricam (VZV), z dodatnimi cepljenji glede na oceno tveganja delovnega mesta (npr. cepljenje proti hepatitisu A, tifusu, steklini, meningokoku za specifične laboratorijske izpostavitve).

ABSTRACT

KEY WORDS: healthcare workers, vaccines, infectious diseases, recommendations, Slovenia

Healthcare workers (HCWs) and non-clinical employees are at an increased risk of exposure to infectious disease agents and transmission of these agents to patients and colleagues. In Slovenia, the legal framework is defined by the Infectious Diseases Act and the Regulation on the Protection of Workers from Risks Due to Exposure to Biological Agents at Work. Annual operational guidelines are based on the Vaccination and Medication Protection Program and the professional recommendations of the National Institute of Public Health. A key obligation for HCWs prior to exposure

¹ Univerzitetni klinični center, Zaloška 2, 1000 Ljubljana

² Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

³ Nacionalni inštitut za javno zdravje, Center za nalezljive bolezni, Zaloška 29, 1000 Ljubljana

⁴ Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Prvomajska 1, 2000 Maribor

Korespondenca: tatjana.mrvic@kclj.si

is vaccination against hepatitis B, while recommended vaccinations for all HCWs include influenza (every season), COVID-19 (updated dose), tetanus, diphtheria, pertussis/tetanus, diphtheria (according to the adult vaccination schedule), as well as proof of immunity or vaccination against measles, mumps, rubella (MMR), and varicella-zoster virus (VZV). Additional vaccinations may be required based on the risk assessment of the specific workplace (e.g., against hepatitis A, typhoid, rabies, meningococcus for specific laboratory exposures).

UVOD

Cepiva so eden največjih dosežkov medicine in so temelj javnega zdravja. Uvedba rutinskih programov cepljenja v drugi polovici 20. stoletja je pomembno prispevala k preprečevanju in obvladovanju nalezljivih bolezni, ki jih je s cepljenjem mogoče preprečiti (1).

Kljub temu se epidemije teh bolezni še vedno pojavljajo tudi v državah z dolgotrajnimi programi cepljenja. V zadnjem desetletju smo v Evropski uniji med drugim imeli obsežne epidemije ošpic (2) ter izbruhe rdečk (3), oslovskega kašlja (4) in hepatitisa A (5).

Izbruhi nalezljivih bolezni, ki jih je mogoče preprečiti s cepljenjem, se pojavljajo tudi v zdravstvenih ustanovah, kjer povzročajo precejšnjo obolevnost in smrtnost, povezani pa so tudi z visokimi stroški. Zdravstveni delavci (ZD) in sodelavci so zaradi narave svojega dela izpostavljeni tveganju za te okužbe, hkrati pa lahko postanejo vir prenosa okužb na dovzetne bolnike, ki so zaradi svojih osnovnih zdravstvenih stanj ali starosti še zlasti ogroženi in pri katerih lahko okužba povzroči resne zaplete ali celo smrt. Cepljenje ZD je zato utemeljeno in ga priporoča večina strokovnih združenj – tako z vidika neposredne zaščite ZD kot tudi posredne zaščite bolnikov (1, 6). Raziskava iz leta 2018, izvedena v 30 evropskih državah, je pokazala, da so nacionalne politike cepljenja zdravstvenega osebja načeloma vzpostavljene v vseh državah, vendar se med seboj pomembno razlikujejo glede števila priporočenih cepljenj in ciljnih skupin (1). Poleg tega obstajajo velike razlike v precepljenosti ZD med posameznimi državami in glede na posamezne povzročitelje bolezni (6).

V prispevku predstavljamo pregled priporočil in zakonodajnih podlag, ki urejajo cepljenje ZD v Sloveniji.

PRAVNI IN ORGANIZACIJSKI OKVIR V SLOVENIJI

Zakonodaja

Zakon o nalezljivih boleznih (ZNB) je krovni dokument, ki določa ukrepe za preprečevanje in obvladovanje nalezljivih bolezni ter omogoča uvedbo in izvajanje cepljenj (imunizacija in imunoprofilaksa) ter programov zaščite z zdravili (kemoprofilaksa) (7). Po 22. členu tega zakona med obvezna cepljenja uvrščamo cepljenje proti hemofilusu influence b, davici, tetanusu, oslovskemu kašlju, otroški paralizi, ošpicam, mumpsu, rdečkam in hepatitisu B; ter proti steklini, rumeni mrzlici, trebušnemu tifusu, klopnemu meningoencefalitisu, gripi, tuberkulozi in drugim nalezljivim boleznim, če za to obstajajo določeni epidemiološki razlogi in tako določa letni program cepljenja (7, 8).

Obveznosti delodajalca glede varnosti in zdravja pri delu

V skladu s 17. členom Zakona o varnosti in zdravju pri delu (ZVZD-1) mora delodajalec pisno oceniti tveganja, povezana z delom, vključno z identifikacijo nevarnosti

in delavcev, ki bi bili lahko izpostavljeni identificiranim nevarnostim, oceno tveganja ter uvedbo ukrepov za zmanjšanje tveganj. Delodajalec mora po izvedeni oceni tveganja za varnost in zdravje pri delu, ki jo opravi specialist medicine dela, športa in prometa, pripraviti izjavo o varnosti, ki vključuje ukrepe za zaščito zdravja delavcev, tudi glede posebnih zdravstvenih zahtev za določena dela (npr. cepljenje proti nalezljivim boleznim). Delodajalec mora delavcem zagotoviti informacije o tveganjih, jih usposobiti za varno delo ter jim zagotoviti ustrezno zaščitno opremo in ukrepe za zmanjšanje tveganja (9).

Poleg tega Pravilnik o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkim dejavnikom (implementacija Direktive 2000/54/ES) nalaga delodajalcu oceno tveganja (določiti je potrebno vrsto, stopnjo in trajanje izpostavljenosti) ter zagotavljanje ustreznega cepljenja, kadar tveganja ni mogoče odpraviti drugače. Cepljenje se izvaja v skladu z veljavnimi predpisi in praksami za preprečevanje nalezljivih bolezni, pri čemer mora delodajalec delavce obvestiti o pomenu cepljenja in tveganjih, ki izhajajo iz njegove opustitve. Stroške krije delodajalec, po cepljenju pa se izda potrdilo, ki je dostopno delavcu in – na zahtevo – pristojnemu organu (10). Leta 2024 je bila posodobljena Priloga III s seznamom bioloških dejavnikov (11).

Shema in organizacija cepljenja

Letni program cepljenja in zaščite z zdravili ter pogoje in način izvedbe letnega programa določi minister, pristojen za zdravje, na predlog Nacionalnega inštituta za javno zdravje (NIJZ). Letni program določi tudi izvajalce ter način nabave in razdeljevanja cepiv ter specifičnih imunoglobulinov (8).

Opustitev cepljenja

V skladu s členom 22.a ZNB med razloge za opustitev cepljenja uvrščamo alergijo na sestavine cepiva, resen neželen učinek cepiva po predhodnem odmerku istega cepiva in bolezen ali zdravstveno stanje, ki je nezdružljivo s cepljenjem. Obveznost ZD je spoštovanje ukrepov za preprečevanje in obvladovanje nalezljivih bolezni po ZNB, s čimer zagotavljajo varovanje zdravja bolnikov in sodelavcev (7).

OBVEZNA CEPLJENJA ZA ZDRAVSTVENE DELAVCE

Cepljenje proti hepatitisu B

ZNB ter letni Program cepljenja in zaščite z zdravili določata, da se cepljenje proti hepatitisu B (HBV) izvaja v skladu z oceno tveganja delovnih mest (7, 8). Predizpostavitveno cepljenje proti HBV je tako obvezno za zaposlene, ki so pri delu izpostavljeni okužbi s HBV oziroma lahko virus prenesejo na druge osebe. V praksi to pomeni, da se cepljenje izvaja pri ZD in sodelavcih, ki lahko pri delu pridejo v stik s krvjo, telesnimi tekočinami in/ali ostrimi predmeti, ki so onesnaženi s krvjo in/ali drugimi telesnimi tekočinami in izločki. Predizpostavitveno cepljenje proti HBV je obvezno (poleg drugih obveznikov) tudi za dijake in študente zdravstvenih ter sorodnih programov, ki so pri praktičnem pouku izpostavljeni okužbi, če ob vstopu v osnovno šolo še niso bili cepljeni. Praviloma se cepi s tremi odmerki cepiva po standardni shemi z ustreznim cepivom glede na starost (od 16. leta dalje s cepivom za odrasle). Zaščitni titer protiteles (anti-HBs) se preveri 1–2 meseca po zaključenem osnovnem cepljenju. Odzivnik na cepljenje je oseba, pri kateri je bila 1–2 meseca po končanem osnovnem cepljenju ugotovljena prisotnost protiteles proti HBV (anti-HBs) v koncentraciji ≥ 10 mIE/ml. Če

pri odzivniku ob potencialni izpostavitvi okužbi s HBV (incident) ugotovimo, da je koncentracija anti-HBs < 10 mIE/ml, mora prejeti poživitveni odmerek (12).

Neodzivnik na cepljenje je posameznik, pri katerem je bila 1–2 meseca po zaključnem osnovnem cepljenju ugotovljena raven protiteles anti-HBs < 10 mIE/ml. ZD, ki je neodzivnik, je treba testirati na prisotnost HBsAg in anti-HBc. Če sta oba testa negativna, je indicirano dajanje dodatne serije cepiva, ki vključuje tri odmerke po standardni shemi. Protitelesni odgovor je treba znova ovrednotiti 1–2 meseca po prejemu šestega odmerka. V primeru uspešnega cepljenja nadaljnje spremljanje ni potrebno, če pa je posameznik še vedno neodzivnik (pravi neodzivnik), ponavljanje cepljenja ni priporočljivo, razen pri ZD z zelo visokim tveganjem za okužbo, za katere se presoja glede dodatnih odmerkov opravi na individualni ravni. Neodzivniki, ki so HBsAg-negativni, ostajajo dovzetni za okužbo s HBV, zato jim je treba svetovati glede ustreznih zaščitnih ukrepov za preprečevanje okužbe in izbire ustreznega delovnega mesta. V primeru nenamerne izpostavljenosti krvi, pozitivni na HBsAg, je potrebna zaščita s humanim imunoglobulinom proti hepatitisu B (HBIG), ki naj ga nezaščiten ZD prejme čim prej po izpostavitvi, po možnosti v roku 24–72 ur. Za zaščito uporabljamo Hepatect CP v odmerku 50 IE/ml oziroma 10 IE/kg telesne teže intravensko. Če gre za neodzivnika po cepljenju, izpostavljeni ZD prejme dva odmerka HBIG v razmiku 4 tednov, v ostalih primerih (vsaj dva prejeta odmerka cepiva in anti-HBs < 10 mIE/ml ali zgolj en prejet odmerek cepiva proti HBV) zadošča en odmerek HBIG v kombinaciji s sočasnim cepljenjem proti HBV. Prvi odmerek cepiva se lahko aplicira isti dan kot HBIG, vendar na različnih mestih (npr. druga roka), da se prepreči medsebojni vpliv na učinkovitost. Pri pravih neodzivnikih, pri katerih se niti po drugi prejeti seriji cepiva ne razvije zaščitni titer protiteles (anti-HBs < 10 mIE/ml) in pri katerih obstaja stalna izpostavljenost tveganju za okužbo, je možna dolgotrajna pasivna zaščita z rednim dajanjem HBIG v odmerku 500 IE (10 ml) vsaka 2 meseca. Nosečnost ni kontraindikacija za prejem HBIG ali cepljenje (12–14). Poizpostavitveno cepljenje proti HBV je obvezno za vse, ki še niso bili cepljeni proti HBV ali so bili cepljeni nepopolno oziroma ni dokazov o izvedenem cepljenju, bili pa so izpostavljeni okužbi s HBV prek poškodovane kože ali sluznic brez ustrezne osebne varovalne opreme (12, 13).

Cepljenje proti ošpicam, mumpsu in rdečkam (OMR)

Tveganje za okužbo z virusi ošpic, mumpsa in rdečk (OMR) je pri ZD 13- do 19-krat večje kot v splošni populaciji, okuženi ZD pa so lahko pomemben vir bolnišničnega prenosa okužb (6). Zato morajo imeti dokaz imunosti (cepilni karton, dokaz o preboleli bolezni ali rojstvo pred letom 1960). Zdravnik specialist medicine dela mora pri zdravstvenem pregledu pred zaposlitvijo ZD – pa tudi pri obdobjih pregledih že zaposlenih – preveriti cepilni status posameznika. Če ni razpoložljivih podatkov o cepljenju z dvema odmerkoma cepiva proti ošpicam ali o preboleli bolezni, je dolžan ZD napotiti na cepljenje. Pri zdravstvenem pregledu za delovno mesto, za katero ocena tveganja zahteva zaščito pred okužbo z ošpicami, se šteje, da je delavec zdravstveno zmožen za opravljanje dela šele, ko je ta pogoj izpolnjen (15). Pri nezaščitenih ZD se cepljenje proti OMR opravi s številom odmerkov glede na predhodni cepilni status (proti ošpicam) oziroma z dvema (proti mumpsu) ali enim odmerkom (proti rdečkam) (16).

Nezaščiteni ZD, ki so bili izpostavljeni okužbi (dovzetni kontakti), ne smejo imeti stika z bolniki. Tisti ZD, ki morajo prejeti dva odmerka cepiva, morajo biti izključeni z dela od 5. do 21. dneva po izpostavitvi, ne glede na to, ali so bili po izpostavitvi ceplje-

ni proti ošpicam, medtem ko pri ZD, ki potrebujejo en odmerek cepiva, izključitev ni potrebna. ZD, ki prejemajo intravenske imunoglobuline (IVIG), morajo biti izključeni z dela v obdobju od 5. do 21. dneva po izpostavitvi ošpicam. Osebe, ki zbolijo za ošpicami, ne sme prihajati v stik z bolniki še 4 dni od pojava izpuščaja pri ZD. Nosečim ZD in ZD s huje okvarjeno imunostjo, ki so bili izpostavljeni ošpicam brez dokazov o cepljenju ali imunosti (preverimo titer protiteles), je mogoče zagotoviti zaščito z IVIG. Aplikirati jo je treba čim prej, optimalno v obdobju od 72 do 144 ur (3 do 6 dni) po izpostavitvi virusu ošpic. Za nezaščiten osebo, ki je prejela IVIG, je v prihodnje nujno treba zagotoviti zaščito s cepljenjem proti ošpicam (ob upoštevanju kontraindikacij za cepljenje z živimi cepivi), vendar je treba po prejemu IVIG s cepljenjem počakati najmanj 3 mesece (16).

PRIPOROČENA CEPLJENJA ZA ZDRAVSTVENE DELAVCE (SPLOŠNO)

Cepljenje proti sezonski gripi

Pred gripo se najučinkoviteje zaščitimo z vsakoletnim cepljenjem. Cepljenje je še zlasti priporočljivo za vse ZD in sodelavce ter druge nujne službe, ki so pri svojem delu izpostavljene nevarnosti okužbe ali okužbo lahko prenesejo na druge osebe. Uspešnost cepljenja je sicer lahko nekoliko nižja pri starejših, kroničnih bolnikih in imunsko oslabeledih. Cepljenje je v Sloveniji organizirano vsako jesen, v sezoni 2025/26 je brezplačno za osebe z urejenim obveznim zdravstvenim zavarovanjem.

Cepljenje je zlasti priporočljivo tudi za dijake in študente zdravstvenih izobraževalnih programov, ki opravljajo vaje v zdravstvenih ustanovah v sezoni gripe, priporočljivo pa je tudi za vse druge učence, dijake, študente in mlade odrasle do dopolnjenega 26. leta starosti.

Kontraindikacije za cepljenje proti gripi vključujejo dokazano hujšo alergijsko reakcijo (anafilaksija) na sestavine cepiva proti gripi ali resen neželen učinek po predhodnem odmerku cepiva proti gripi. Če je bila pri ZD dokazana hujša alergijska reakcija (anafilaksija) na jajca, se cepljenje proti gripi opravi pod nadzorom zdravnika (ambulantno). Pri zmerni ali resni akutni bolezni (s povišano telesno temperaturo ali brez nje) se cepljenje začasno odloži, medtem ko blaga bolezen (npr. prehlad) ni ovira za cepljenje (17).

Cepljenje proti covidu-19

V skladu s priporočilom za cepljenje proti covidu-19, objavljenim septembra 2025, se cepljenje priporoča za oskrbovance domov starejših občanov (DSO), zlasti za ranljive kronične bolnike in osebe, stare 65 let ali več. Osebe, stare 5 let ali več, prejmejo 1 odmerek posodobljenega cepiva, pri čemer je priporočen razmik od predhodnega cepljenja ≥ 6 mesecev (v skladu z navodili proizvajalca minimalno 3 meseci), za tiste, ki so covid-19 preboleli, pa naj se cepljenje opravi ≥ 3 mesece po preboleli bolezni. Huje imunsko oslabelede osebe lahko prejmejo dodatni odmerek po 6 mesecih. Cepljenje proti gripi in proti covidu-19 se lahko opravi sočasno ali s kakršnimkoli razmikom. ZD niso posebej izpostavljeni kot kritična skupina, se pa lahko cepijo, če to želijo (18).

Cepljenje proti davici, tetanusu in oslovskemu kašlju (Tdap/Td)

Cepljenje proti davici se opravi pri zaposlenih, ki službeno potujejo na endemična območja, in pri zaposlenih, ki so pri delu lahko izpostavljeni bacilu davice. Cepljenje

se opravi s številom odmerkov glede na predhodni cepilni status. Poživitveno cepljenje se opravlja z enim odmerkom cepiva vsakih deset let, dokler obstaja nevarnost okužbe. Tudi poživitveno cepljenje proti oslovskemu kašlju je potrebno vsakih deset let pri ZD, ki delajo z najbolj ogroženimi skupinami. Cepljenje se opravi s kombiniranim cepivom proti davici in tetanusu (Td) ali s kombiniranim cepivom proti davici, tetanusu in oslovskemu kašlju (Tdap) (16).

Cepljenje proti noricam

Cepljenje proti noricam se izvaja pri zaposlenih, ki bolezní še niso preboleli in so pri opravljanju dela izpostavljeni tveganju za okužbo. Še zlasti pomembno je za zaposlene v zdravstvu, ki lahko pri svojem delu okužbo prenesejo na druge osebe, zlasti na bolnike z oslabiljeno imunostjo. Cepljenje se opravi z dvema odmerkoma cepiva v razmiku najmanj 4 tednov (priporočeno 6 tednov ali več). Alternativno se lahko predhodno določi raven protiteles, pri čemer se cepijo le osebe brez zaščitnega titra (16).

Osebe brez dokazov o imunosti ob izpostavitvi virusu varicella-zoster (VZV – bodisi noricam ali herpes zosteru) prejmejo dva odmerka enovalentnega živega cepiva proti noricam. Cepivo je treba aplicirati čim prej, idealno v roku od 3 do 5 dni po izpostavitvi, saj tako preprečimo razvoj noric ali vsaj omilimo potek bolezni. Tudi če je od izpostavitve minilo več kot 5 dni, je cepljenje še vedno priporočljivo, saj zagotavlja zaščito pred VZV ob morebitni ponovni izpostavljenosti, če pri prejšnjem stiku ne bi prišlo do okužbe. Tudi osebe, ki so že prejele prvi odmerek cepiva, naj prejmejo drugi odmerek v roku od 3 do 5 dni po izpostavitvi. Pri nosečnicah in bolnikih z imunsko pomanjkljivostjo je cepljenje z živim cepivom proti noricam kontraindicirano. Zaradi višjega tveganja za hujši potek bolezni z zapleti je te osebe smiselno čim prej (znotraj 96 ur) zaščititi s humanimi imunoglobulini proti VZV (VZIG). Glede na poročila o blažjem poteku bolezni tudi v primeru zapoznele aplikacije VZIG (po več kot 4 dneh) ameriški Center za nadzor nad nalezljivimi boleznimi (angl. *U.S. Centers for Disease Control and Prevention, CDC*) dopušča možnost uporabe VZIG še do 10 dni od izpostavitve (19).

Nezaščiteni ZD, ki so bili izpostavljeni okužbi (dovzetni kontakti), ne smejo imeti stika z bolniki. Tisti ZD, ki morajo prejeti dva odmerka cepiva, morajo biti izključeni z dela od 8. dne po prvem stiku do 21. dne po zadnjem stiku. Izključitev z dela ni potrebna za ZD, ki so pred izpostavitvijo prejeli en odmerek cepiva proti noricam, če prejmejo drugi odmerek v 5 dneh po izpostavitvi. V tem primeru mora izpostavljeni ZD vsakodnevno spremljati morebitne znake in simptome noric, in sicer od 8. dne po prvem stiku do 21. dne po zadnjem stiku. ZD, ki v sklopu poizpostavitvene zaščite prejmejo VZIG, morajo biti izključeni z dela v obdobju od 8. do 28. dneva po izpostavitvi VZV. Osebe, ki zbolijo za noricami ali diseminiranim herpes zosterom, ne sme prihajati v stik z bolniki, dokler se vse lezije ne posušijo oziroma se iz vseh mehurčkov razvijejo kraste (19, 20).

Cepljenje proti pnevmokoknim okužbam

Cepljenje proti pnevmokoknim okužbam je priporočljivo za ZD z osebniimi indikacijami (≥ 65 let, kronične bolezni, osebe z okrnjeno imunostjo, anatomsko ali funkcionalno asplenijsko, likvorsko fistulo ali polževim vsadkom) in po presoji tveganja. Cepljenje s opravi z enim odmerkom konjugiranega cepiva PCV20 (21). Z enim odmerkom PCV20 se cepijo tudi starejši.

ZD (65 let in več) in ZD s kroničnimi boleznimi, ki so bili predhodno cepljeni s PCV13 in/ali PPV23. V teh primerih se cepljenje s PCV20 opravi najmanj 1 leto po zadnjem odmerku (21).

Dodatna cepljenja po oceni tveganja delovnega mesta

- **Hepatitis A.** Cepljenje se opravi pri zaposlenih, ki pri svojem delu lahko pridejo v stik s človeškimi iztrebki in komunalnimi odpadki (npr. komunalni delavci), in pri zaposlenih, ki bi lahko bili pri delu v laboratoriju izpostavljeni okužbi z virusom hepatitisa A. Priporočilo velja tudi za zaposlene, ki službeno potujejo ali delajo na območjih, kjer obstaja tveganje za okužbo (16).
- **Tifus.** Cepljenje se opravi pri zaposlenih, ki pri svojem delu lahko pridejo v stik s človeškimi iztrebki in komunalnimi odpadki (npr. komunalni delavci). Priporočilo velja tudi za zaposlene, ki službeno potujejo in delajo na območjih, kjer obstaja tveganje za okužbo. Osnovno cepljenje se opravi z enim odmerkom cepiva, medtem ko se obnovitveno cepljenje opravi z enim odmerkom cepiva na 3 leta, dokler obstaja nevarnost okužbe (16).
- **Steklina.** Cepljenje se opravi pri zaposlenih, ki bi pri svojem delu lahko bili izpostavljeni ugrizu živali (npr. lovci, gozdni delavci, veterinarji, vojaki itd.), in pri zaposlenih, ki bi pri delu v laboratoriju ali pri prepariranju mrtvih živali lahko bili izpostavljeni virusu stekline. V primeru izpostavitve virusu stekline predhodno necepljeni poškodovani prejme pet odmerkov cepiva proti steklini (na dneve 0, 3, 7, 14 in 28) ter hkrati s prvim odmerkom tudi zaščito s specifičnimi imunoglobulini, in sicer dajemo 20 IE humanega imunoglobulina proti steklini na kilogram telesne teže. Če je bila oseba pred izpostavitvijo cepljena proti steklini, prejme zgolj dva odmerka cepiva (na dneve 0 in 3), zaščita s humanim imunoglobulinom proti steklini v tem primeru ni potrebna. Indikacijo za zaščito postavi zdravnik specialist na območni enoti NIJZ v skladu z nacionalnimi smernicami (16, 22).
- **Klopni meningoencefalitis (KME).** Cepljenje se opravi pri zaposlenih, ki bi pri svojem delu lahko bili izpostavljeni vbodom klopotov (npr. lovci, terenski delavci, vrtnarji, vojaki ...), in pri zaposlenih, ki bi lahko bili pri delu v laboratoriju izpostavljeni virusu KME (16).
- **Cepljenje proti meningokoku (MenACWY ± MenB)** se priporoča za ZD, ki prihajajo v stik s pacienti z invazivno meningokokno okužbo, ter laboratorijske delavce, ki obdelujejo kužnine teh pacientov. Cepiti bi se morali tudi zaposleni, ki službeno potujejo v endemične kraje (npr. vojaki in poslovneži). Cepljenje se opravi z enim oziroma dvema odmerkoma glede na vrsto cepiva. Priporoča se konjugirano štirivalentno cepivo (MenACWY) s poživitvenim odmerkom po 5 letih in po presoji dodatno cepljenje proti serogrupi B (MenB) (16).
- **Antraks.** Cepiva za zaščito zaposlenih v diagnostičnih laboratorijih, ki delajo z bacilom antraksa, v Sloveniji ni na voljo (23).
- **Otroška paraliza.** Cepljenje je indicirano za zaposlene, ki službeno potujejo na območja, kjer obstaja nevarnost okužbe z virusom otroške paralize, in za zaposlene, ki bi lahko bili temu virusu izpostavljeni na delovnem mestu. Število odmerkov je odvisno od predhodnega cepilnega statusa, poživitveno cepljenje se opravi z enim odmerkom cepiva (16).
- **Rumena mrzlica.** Cepljenje se opravi pri zaposlenih, ki pri svojem delu potujejo na območja, kjer je prisotna bolezen, in pri zaposlenih, ki službeno

potujejo v državo, ki zahteva cepljenje proti rumeni mrzlici. Cepimo z enim odmerkom živega cepiva proti rumeni mrzlici (16).

- **Tuberkuloza.** Sistematični pregled literature je pokazal veliko raznolikost v priporočilih glede cepljenja ZD s cepivom Bacillus Calmette-Guérin (BCG). Med evropskimi nacionalnimi agencijami jih pet priporoča cepljenje ZD za tiste, ki so zaposleni v visoko tveganih sektorjih, pri čemer poudarjajo pomanjkanje dokazov o učinkovitosti cepiva BCG pri ZD (24). Britanske smerice priporočajo cepljenje z BCG pri ZD, ki delajo z bolniki na pediatričnih oddelkih in v porodnišnicah ter z bolniki z imunsko oslabelostjo (25). V petih državah se priporoča cepljenje z BCG za vse prej necepljene, Mantoux-negativne ZD na podlagi nekaterih študij, ki kažejo določeno stopnjo učinkovitosti BCG pri tej skupini (24). Po priporočilih CDC je o cepljenju ZD z BCG smiselno razmisliti individualno v okoljih, kjer je velik delež bolnikov, okuženih s sevi, ki so odporni proti izoniazidu in rifampicinu, če prihaja do stalnega prenosa odpornih sevov tuberkuloze na ZD in je posledično verjetnost okužbe visoka oziroma če so bili uvedeni celoviti preventivni ter kontrolni ukrepi, ki niso bili uspešni (26). Slovenija spada med države, ki cepljenja s cepivom BCG za ZD ne priporočajo.

PRIPOROČILA GLEDE CEPLJENJA PO DELOVIŠČIH

Zdravstveni delavci v kliniki/bolnišnici

Standardni nabor obveznih in priporočenih cepljenj za ZD, ki so neposredno in posredno vključeni v obravnavo bolnikov, je prikazan v Preglednicah 1 in 2.

Preglednica 1. Priporočila za cepljenje zdravstvenih delavcev (ZD), ki so neposredno vključeni v oskrbo bolnikov.*

Cepivo	Shema	Poudarki
OMR	Dokumentiran dokaz imunosti ali 2 odmerka cepiva	Obvezno
Hepatitis B	0–1–6 mesecev (alternativno pospešena shema). Kontrola anti-HBs 1–2 meseca po zaključku cepljenja. Dodatna serija in/ali druga shema po algoritmih za neodzivnike.	Obvezno
Gripa	1 odmerek	Priporočeno vsako sezono
Covid-19	1 posodobljen odmerek vsaj 6 mesecev od predhodnega odmerka (minimalno 3 mesece) oziroma vsaj 3 mesece po prebolelem covidu-19	Priporočeno
VZV	Dokumentiran dokaz imunosti ali 2 odmerka	Priporočeno
Tdap/Td	1 odmerek vsakih 10 let	Priporočeno za ZD, ki delajo z najbolj ogroženimi skupinami

OMR = ošpice, mumps, rdečke, VZV = varičela-zoster virus.

* Zajema osebe, ki ima redne klinične stike z bolniki in je neposredno vključeno v njihovo oskrbo. Sem sodijo zdravniki, zobozdravniki, babice in medicinske sestre, negovalci, reševalci in vozniki reševalnih vozil, delovni terapevti, fizioterapevti in radiologi. Vključeni morajo biti tudi študenti in pripravniki s teh področij ter prostovoljci, ki delajo z bolniki.

Preglednica 2. Priporočila za cepljenje zdravstvenih delavcev (ZD), ki niso neposredno vključeni v oskrbo bolnikov.*

Cepivo	Shema	Poudarki
OMR	Dokumentiran dokaz imunosti ali 2 odmerka cepiva	Obvezno
Hepatitis B	0–1–6 mesecev (alternativno pospešena shema). Kontrola anti-HBs 1–2 meseca po zaključku cepljenja. Dodatna serija in/ali druga shema po algoritmih za neodzivnike.	Obvezno
VZV	Dokumentiran dokaz imunosti ali 2 odmerka	Priporočeno

OMR = ošpice, mumps, rdečke, VZV = varičela-zoster virus.

* Zajema neklinično podporno osebje, ki ima lahko socialni stik z bolniki, vendar ni neposredno vključeno v njihovo oskrbo. Sem sodijo receptorji, administrativno osebje na oddelkih in čistilci.

Zdravstveni delavci v mikrobiološkem laboratoriju

Cepljenja in zaščita za ZD v mikrobiološkem laboratoriju načeloma sledijo oceni tveganja glede na vrste bioloških dejavnikov, s katerimi laboratorij dela, kar izrecno zahteva Pravilnik o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkim dejavnikom pri delu. Obveznost delodajalca je zagotoviti cepljenje, kadar tveganja ni mogoče drugače zmanjšati (10).

Standardni nabor obveznih in priporočenih cepljenj za ZD v mikrobioloških laboratorijih je prikazan v Preglednici 3. Dodatno je glede na vrsto laboratorijskega dela (delo s specifičnimi kužninami in/ali patogeni) in oceno tveganja potrebno razmisliti o cepljenju proti nalezljivim boleznim, opisanim v poglavju Dodatna cepljenja po oceni tveganja delovnega mesta (10, 16).

Preglednica 3. Priporočila za cepljenje mikrobiološkega laboratorijskega osebja.*

Cepivo	Shema	Poudarki
OMR	Dokumentiran dokaz imunosti ali 2 odmerka cepiva	Obvezno
Hepatitis B	0–1–6 mesecev (alternativno pospešena shema). Kontrola anti-HBs 1–2 meseca po zaključku cepljenja. Dodatna serija in/ali druga shema po algoritmih za neodzivnike.	Obvezno
Gripa	1 odmerek	Priporočeno vsako sezono
Covid-19	1 posodobljen odmerek vsaj 6 mesecev od predhodnega odmerka (minimalno 3 mesece) oziroma vsaj 3 mesece po prebolelem covidu-19	Priporočeno
VZV	Dokumentiran dokaz imunosti ali 2 odmerka	Priporočeno
Hepatitis A	Dokumentiran dokaz imunosti ali 2 odmerka	Priporočeno za zaposlene v črvesnem mikrobiološkem laboratoriju
Meningokok	2 odmerka cepiva (razmik 1 mesec): cepivo proti meningokokom skupine B 1 odmerek cepiva: 4-valentno cepivo proti meningokokom skupine A, C, W135 in Y	Priporočeno za zaposlene v mikrobiološkem laboratoriju, ki obdelujejo likvor
Tdap/Td	1 odmerek vsakih 10 let	Priporočeno

OMR = ošpice, mumps, rdečke, VZV = varičela-zoster virus.

* Zajema laboratorijsko in drugo osebje, ki redno ravna s patogeni ali potencialno okuženimi vzorci. Poleg tehničnega osebja sem sodijo tudi čistilci, tajnice in receptorji v laboratorijih. Vključeno mora biti tudi osebje, ki dela v akademskih ali komercialnih raziskovalnih laboratorijih in ravna s kliničnimi vzorci ali patogeni.

Študenti v zdravstvu

Kandidati, ki se vpisujejo v programe srednjih ali visokošolskih zavodov ter fakultet s področij zdravstva, vzgoje in izobraževanja ter socialnega varstva, morajo imeti ob vpisu opravljeno cepljenje v skladu s programom cepljenja iz 25. člena ZNB. Če kandidat tega pogoja ne izpolnjuje, se njegov vpis zavrne, razen v primeru, ko je z odločbo o opustitvi cepljenja ugotovljeno, da za opustitev cepljenja obstajajo utemeljeni medicinski razlogi. Za pravne osebe, ki ravnaajo v nasprotju s tem členom, je predvidena globa (7).

RAZPRAVA

Cepljenje ZD je temeljni ukrep za zaščito zaposlenih in ranljivih pacientov pred prenosom nalezljivih bolezni v zdravstvu. Zaradi ključne vloge, ki jo imajo ZD pri zagotavljanju zdravstvene oskrbe in promociji zdravja, prinaša visoka precepljenost ZD številne koristi tako na ravni posameznika kot tudi na ravni ustanove in družbe. Vpliv cepljenja je tako večplasten – zagotavlja se večja varnost ZD, saj so zaščiteni pred poklicno izpostavljenostjo boleznim, ki jih je s cepljenjem mogoče preprečiti. Posledično se zmanjša tveganje za okužbo samih ZD, njihovih družin in širše skupnosti. Poleg tega cepljenje ZD pripomore k večji odpornosti zdravstvenega sistema, saj ščiti ključno delovno silo in zmanjšuje odsotnost z dela zaradi nalezljivih bolezni, kar je še zlasti pomembno med sezono gripe in ob pojavu epidemij. Cepljenje ZD pripomore tudi k preprečevanju bolnišničnih okužb in nadzoru nad njimi ter bistveno izboljša varnost najbolj ranljivih bolnikov. Navsezadnje pa spodbuja pozitivno zdravstveno vedenje – cepljeni ZD pogosteje priporočajo cepljenje svojim bolnikom in njihovim skrbnikom ter s svojim zgledom skrbijo za promocijo cepljenja v širši skupnosti (27).

Kljub napredku v poznavanju globalnega položaja nacionalnih politik cepljenja ZD so podatki o dejanski precepljenosti za večino cepiv še vedno omejeni, prav tako je malo znanega o načinih izvajanja teh programov v posameznih državah (27). V mednarodnem kontekstu se politike cepljenja ZD precej razlikujejo – od števila cepiv in tarčnih skupin v zdravstvu do načina implementacije (priporočena ali obvezna cepljenja). Pregled cepilnih politik za ZD v Evropi iz leta 2018 je pokazal, da sta vanje najpogosteje vključeni cepljenji proti HBV in sezonski gripi (v 35 državah). Sledijo cepljenja proti ošpicam (28 držav), rdečkam (25 držav), mumpsu (24 držav), noricam (19 držav), tetanusu (21 držav), davici (20 držav), oslovskemu kašlju (19 držav) in poliomielitisu (18 držav). Ostale nalezljive bolezni, ki jih je mogoče preprečiti s cepljenjem (hepatitis A, meningokokne in pnevmokokne okužbe), so v priporočila vključene redkeje. Obvezno cepljenje ZD je navedlo 13 držav, v 10 državah pa je dokazilo o cepljenju pogoj za zaposlitev. Najpogosteje obvezno cepljenje velja za HBV (10 držav), v posameznih državah so obvezna tudi cepljenja proti gripi, OMR, davici, tetanusu, oslovskemu kašlju, poliomielitisu, hepatitisu A, invazivnim meningokoknim okužbam in tuberkulozi. V več državah obvezna cepljenja veljajo zgolj za točno določene skupine ZD (1).

Izsledki raziskave iz leta 2018 o stališčih in odnosu javnosti do cepljenja v Sloveniji kažejo, da skoraj vsi slovenski zdravniki zaupajo cepljenju in cepivom, glede cepljenja pa najbolj zaupajo informacijam slovenskih strokovnjakov s tega področja. Velika večina (93 %) tudi podpira sedanjo ureditev obveznega cepljenja proti določenim nalezljivim boleznim. Žal pa je ista raziskava pokazala, da znanje študentov medicine o cepljenju ni zadovoljivo, saj cepljenju in cepivom ne pripisujejo tolikšne

pomembnosti, kot bi se za stroko pričakovalo. Zato bo v prihodnje smiselno, da se med študijem medicine cepljenju nameni več pozornosti (28).

Podatki za Slovenijo kažejo, da precepljenost med ZD ni zadovoljiva, pri čemer je še zlasti problematično pomanjkanje podatkov o precepljenosti ZD na nacionalni ravni kot tudi na ravni posameznih ustanov. Analiza precepljenosti ZD proti gripi v Sloveniji med letoma 2009 in 2019 je pokazala nizko precepljenost slovenskih ZD, ki ne dosega priporočil SZO ter Evropskega centra za preprečevanje in nadzor bolezni (angl. *European Centre for Disease Prevention and Control*, ECDC), ki za cilj določata 75-odstotno precepljenost. Povprečna precepljenost v obdobju med letoma 2009 in 2019 je znašala zgolj 12,9 %, pri čemer je bila najvišja stopnja zaznana v sezoni 2009/10 (21 %), najnižja pa v sezoni 2015/16 (7 %). Podobno nizke stopnje precepljenosti so sicer značilne tudi za ZD v drugih evropskih državah (29). Druga raziskava je pokazala, da se proti gripi redno cepi 52 % zdravnikov, dodatnih 24 % pa občasno (28), medtem ko so zadnji podatki nekoliko bolj obetavni, saj se je število cepljenih ZD proti gripi malce zvišalo, in sicer s 5518 v sezoni 2023/2024 na 6333 v sezoni 2024/2025 (30). Za ostale nalezljive bolezni, ki jih preprečujemo s cepljenjem ZD (npr. hepatitis A, KME, meningokokne okužbe, tifus), nimamo razpoložljivih podatkov.

Trenutna ureditev v Sloveniji sicer zagotavlja solidno pravno in organizacijsko podlago za visoko precepljenost ključnih skupin, vendar se v praksi pojavljajo številni izzivi. Med njimi so pomanjkanje enotnih registrov precepljenosti, neenak dostop do brezplačnega cepljenja na delovnem mestu ter dejstvo, da izjave o varnosti z oceno tveganja ne zajemajo vseh potrebnih cepljenj. Poleg tega v zdravstvenih organizacijah niso vzpostavljene ustrezne evidence o cepljenju zaposlenih. Če zaposleni niso cepljeni, delodajalci praviloma ne ukrepajo, čeprav so odgovorni za zagotavljanje varnega delovnega okolja in preprečevanje tveganja, da bi necepljeni delavci zboleli ali prenesli nalezljive bolezni na druge osebe (31).

Implementacija cepljenja ZD v zdravstvenih ustanovah zato mora biti del sistema vodenja kakovosti in varnosti ter mora biti jasno opredeljena v politiki cepljenja ustanove, ki naj bo dostopna vsem zaposlenim. Ob zaposlitvi je potrebno opraviti popis cepilnega statusa zaposlenih glede ključnih nalezljivih bolezni, kot so HBV, OMR, VZV, davica, oslovski kašelj, gripa in covid-19. Na podlagi tega se pripravi individualni načrt imunizacije za vsakega zaposlenega.

Ocena tveganja mora biti dokumentirana in aktualna, pri čemer se mora seznam obveznih in priporočenih cepljenj pregledati vsaj enkrat letno oziroma ob spremembi dejavnosti (npr. uvedba novih preiskav za dokazovanje novih mikroorganizmov, projektov). Pri obravnavi novih mikroorganizmov se preveri Priloga III (seznam bioloških dejavnikov, posodobitev 2024) in ustreznost varnostnih ukrepov, vključno s cepljenji zaposlenih (11). Dolžnost delodajalca je, da vodi evidenco imunizacije zaposlenih in usklajuje termine ter ravna po letnem programu in navodilih NIJZ. Delodajalec mora v skladu s Pravilnikom o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkemu dejavniku pri delu ter ob upoštevanju ocene tveganja zagotoviti izvedbo cepljenja za zaposlene (10).

Za primer incidenta pri ZD (nenamerna poškodba z ostrim predmetom, izpostavljenost sluznic oči, nosu ali ust krvi oziroma aerosolu, ki nastane ob razpršitvi krvi, razlitje krvi ali telesnih tekočin s primesjo krvi po poškodovani koži ali po večjih površinah normalne kože in/ali sluznice) mora biti v vsaki zdravstveni ustanovi nujno

vzpostavljen sistem obvladovanja poklicnih okužb, ki je na voljo 24 ur na dan. Takoj je treba izvesti ustrezno prvo pomoč, poročati o incidentu odgovorni osebi, ovrednotiti incident, poskrbeti za ustrezno zaščito po izpostavljenosti (cepljenje oziroma kemoprofilaksa) ter zagotoviti svetovanje ter klinično in laboratorijsko spremljanje izpostavljenega ZD. Poizpostavitveni protokoli v primeru incidenta morajo biti pripravljene vnaprej (10–13).

Zdravstvene ustanove naj letno vabijo zaposlene k cepljenju proti gripi in covidu-19, ob tem pa naj zagotovijo tudi občasna dopolnilna (»catch-up«) cepljenja proti davici in oslovskemu kašlju, OMR in VZV, kjer je to potrebno. Evidenca izvedenih cepljenj mora biti usklajena z navodili NIJZ ter letnim programom cepljenja.

Za učinkovito izvajanje imunizacije sta potrebna tudi stalna komunikacija in izobraževanje zaposlenih, zlasti v smislu vsakoletne promocije cepljenja pred začetkom sezone gripe. NIJZ redno objavlja strokovna gradiva, ki podpirajo informiranost in ozaveščenost ZD (16, 26).

ZAKLJUČEK

Zagotavljanje obveznega cepljenja proti HBV in OMR za ZD ter dosledno izvajanje priporočenih cepljenj (proti gripi, covidu-19, oslovskemu kašlju, davici, OMR in VZV ter po oceni tveganja tudi drugih) ostaja temelj varne zdravstvene oskrbe in laboratorijske prakse v Sloveniji. Operativna izvedba cepljenj naj sledi aktualnim priporočilom NIJZ ter oceni tveganja v skladu s Pravilnikom o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkimi dejavniki pri delu. Dodatno je pomembno zagotoviti redna obnovitvena usposabljanja o cepljenju za ZD ter dostopnost cepiv za vse zaposlene v zdravstvu, saj to pomembno prispeva k višji precepljenosti in varnosti tako zaposlenih kot tudi bolnikov.

LITERATURA

1. Maltezosu HC, Botelho-Nevers E, Brantsæter AB, et al. Vaccination of healthcare personnel in Europe: Update to current policies. *Vaccine*. 2019;37(52):7576–7584.
2. World Health Organization. European Region reports highest number of measles cases in more than 25 years – UNICEF, WHO/Europe, 2025 [citirano 2025 Okt 10]. Dosegljivo na: <https://www.who.int/europe/news/item/13-03-2025-european-region-reports-highest-number-of-measles-cases-in-more-than-25-years--unicef-who-europe>.
3. World Health Organization. Measles and rubella monthly update, 2023 [citirano 2025 Okt 10]. Dosegljivo na: https://cdn.who.int/media/docs/librariesprovider2/euro-health-topics/vaccines-and-immunization/eur_mr_monthly_update_en_february-2023.pdf?sfvrsn=eb6cd1a8_2&download=true.
4. Khalil A, Samara A, Campbell H, Ladhani SN, Amirthalingam G. Recent increase in infant pertussis cases in Europe and the critical importance of antenatal immunizations: We must do better... now. *Int J Infect Dis*. 2024;146:107148.
5. Ndumbi P, Freidl GS, Williams CJ, et al. Hepatitis A outbreak disproportionately affecting men who have sex with men (MSM) in the European Union and European Economic Area, June 2016 to May 2017. *Euro Surveill*. 2018;23(33):1700641.
6. Haviari S, Bénet T, Saadatian-Elahi M, et al. Vaccination of healthcare workers: A review. *Hum Vaccin Immunother*. 2015;11(11):2522–37.
7. Uradni list RS. Zakon o nalezljivih boleznih. [Citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: <https://pisrs.si/pregledPredpisa?id=ZAKO433>.
8. Uradni list RS. Pravilnik o določitvi Programa cepljenja in zaščite z zdravili za leto 2025. [Citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: <https://www.uradni-list.si/glasilo-uradni-list-rs/vsebina/2025-01-0424/pravilnik-o-dolocitvi-programa-cepljenja-in-zascite-z-zdravili-za-leto-2025>.
9. Uradni list RS. Zakon o varnosti in zdravju pri delu (ZVZD-1). [Citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: <https://pisrs.si/pregledPredpisa?id=ZAKO5537>.

10. Uradni list RS. Pravilnik o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkim dejavnikom pri delu. [Citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: <https://pisrs.si/pregledPredpisa?id=PRAV14157>.
11. Uradni list RS. Priloga 3 – Razvrstitev bioloških dejavnikov. [Citirano 2025 Okt 7]. Dosegljivo na: <https://pisrs.si/api/datoteke/integracije/358939227>.
12. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Priporočila za cepljenje oseb, ki so pri opravljanju dela izpostavljene možnosti okužbe z virusom hepatitisa B (2019). [Citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: https://nijz.si/wp-content/uploads/2019/05/cepljenje_zd_prot_i_hbv_2019-1.pdf.
13. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Cepljenje proti hepatitisu B – obravnava »neodzivnikov«. [Citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: https://zpz.si/wp-content/uploads/2018/08/Hepatitis-B-neodzivniki-2018_3a-koncna.pdf.
14. Centers for Disease Control and Prevention. Table 1: Treatment for HBV Exposures in Health Care Settings. [Citirano 2025 Okt 20]. Dosegljivo na: <https://www.cdc.gov/hepatitis-b/hcp/infection-control/table-1.html>.
15. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Ošpice, 2008. [Citirano 2025 Okt 15]. Dosegljivo na: https://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/ospice_algoritem.pdf.
16. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Navodila za izvajanje Programa cepljenja in zaščite z zdravili za leto 2025. [Citirano 2025 Okt 20]. Dosegljivo na: https://nijz.si/wp-content/uploads/2025/03/Navodila-za-izvajanje-IP-2025-fin-maj_5.pdf.
17. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Cepljenje proti gripi v sezoni 2025/26. 18. [Citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: https://nijz.si/wp-content/uploads/2025/09/Priporocila_navodila-za-cepljenje-proti-gripi-2025_26.pdf.
18. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Priporočila za cepljenje proti covid-19 (2025). [Citirano 2025 Okt 6]. Dosegljivo na: <https://nijz.si/wp-content/uploads/2025/09/Priporocila-za-cepljenje-proti-covid-19-sept-26-2025.pdf>.
19. Centers for Disease Control and Prevention. Varicella-Zoster Virus. [Citirano 2025 Okt 21]. Dosegljivo na: <https://www.cdc.gov/infection-control/hcp/healthcare-personnel-epidemiology-control/varicella.html>.
20. Marin M, Güris D, Chaves SS, et al. Prevention of varicella: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep.* 2007;56(RR-4):1–40.
21. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Pnevmonokne okužbe in cepljenje – vprašanja in odgovori. [Citirano 2025 Okt 21]. Dosegljivo na: <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/cepljenje/pnevmonokne-okuzbe-in-cepljenje-vprasanja-in-odgovori/>.
22. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Cepiva – steklina. [Citirano 2025 Okt 23]. Dosegljivo na: https://nijz.si/wp-content/uploads/2022/11/2016_steklina.pdf.
23. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Antraks – vranični prisad. [Citirano 2025 Okt 18]. Dosegljivo na: <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/nalezljive-bolezni-od-a-do-z/antraks-vranicni-prisad/>.
24. Bo M, Zotti CM. European policies on tuberculosis prevention in healthcare workers: Which role for BCG? *A systematic review. Hum Vaccin Immunother.* 2016;12(11):2753-2764.
25. HM Treasury. The Green Book: appraisal and evaluation in central government, Chapter 12: Immunisation of healthcare and laboratory staff. [Citirano 2025 Okt 11]. Dosegljivo na: <https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a7abc09e5274a319e77a5b9/Green-Book-Chapter-12.pdf>.
26. Centers for Disease Control and Prevention. Bacille Calmette-Guérin (BCG) Vaccine for Tuberculosis. [Citirano 2025 Okt 20]. Dosegljivo na: <https://www.cdc.gov/tb/hcp/vaccines/index.html>.
27. World Health Organisation. Implementation guide for vaccination of health workers. [Citirano 2025 Okt 21]. Dosegljivo na: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/740c5ee7-d437-4f27-b5f0-7e07fe599232/content>.
28. Cepljenje: stališča in odnos ključnih javnosti do cepljenja v Sloveniji. Urednica: Alenka Kraigher. Ljubljana: Nacionalni inštitut za javno zdravje; 2018. ISBN 978-961-7002-52-2.
29. Bosilj M. Analiza precepljenosti zdravstvenih delavcev proti gripi v Sloveniji med leti 2009 in 2019. Magistrsko delo. Maribor, 2020 [citirano 2025 Okt 22]. Dosegljivo na: <https://dk.um.si/IzpisGradiva.php?lang=slv&id=76454>.
30. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Preliminarno poročilo o cepljenju proti gripi v sezoni 2024/2025. [Citirano 2025 Okt 23]. Dosegljivo na: <https://nijz.si/wp-content/uploads/2025/06/Porocilo-o-cepljenju-proti-gripi-2024-25.pdf>.
31. Ranfl M, Kraigher A, Grgič Vitek M, et al. Cepljenje zdravstvenih delavcev: politike in prakse. *eNBOZ*;2015:7.