

Izolirane bakterijske vrste iz vode koja se koristi za potrebe hemodijalize

Mihaljević, Mateja

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:908038>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Mateja Mihaljević

IZOLIRANE BAKTERIJSKE VRSTE IZ VODE KOJA SE KORISTI ZA
POTREBE HEMODIJALIZE

Diplomski rad

Rijeka, 2022.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Mateja Mihaljević

IZOLIRANE BAKTERIJSKE VRSTE IZ VODE KOJA SE KORISTI ZA POTREBE
HEMODIJALIZE

Diplomski rad

Rijeka, 2022.

Mentor rada: Doc.dr.sc. Arijana Cenov, dipl.sanit.ing

Diplomski rad obranjen je dana u/na

pred Povjerenstvom u sastavu:

1.

2.

3.

Rad sadrži 58 stranica, 25 slika, 5 tablica, 30 literaturnih navoda.

Zahvala

Zahvaljujem svojoj mentorici, doc. dr. sc. Arijani Cenov na iskazanom povjerenju, na pomoći, vodstvu i strpljenju pri pisanju ovog diplomskog rada.

Veliku zahvalnost iskazujem i svojim roditeljima i bratu, bez kojih ništa od ovoga ne bi bilo moguće, koji su mi omogućili bezbrižno studiranje i usmjerili me prema pravom putu kroz obrazovanje i život. Hvala Elvisu, što je bio moja podrška u najtežim i najsretnijim trenucima. Također, svim prijateljima i rodbini, hvala od srca što su od početka mog studija vjerovali u mene i hrabрили me svojom podrškom.

SAŽETAK

Pacijenti koji boluju od poremećaja bubrega moraju nekoliko puta tjedno primati terapiju hemodijalizom. S obzirom da prilikom tretmana hemodijalizom velike količine vode prolaze kroz krvotok pacijenta, voda koja se koristi za pripremanje otopina za dijalizu mora proći proces pročišćavanja i biti odgovarajuće zdravstvene ispravnosti i kvalitete. Osim opasnosti od kemijske kontaminacije, mikrobiološka kontaminacija vode za hemodijalizu značajan je rizik za zdravlje pacijenata, stoga je potrebno redovito obavljati mikrobiološke analize vode za potvrđivanje sigurnosti korištenja vode u hemodijalizi. U radu će se opisati bakterije koje su izolirane u centrima za hemodijalizu u Primorsko-goranskoj županiji u razdoblju od 2016. do 2021. godine. Pronađene su 23 vrste Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija u uzorcima iz 4 hemodijalizna centra, a njihova pojava u Europi i svijetu opisana je pregledom stručnih radova korištenjem ključnih riječi: „bakterijska vrsta, hemodijaliza, ukupni broj bakterija“. Rad se također bavi statističkom obradom podataka ukupnog broja bakterija koje su inkubirane na dvjema različitim temperaturama (37°C/48 h i 22°C/72 h) na istom hranjivom agaru. Uspoređeni su rezultati između različitih centara za hemodijalizu, između godina te između sezona. Utvrđeno je da centar za hemodijalizu A ima u svojim uzorcima vode najviše pronađenih izoliranih vrsta bakterija, a uzorci iz centra za hemodijalizu D nemaju pronađenih izoliranih vrsta bakterija. Također, usporedbom vrijednosti ukupnog broja bakterija na dvjema temperaturama između 4 centra za hemodijalizu, između 6 godina i između 4 sezone, primjenom statističkih testova, utvrđene su statistički značajne razlike u ukupnom broju bakterija i njihova povezanost s pojedinim vrstama bakterija.

Ključne riječi: hemodijaliza; bubrežna bolest; bakterije; voda za hemodijalizu; mikrobiološka kvaliteta; ukupni broj bakterija

SUMMARY

Patients suffering from kidney disorders ought to receive hemodialysis therapy several times a week. Considering that during hemodialysis treatment session large amounts of water are circulating through patients bloodstream, water used for preparation of hemodialysis solution must undergo a purification process to be of appropriate quality and health safety. In addition to risk of chemical contamination, microbiological contamination of hemodialysis water presents a significant risk for the health of patients. Therefore, it is necessary to regularly practice microbiological analyzes of water to confirm the safety of water used in hemodialysis. This paper will describe bacteria isolated in hemodialysis centers in Primorje-Gorski Kotar County during a period of six years (2016-2021). There are 23 species of Gram-positive and Gram-negative bacteria species found in samples from four hemodialysis centers, and outbreaks of certain species in Europe and in the world is described by review of professional papers using the key words: „bacterial species, hemodialysis, total number of bacteria“. The paper also deals with statistical processing of data on total number of bacteria that are incubated in two different temperature conditions (37°C/48h and 22°C/72h) on the same nutrient agar, and the data is compared between different hemodialysis centers, between years and between seasons. It was found that hemodialysis center A has the highest number of isolated bacteria species in its water samples, while samples from hemodialysis center D have no isolated types of bacteria. Also, comparing values of total number of bacteria between four hemodialysis centers, between six years and between four seasons using statistical tests, statistically significant differences were determined.

Keywords: hemodialysis; kidney disease; bacteria; hemodialysis water; microbiological quality; total number of bacteria

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. BOLESTI BUBREGA I LIJEČENJE HEMODIJALIZOM.....	1
1.1.1. BOLESTI BUBREGA.....	1
1.1.2. HEMODIJALIZA.....	2
1.2. VODA KOJA SE KORISTI ZA POTREBE HEMODIJALIZE.....	5
1.2.1. PROČIŠĆAVANJE VODE.....	5
1.2.2. KONTROLA SUSTAVA ZA PROČIŠĆAVANJE VODE.....	7
1.3. UZROCI LOŠE KVALITETE VODE ZA HEMODIJALIZU.....	7
1.4. MIKROBIOLOŠKA KVALITETA VODE ZA HEMODIJALIZU.....	8
1.4.1. ZAKONSKA REGULATIVA.....	9
1.4.2. ZNANSTVENI PRISTUPI MIKROBIOLOŠKOJ KVALITETI VODE ZA HEMODIJALIZU U HRVATSKOJ I SVIJETU.....	10
2. CILJ RADA.....	17
3. MATERIJALI I METODE.....	18
3.1. UKUPNI BROJ AEROBNIH BAKTERIJA.....	22
3.2. UKUPNE KOLIFORMNE BAKTERIJE I <i>Escherichia coli</i>	22
3.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
3.4. CRIJEVNI ENTEROKOKI.....	24
3.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	25
3.6. <i>Clostridium Perfringens</i>	26
3.7. OSTALE VRSTE BAKTERIJA.....	26
3.8. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA.....	27

4. REZULTATI.....	28
5. RASPRAVA	39
5.1. <i>Achromobacter xylosoxidans</i>	39
5.2. <i>Acinetobacter lwoffii</i>	39
5.3. <i>Aeromonas hydrophila</i>	40
5.4. <i>Escherichia coli</i>	41
5.5. <i>Neisseria animaloris</i> i <i>Neisseria zoodegmalis</i>	41
5.6. <i>Oligella ureolytica</i>	42
5.7. <i>Pantoea spp.</i>	42
5.8. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> i <i>Pseudomonas stutzeri</i>	43
5.9. <i>Ralstonia insidiosa</i> , <i>Ralstonia mannitolilytica</i> i <i>Ralstonia picketti</i>	44
5.10. <i>Sphingomonas paucimobilis</i>	45
5.11. <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. hominis</i> , <i>S. warneri</i>	46
5.12. <i>Streptococcus mitis</i> i <i>Streptococcus oralis</i>	48
5.13. UKUPNE KOLIFORMNE BAKTERIJE.....	48
5.14. CRIJEVNI ENTEROKOKI.....	48
5.15. UKUPNI BROJ BAKTERIJA.....	49
6. ZAKLJUČCI.....	52
7. LITERATURA	53
8. ŽIVOTOPIS.....	58

1. UVOD

Hemodijaliza je u svijetu najčešća terapija koja zamjenjuje bubrežnu funkciju kod pacijenata s poremećajima bubrega. Budući da su pacijenti na hemodijalizi izloženi velikim količinama vode s otopinama za nadomjestak hranjivih tvari, voda koja se koristi za hemodijalizu može predstavljati zdravstveni rizik ukoliko je kemijski ili mikrobiološki kontaminirana.

1.1. BOLESTI BUBREGA I LIJEČENJE HEMODIJALIZOM

1.1.1. BOLESTI BUBREGA

Zatajenje bubrega gubitak je sposobnosti bubrega da obavljaju svoju funkciju izlučivanja različitih toksičnih tvari i prekomjerne količine vode iz tijela. Ono može biti privremeno ili trajno, a uzrokuju ga različite bolesti koje ne moraju nužno biti vezane samo za bubrege. Dvije su vrste zatajenja bubrega, akutno i kronično. Akutno zatajenje se javlja iznenada, gdje bubrezi naglo gube svoju sposobnost uklanjanja štetnih tvari iz krvi, dok kod kroničnog zatajenja, bubrezi postupno gube svoju funkciju.

Akutno zatajenje bubrega je brzo gubljenje bubrežne funkcije, traje kroz period od nekoliko dana do nekoliko tjedana, a popraćeno je gomilanjem neproteinskih dušičnih tvari u krvi (urea, kreatinin i dr.). Posljedica akutnog zatajenja bubrega je zadržavanje vode u tijelu, što dovodi do opterećenja organizma vodom i solima. Pacijenti s akutnim zatajenjem bubrega liječe se hitnom terapijom ovisno o uzrocima, a ukoliko se lijekovima ne može popraviti stanje pacijenta, provodi se hemodijaliza (1, 2).

Kronična bubrežna bolest je oštećenje bubrega uzrokovano gubljenjem funkcionalnih nefrona. Brojni su uzroci kronične bubrežne bolesti, među njih se ubrajaju oštećenja glomerula, poremećaji u metabolizmu kao što su dijabetes i prekomjerna tjelesna težina, razne infekcije poput tuberkuloze, poremećaji bubrežnih krvnih žila te problemi s mokraćnim sustavom (1).

Pri težim slučajevima nedostatka bubrežne funkcije dolazi do ozbiljnih komplikacija po zdravlje bolesnika, a ukoliko se ne poduzmu potrebne mjere za uklanjanje viška vode iz tijela te viška otpadnih tvari, može doći do teških posljedica za pacijenta. Osim lijekova, terapije koje se primjenjuju pri liječenju pacijenata s bolestima bubrega ili bez oba funkcionalna bubrega su peritonealna dijaliza, hemodijaliza i, kod najtežih slučajeva, transplatacija bubrega.

1.1.2. HEMODIJALIZA

Dijaliza je proces u kojem dolazi do izmjene otopljenih tvari dviju tekućina na temelju razlika u sposobnosti prolaska njihovih čestica kroz polupropusnu membranu. Hemodijalizom, iz krvi oboljele osobe uklanja se višak vode i ostali toksini te uravnotežuje kemijski sastav tjelesnih tekućina pomoću dijalizne otopine, čiji se sastav prilagođava specifičnim potrebama svakog bolesnika. Molekule vode, kao i molekule otopljenih tvari male molekulske mase mogu prolaziti kroz pore polupropusne membrane i miješati se međusobno, ali veće tvari, poput proteina, ne mogu proći kroz polupropusnu barijeru te zbog toga količina takvih tvari s obje strane membrane ostaje nepromijenjena. Dva su mehanizma prijenosa otopljenih tvari u dijalizi: difuzija i ultrafiltracija.

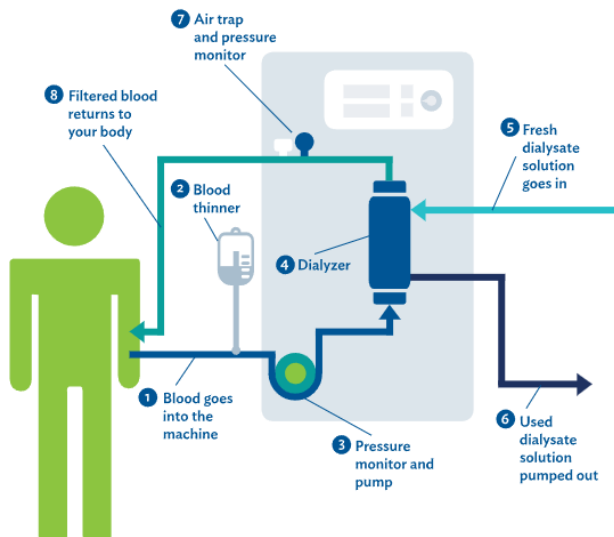
Difuzija je proces prolaska molekula niz koncentracijski gradijent, odnosno iz područja visoke ka području niže koncentracije. Molekule se u procesu difuzije kreću nasumično, a njihovo kretanje ovisi o veličini molekule: molekule veće molekulske mase sporije će se kretati preko polupropusne membrane, dok male molekule, koje se kreću većom brzinom, češće će se sudarati s membranom što znači da će prijelaz tih molekula biti veći (3).

Ultrafiltracija je proces koji se odvija pod povećanim hidrostatskim ili osmotskim tlakom, u kojem male molekule vode, većom brzinom, lako prolaze kroz polupropusnu membranu. U procesu dijalize, svrha ultrafiltracije je odstranjivanje viška vode koja se nakupila u organizmu bilo ingestijom tekućine, bilo metabolizmom hrane u periodu kada pacijent nije bio na dijalizi. Pacijenti, koji su dijalizirani tri puta tjedno, između tretmana mogu dobiti od 1 do 4 kilograma mase, od kojih je većina voda, a ona se uklanja dijalizom (3).

Aparatom za hemodijalizu protiče krv pacijenta koja u dijalizatoru, kroz polupropusnu membranu dolazi u kontakt s dijalizatom (Slika 1.). Dijalizat je elektrolitska otopina slična plazmi, bez bjelančevina, koja održava ravnotežu elektrolita i sudjeluje u procesu pročišćavanja krvi. Protok krvi započinje na način da se u venu pacijenta postavlja kateter, cijev s dva ogranka koja će omogućiti kretanje krvi od pacijenta do uređaja i u konačnici iz uređaja natrag u organizam. Krv putuje kroz cijev do dijalizatora, a potom se kroz dijalizator kreće pumpanjem pomoću valjkaste pumpe na način da valjak postepeno pomiče određenu količinu krvi kroz cijev do dijalizatora, a ostatak krvi blokira začepeljivanjem cijevi. Pročišćena krv koja se vraća u organizam prethodno prolazi kroz komoru koja omogućuje skupljanje i uklanjanje zraka koji se skupio u krvi

tijekom procesa. Postupak pumpanja krvi u potpunosti je kontroliran nadzorom tlaka, a protok pročišćene krvi do pacijenta osigurava se odvođenjem zraka (3).

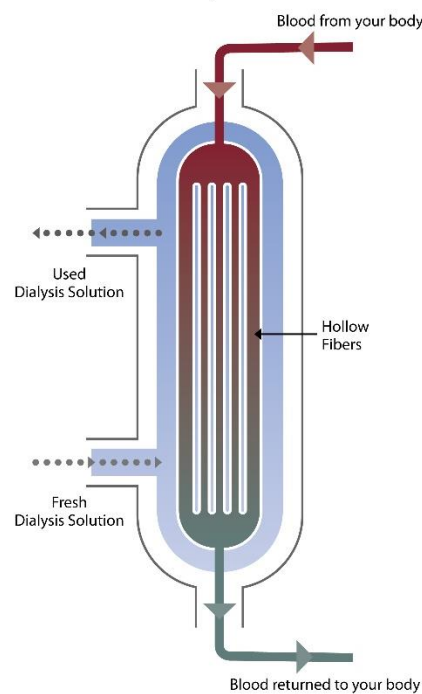
Za kruženje tekućine za dijalizu – dijalizata, važne su pojedine komponente: samostalan sustav za pročišćavanje vode, sustav za odmjeravanje i miješanje koncentrata i vode za dijalizu koji ulaze u dijalizator te uređaji za kontroliranje ultrafiltracije i praćenje ostalih komponenti tekućine za dijalizu. Na dijalizi je pacijent izložen otprilike 120-200 litara vode tijekom jednog tretmana, što znači da, ako voda nije čista, sve tvari male molekulske mase mogu prelaziti iz vode u krvotok pacijenta. Zato je neophodno u hemodijalizi koristiti sustavno pročišćenu vodu čija se čistoća redovito kontrolira. Nadalje, pripravljanje tekućine za dijalizu u uređaju je miješanje elektrolita u koncentriranim otopinama ili u prahu zajedno s pročišćenom vodom, nakon čega se dobivena otopina cijevima odvodi u dijalizator. Dvije su vrste sustava za odmjeravanje i pripravljanje otopine za dijalizu: prvi je sustav kod kojeg posebni uređaj u centru za dijalizu služi za pripremu tekućine za dijalizu te se zatim pripremljena tekućina cijevima dovodi do svakog aparata za hemodijalizu, a drugi je način individualni – svaki aparat za hemodijalizu sam proizvodi dijalizat miješanjem koncentrata i pročišćene vode. Obavezno je da tekućina putuje u dijalizator pod prikladnom temperaturom, od 35 do 38°C i bez viška zraka, što je kontrolirano uređajima i alarmima (3).



Slika 1. Princip rada aparata za hemodijalizu. Izvor: Fresenius Kidney Care. Dostupno na:

<https://www.freseniuskidneycare.com/treatment/dialysis/hemodialysis-machine>

Dio aparata za hemodijalizu u kojem dva protoka (krvni i protok tekućine za dijalizu) međudjeluju preko polupropusne membrane zove se dijalizator (Slika 2.). Može biti četvrtastog ili cilindričnog oblika, a sadrži četiri otvora: dva su otvora namijenjena za prolazak krvi pacijenta, a druga dva služe za protok dijalizata. Unutar dijalizatora nalazi se polupropusna membrana. Krv ulazi kroz otvor na jednom kraju dijalizatora, zatim se razdjeljuje u snop malih kapilara šupljikavih vlakana, okolo kojih teče dijalizat. Dijalizat i krv pacijenta putuju u suprotnim smjerovima kroz dijalizator kako bi se povećao koncentracijski gradijent unutar cijelog dijalizatora i kako bi pročišćavanje krvi i nadomjestak tvari u krvi bili što efikasniji. Nakon obavljenih procesa pročišćavanja krvi difuzijom i ultrafiltracijom, krv pacijenta izlazi kroz otvor na drugom kraju dijalizatora i pod kontrolom putuje cijevima natrag u venski sustav pacijenta. Iskorišteni dijalizat odvodi se iz dijalizatora sustavom cijevi i pumpanjem (3).



Slika 2. Dijalizator. Izvor: National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Dostupno na: <https://www.niddk.nih.gov/news/media-library/9508>

1.2. VODA KOJA SE KORISTI ZA POTREBE HEMODIJALIZE

Voda koja se koristi za pripremanje otopine za hemodijalizu dobiva se iz vodovodne vode koja se podvrgava postupcima pročišćavanja kako bi se smanjila opasnost od kontaminacije, bilo kemijske, bilo mikrobiološke. Priprema vode za hemodijalizu vrlo je kompliciran proces, a važno je da svaki korak u obradi vode bude visoke učinkovitosti, kako bi se održavala sigurnost svakog pacijenta pri svakom tretmanu hemodijalizom. Centri za hemodijalizu odgovorni su za pravilno pročišćenu vodu koja se koristi za potrebe hemodijalize.

1.2.1. PROČIŠĆAVANJE VODE

Postoje različite metode koje su prigodne za pročišćavanje vode za potrebe hemodijalize, a sustavi koji služe za pročišćavanje sastoje se od predtretmana, primarnog pročišćavanja i odvođenja pročišćene vode do mjesta na kojem se ona koristi.

U predtretmanu se obavljaju određeni preliminarni procesi kao što je omekšavanje vode, filtracija vode i filtracija preko aktivnog ugljena. Pomoću navedenih procesa voda se priprema za primarno pročišćavanje. Kod predtretmana vode nekad je potrebno korigirati lužnata svojstva vode dodatkom klorovodične kiseline, kako ne bi došlo do ometanja pri filtraciji vode kroz filtere od aktivnog ugljena i stvaranja nakupina soli na membranama prilikom kasnijih procesa u primarnom pročišćavanju vode (3). Filtracija vode vrlo je važan proces u kojem se iz obične vode uklanjaju grube čestice, a obično se voda filtrira preko kremenog pijeska vrlo sitne granulacije, a dodatno se mogu upotrijebiti i određeni mikrofilteri za uklanjanje sitnijih raspršenih čestica. Filtracija je to učinkovitija što je više primijenjenih filtera različite poroznosti. Problem koji se javlja pri filtraciji vode je nakupljanje algi i bakterija na filterima. Sljedeći proces je omekšavanje vode, pri kojem se preko ionskih izmjenjivača čvrste, netopive strukture (najčešće slojevi smole), izmjenjuju ioni magnezija i kalcija prisutni u običnoj vodi, s ionima natrija prisutnim u aktivnim skupinama ionskog izmjenjivača. Uklanjanje svih kalcijevih i magnezijevih iona zapravo znači uklanjanje ukupne tvrdoće vode. Svojstvo omekšane vode je da umjesto ukupne tvrdoće (iona Ca^{2+} i Mg^{2+}) sadrži istu količinu natrijeve soli. Po izlasku iz procesa mjeri se ukupna tvrdoća vode, čime se utvrđuje uspješnost omekšavanja vode. Konačno, u predtretmanu odvija se i apsorpcija tvari iz vode u aktivnom ugljenu. Aktivni ugljen nije efikasan pri korištenju za filtraciju vode jer ne može ukloniti grube čestice koje su raspršene u vodi. Mikroporozna je struktura ugljika velike apsorpcijske površine, a najčešći elementi koje apsorbira su klor, kloramini i neke manje organske

tvori koje se nalaze u vodi. U procesu apsorpcije klora, aktivni ugljen se troši u reakcijama nastanka ugljikovog dioksida i klorovodične kiseline iz ugljena i klora te se ne može više obnoviti. Iz tog se razloga kolona s aktivnim ugljenom mora redovito mijenjati nakon što izgubi svoju apsorpcijsku moć (4).

Primarno pročišćavanje vode odvija se procesima reverzne osmoze i deionizacije vode. Reverzna osmoza je membranski proces kod kojeg se voda filtrira kroz polupropusnu membranu pod djelovanjem visokog tlaka. Membrana zadržava više od 95% različitih zaostalih iona i drugih neionskih tvari, a također je vrlo važna prepreka prolasku bakterija i njihovih endotoksina. Voda pročišćena procesom reverzne osmoze često je visoke čistoće i može se kao takva upotrebljavati u pripremljanju tekućine za dijalizu. Ipak, često se nakon reverzne osmoze provodi deionizacija vode. Može se koristiti i kao alternativni postupak reverznoj osmozi, no to je vrlo rijetko s obzirom da ne uklanja bakterije ni njihove endotoksine, kao ni neionske tvari iz vode. Temelji se na ionskoj izmjeni preko slojeva smole, jednog kationskog, jednog anionskog. Kationski ionski izmjenjivač je sloj smole koji sadrži sumporne skupine, na njemu se odvija izmjena vodikovih iona s kationima metala, najčešće natrija, aluminijska i kalcija, dok se na anionskom ionskom izmjenjivaču nalaze amonijeve skupine, kod kojih se hidroksilne skupine zamjenjuju anionskim skupinama kao što su kloridi, fluoridi i fosfati. Slobodni vodikov kation i hidroksilni anion vežu se i daju molekulu vode, što u konačnici daje vodu u kojoj su prisutne vrlo malene količine iona. Proces deionizacije se kontrolira mjerenjem elektrovodljivosti vode i kontrolom ionskih izmjenjivača za obavljanje procesa ionske izmjene te redovitom zamjenom istih. Također je važno istaknuti su da slojevi smole s ionskim izmjenjivačima velika površina za rast i umnažanje različitih vrsta bakterija. Budući da se prethodnim procesom reverzne osmoze uklanjaju klor i kloramini, tvari koje imaju bakteriostatsko djelovanje, odnosno sprječavaju rast i umnažanje bakterija, povećana je opasnost od mikrobiološke kontaminacije vode tijekom deionizacije. Iz tog se razloga na kraju spremnika za deionizaciju stavlja ultrafilter koji služi za filtriranje svih zaostalih bakterija i endotoksina. Uništavanje bakterija ultraljubičastim zračenjem kao opcija uklanjanja bakterija nije efikasno zbog ostataka uginulih bakterija u vodi, kao što su peptidoglikani i lipopolisaharidi (3).

Pročišćena voda dalje se distribuira u svaki aparat za hemodijalizu zasebno, kako bi se dalje mogla pripremiti tekućina za hemodijalizu koja je sigurna od štetnih tvari. Kemijska kontaminacija sprječava se korištenjem inertnih materijala, primjerice plastike, a mikrobiološka

kontaminacija vode se sprječava prikladnim vodovodnim sustavima i redovitom dezinfekcijom vode. U optimalnom sustavu, voda se ne bi trebala skladištiti, no ukoliko se voda za hemodijalizu skladišti, spremnik mora biti tako konstruiran da se u njemu voda može lako dezinficirati (4).

1.2.2. KONTROLA SUSTAVA ZA PROČIŠĆAVANJE VODE

Nadzor sustava za pripremu vode za potrebe hemodijalize u Republici Hrvatskoj reguliran je Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti vode za potrebe hemodijalize (NN 125/2003) u kojem se u Članku 5. definira svakodnevna unutarnja kontrola fizikalno-kemijskog sastava vode. Obavljaju se jednostavna mjerenja na mjestu gdje ulazi obična voda, na kraju postupka filtracije vode aktivnim ugljenom, na kraju postupaka omekšavanja i demineralizacije vode prije nego što se odvođi u sustav pročišćavanja reverznom osmozom te na kraju procesa reverzne osmoze. Kontrolira se rezidualni klor u sirovoj vodi, zatim rezidualni klor nakon dekloriranja aktivnim ugljenom, ukupna tvrdoća nakon omekšavanja i elektrovodljivost u $\mu\text{S}/\text{cm}$. Elektrovodljivost se razlikuje od mjesta do mjesta, međutim redovita kontrola služi za utvrđivanje promjena sastava vodovodne vode koja se dovodi u sustav, a ta je promjena svojevrsan alarm najbližim Zavodima za javno zdravstvo za provjere kvalitete vode na određenom području. Optimalna elektrovodljivost iznosi manje od $10 \mu\text{S}/\text{cm}$, a odstupanja iznad $30 \mu\text{S}/\text{cm}$ obavezno se rješavaju intervencijama na sustavu u svrhu prevencije zdravstvenih problema kod pacijenata. Mjerenje količine klora u vodi ukazuje na dotrajalost filtera s aktivnim ugljenom i dobra je uputa za vrijeme zamjene filtera. Također upućuje na provedenu dezinfekciju vode, ukoliko je izmjereni klor u dopuštenim granicama. Svakodnevna mjerenja fizikalno-kemijskih čimbenika vrlo su važni pokazatelji stanja kompletne aparature i stanja vode koja se obrađuje, što omogućuje brzu reakciju na propuste u sustavu (4,5).

1.3 UZROCI LOŠE KVALITETE VODE ZA HEMODIJALIZU

Pacijenti na hemodijalizi izloženi su velikoj količini vode pri tretmanu, što znači da, ukoliko voda nije adekvatno pročišćena, razne nečistoće mogu migrirati u krvotok pacijenata i uzrokovati brojne neželjene posljedice. Uzroci kontaminacije vode, bilo kemijske bilo mikrobiološke, najčešće su nekvalitetno održavanje sustava, nepravilno provedeni postupci dezinfekcije ili neredovite kontrole vodovodne vode koja se tretira za potrebe hemodijalize. Kemijski neprikladna voda, ako se koristi u terapiji hemodijalizom, može negativno utjecati na organizam pacijenata uzrokujući poremećaje u ravnoteži iona, povećanje koncentracije natrija,

gubitak krvi tijekom tretmana uslijed povećane kiselosti vode i dr. Veće koncentracije elemenata u tragovima kao što su bakar, cink i aluminij mogu se pronaći u vodi ukoliko se u vodovodnom sustavu koriste bakrene cijevi, ako se prilikom procesa pročišćavanja vode koriste aluminijski spojevi ili ako cink migrira iz galvaniziranih dijelova uređaja za tretiranje i odvodnju vode. Povišena koncentracija klora i njegovih spojeva rezultat je nepravilno provedene dezinfekcije vode, a veća količina nitrata ukazuje na prisutnost bakterija ili eventualno prisutnost ostataka umjetnih gnojiva na područjima gdje se koriste umjetna gnojiva (4). Kako bi se osigurala kvalitetna i čista voda koja se koristi u terapiji hemodijalizom, vrlo je važno svakodnevno nadzirati sustav za pripremu vode za hemodijalizu, kao i redovito provoditi kemijske i mikrobiološke analize vode. Time se na vrijeme mogu otkriti i sanirati nedostaci u sustavu te nečistoće u vodovodnoj vodi.

1.4. MIKROBIOLOŠKA KVALITETA VODE ZA HEMODIJALIZU

Voda koja se koristi za potrebe hemodijalize gotovo nikad nije potpuno sterilna. Bakterijske vrste koje preživljavaju u svim vrstama voda, destiliranoj, s niskim količinama organskog opterećenja, deioniziranoj, pa i u onoj koja je dobivena reverznom osmozom su Gram (-) akvatičke bakterije i netuberkulozne bakterije. Zbog balansa soli, destilirana voda postaje poput hranjivog bujona (30) za te bakterijske vrste. Primarno one u sustav ulaze iz vodovodne vode tako da ona utječe na kontaminaciju cjelokupne vode koja se koristi za potrebe hemodijalize.

Lizom ili propadanjem stanica Gram (-) bakterijskih vrsta, oslobađaju se dijelovi staničnih membrana koji se nazivaju bakterijski endotoksini (BET). Prema kemijskom sastavu, to su lipopolisaharidi (LPS). Formiraju se u nakupinama što ovisi o koncentraciji soli, pH, kakvoći vode, površini. Termostabilni su, a uklanjaju se ultrafiltracijom. Moguće ih je inaktivirati tvarima na bazi peroksida ili klora ili pak temperaturnim tretmanom pri 200°C/3h.

Najčešći izvori Gram (-) bakterijskih vrsta, a time i BET-a u hemodijaliznom sustavu su: kakvoća ulazne vode, stajanje vode i slijepi završeci, filteri, ventili, neadekvatne brtve, deionizirane smole, nepotpuna i neadekvatna dekontaminacija sustava, hrapave površine, neadekvatni materijali i slično.

Testiranje svih vrsta voda u procesu hemodijalize na prisutnost bakterijskih endotoksina provodi se LAL testom (eng. Lymulus Amebocyte Lysate). Zbog jednostavnosti izvođenja, ekonomske pristupačnosti te iznimne osjetljivosti (detektira do 0,003 ng/mL) koristi se u

monitoringu kakvoće hemodijalizne vode kako na prisustvo BET-a tako i na prisustvo ciljnih bakterijskih vrsta. Ukoliko je membrana dijalizatora ispravna, bakterije kao takve zbog svoje veličine neće moći prolaziti kroz pore membrane, no njihovi će produkti raspada ipak prolaziti kroz membranu jer su manji od njezinih pora. Redovita mikrobiološka kontrola vode za hemodijalizu vrlo je važna kako bi se intervencijama moglo utjecati na smanjenje komplikacija dijaliziranih pacijenata uslijed bakterijskih infekcija povezanih s hemodijalizom (4, 6).

Osim Gram (-) bakterijskih vrsta zabilježena su onečišćenja vode i dijalizata s Gram (+) bakterijskim vrstama koje luče egzotoksine, to jest biološki aktivne tvari koje u vrlo malenim količinama mogu biti vrlo toksične za ljudski organizam (4, 6) te filamentoznim gljivicama i modrozelenim algama.

1.4.1. ZAKONSKA REGULATIVA

Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti vode za potrebe hemodijalize definirani su načini bakteriološke kontrole vode za hemodijalizu u Republici Hrvatskoj.

Voda za potrebe hemodijalize koristi se iz zdravstveno ispravne vode javnih vodoopskrbnih sustava koja mora odgovarati Pravilnika o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe (NN 125/2017, NN 39/20).

Bakterijsko opterećenje određuje se u različitim vrstama voda koje se koriste za potrebe hemodijalize: tretirane vodovodne vode, koncentriranog dijalizata, vode za ispiranje i otopine za dijalizu prije prolaska kroz filter (dijalizator). Količina bakterija izražava se kao broj kolonija u mililitru uzorka (CFU/mL, eng. Colony Forming Units), a bakterijska vrsta korištenjem niza standardnih metoda ili pomoću instrumenata.

Prema Pravilniku, u tretiranoj vodi koja je pripravljena za potrebe hemodijalize ne smije biti više od 100 CFU/mL bakterija kao ni u vodi za ispiranje, dok je u dijaliznoj otopini dozvoljeno do 1000 CFU/mL (Tablica 1.).

Tablica 1. Standardne vrijednosti bakteriološke ispravnosti tekućina u sustavu hemodijalize. Izvor: Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za potrebe hemodijalize. Dostupno na: <https://digarhiv.gov.hr/arhiva/263/18315/www.nn.hr/clanci/sluzbeno/2003/1810.html#library/9508>

Vrsta uzorka	Ukupan broj bakterija u mL [CFU/mL]	Količina endotoksina [IU/mL]
Voda za potrebe hemodijalize (tretirana)	100 (10 ²)	0,25
Koncentrat dijalizata	-	0,25
Dijalizna otopina	1000 (10 ³)	0,5
Voda za ispiranje	100 (10 ²)	0,25

Također, Pravilnikom su istaknute bakterijske vrste: *Pseudomonas spp*, *Flavobacter spp*, *Acinetobacter spp*, *Achromobacter spp*, *Serratia spp*, *Stenotrophomonas spp*, *Mycobacterium cholonei*, *M. fortuitum*, *M. gordonae*, *M. scrofulaceum*, *M. kansasii*, *M. avium*, *M. intracellular*, čije prisustvo nije dozvoljeno u vodama koje se koriste za potrebe hemodijalize.

Kao posljedica prisustva Gram (-) bakterijskih vrsta u vodi, Pravilnikom je određena dozvoljena količina endotoksina od 0,25 IU/mL i 0,5 IU/mL (izraženo u internacionalnim jedinicama) koja se određuje LAL-testom.

1.4.2. ZNANSTVENI PRISTUPI MIKROBIOLOŠKOJ KVALITETI VODE ZA HEMODIJALIZU U HRVATSKOJ I SVIJETU

Istraživanje dr.sc. Marka Jakića i suradnika iz 1998. godine (6) (Klinička bolnica Osijek i Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije) imalo je za cilj utvrditi načine kontroliranja mikrobiološke kakvoće vode za hemodijalizu te na temelju vlastitih rezultata utvrditi sukladnost s tadašnjim AAMI standardima koji su sadržani u normi Udruge za unaprjeđenje medicinskih instrumenata (eng. Association for the Advancement of Medical Instrumentation). Prema AAMI standardima koji su bili važeći u 1998. godini, voda za potrebe hemodijalize nije smijela sadržavati više od 200 CFU/mL bakterija. Voda za hemodijalizu, koja se analizirala u svrhu istraživanja, tretirana je reverznom osmozom i ionskom izmjenom u sustavu na kojem se dezinfekcija vode provodila svakih 14 dana. Istraživači su u razdoblju od 6 mjeseci obrađivali uzorke vode za

hemodijalizu i dijalizata koje su skupljali na prvi dan te na dvanaesti dan od provođenja dezinfekcije vode. Uzorci su se uzeli na način da se mjesto uzorkovanja prvo očistilo otopinom natrijevog hipoklorita, zatim je voda puštena da teče od 3 do 5 minuta te su se potom uzorci uzimali u sterilne staklene posude. Prije obrade, uzorci su se čuvali na temperaturi manjoj od 5°C. Nasađeni su na Mac Conkey agar i triptikaza sojin agar, a inkubacija se odvijala 48 sati na temperaturi od 22°C. Analizirano je ukupno 60 uzoraka vode za hemodijalizu, od čega je 10%, odnosno 6 uzoraka bilo nesukladno s tadašnjim AAMI standardima. Bakterije koje su se dokazivale u uzorcima bile su samo iz roda *Pseudomonas*. Budući da je istraživanje provedeno 1998. godine, a tada u Republici Hrvatskoj još nije postojao pravilnik sa standardima koje mora zadovoljavati voda za hemodijalizu, istraživanje se provelo na temelju široko primjenjivih AAMI standarda (6).

Talijanski pregledni rad Giuseppea Pontoriera i suradnika iz 2003. godine (7) osvrt je na izvore onečišćenja vode za hemodijalizu i manjkavosti sustava pročišćavanja vode. Na temelju istraživanja iz Europe i svijeta, talijanski znanstvenici napravili su rezime sukladnosti uzoraka vode za hemodijalizu sa svjetski priznatim AAMI standardima i standardima Europske Farmakopeje. Kako je navedeno u radu, prema tadašnjim AAMI standardima u uzorcima vode za hemodijalizu ne smije biti više od 200 CFU/mL bakterija, dok u standardima Europske Farmakopeje uzorci ne smiju sadržavati više od 100 CFU/mL bakterija. Budući da rast bakterija na hranjivim podlogama ovisi o temperaturi, vremenu inkubacije i samoj hranjivoj podlozi, znanstvenici ističu da su AAMI preporuke za bakteriološke analize bazirane na inkubaciji uzorka na temperaturi 37°C na 48 sati na podlozi TSA (eng. Tryptic Soy Agar, Triptikaza sojin agar) koja je neselektivna hranjiva podloga, a Europska Farmakopeja ne sadrži specifične metode analize. Ipak, pokazalo se da su podloge siromašnije hranjivim tvarima kao što su R2A (Reasoner's 2 agar) i TGEA (eng. Tryptone Glucose Extract Agar) i duži vremenski period inkubacije na sobnoj temperaturi koja je obično između 20 i 23°C jače osjetljive metode pri analiziranju bakteriološke kontaminacije vode za hemodijalizu. Znanstvenici su u svom radu naveli talijansko istraživanje iz 24 centra za dijalizu u Lombardiji, za čije uzorke je korištena hranjiva podloga R2A s inkubacijom na sobnoj temperaturi kroz 7 dana. Od ukupno 75 analiziranih uzoraka, 15% uzoraka sadržavalo je više od 100 CFU/mL bakterija, a 11% uzoraka imalo je više od 200 CFU/mL bakterija. U jednom centru za dijalizu umjesto reverzne osmoze, završni dio pročišćavanja vode bila je deionizacija kao samostalna tehnika pročišćavanja. Sustavi za distribuciju vode u aparate za

hemodijalizu bili su sačinjeni od PVC-a u 48% centara za hemodijalizu, a u 28% centara za hemodijalizu dezinfekcija se obavljala najmanje jednom mjesečno. Znanstvenici su zaključili kako je mikrobiološka kakvoća vode za hemodijalizu često zanemaren problem, bez obzira na relativno dobre rezultate. Rješenje problema većeg broja bakterija u vodi za hemodijalizu autori vide u redovitim provjerama ispravnosti sustava za pripremu vode kako bi se pravovremeno popravili nedostaci (7).

Američki autori Angela D. Coulliette i Matthew J. Arduino u svom preglednom radu iz 2013. godine (8) bave se prikladnošću materijala koji se koriste za odvodnju vode do aparata za hemodijalizu i metodama kemijske i bakteriološke te analize endotoksina u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD). Kako je navedeno u radu, prema preporukama iz standarda AAMI iz 2011. godine, koje se odnose na materijale za distribucijski sustav vode za hemodijalizu i dozvoljene dezinficijense, u najčešće korištene materijale (zbog velike dostupnosti i niskih cijena) se ubrajaju PVC i nehrđajući čelik, no najveći procijenjeni problem kod distribucijskih sustava sačinjenih od PVC-a je relativno brza istrošenost materijala pod utjecajem protoka vode i kemijskih sredstava za dezinfekciju sustava. Trošenjem plastičnog materijala stvara se podloga na kojoj rastu bakterije. Također, svi spojevi u sustavu moraju biti sastavljeni na način da voda može jednoliko protjecati i da bakterije imaju smanjenu mogućnost unožavanja na oštrim rubovima cijevi. Nadalje, u SAD-u su zakonske okvire definirali Centri za zdravstvenu zaštitu i usluge medicinske pomoći (eng. Centers for Medicare and Medicaid Services, CMS), koji su sastavni dio američkog Odjela za zdravstvo i socijalne usluge (8,9). Standardi CMS-a nešto su blaži od standarda AAMI 2011, odnosno ukupni broj bakterija u vodi za hemodijalizu mora biti manji od 200 CFU/mL, dok je po AAMI 2011 standardima dozvoljeno manje od 100 CFU/mL bakterija. U radu se također navodi kako različiti hranjivi mediji za rast bakterija, različita vremena inkubacije i različite temperature daju rezultate u kojima ukupni brojevi bakterija variraju, a pojedini mediji su osjetljiviji od drugih. Na temelju istraživanja utvrđene su nove preporuke za korištenje TGEA i R2A hranjivih podloga za mikrobiološke analize vode za potrebe hemodijalize, a monitoring vode se treba obavljati jednom mjesečno na uzorcima iz sustava distribucije vode za hemodijalizu i, ukoliko se pročišćena voda skladišti, na uzorcima iz spremnika pročišćene vode.

Prema tabličnim podacima iz rada prikazanima na Slici 3., inkubacija koja je definirana prema standardima iz 2004. godine treba se odvijati 48 sati na temperaturi od 35°C, dok se prema novim standardima AAMI 2011 preporučuje inkubacija na sobnoj temperaturi (od 17 do 23°C) u vremenu od 7 dana (8).

Methods, media, incubation and time for optimal bacterial monitoring

Dialysis Water and Fluids *	Methods	Media	Incubation parameters (°C, hours)
CMS Regulation ¹	Membrane filtration Spread plate Dip samplers	TSA ² , TGYE ³	35°C, 48 hours
ANS Recommended ⁴	Membrane filtration Spread plate Pour plate	TGEA ⁵ , R2A ⁶	17–23°C, 7 days

* Bicarbonate concentrates – methods, media, and incubation parameters are the same as listed above; however, for the recommended monitoring assay, the media should be supplemented with 4% sodium bicarbonate.

¹The current regulation (5) follows the 2004 AAMI recommendations (6).

²TSA = Tryptic soy agar.

³TGYE = Standard methods and plate count agar.

⁴The 2011 AAMI recommendations have been updated compared to the 2004 recommendations (8).

⁵TGEA = Tryptone Glucose Extract Agar.

⁶R2A = Reasoner's Agar No. 2.

Slika 3. Tablični prikaz metoda analize, hranjivih medija, vremena i temperature inkubacije za optimalnu bakteriološku analizu. Izvor: Coulliette AD, Arduino MJ. Hemodialysis and water quality 2013. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23859187/>

Autori ističu da je za kvalitetne terapije hemodijalizom važno provoditi redovite bakteriološke i kemijske kontrole vode za potrebe hemodijalize, voditi evidencije i ažurirati sve podatke, no još je važnije redovito održavati aparaturu koja se koristi u hemodijalizi, kao i educirati djelatnike o čimbenicima koji utječu na kvalitetu obavljene dijalize. Američkom Centru za kontrolu bolesti (eng. Centers for Disease Control and Prevention, CDC) prijavljeno je 13 zabilježenih pojava mikrobioloških kontaminacija u centrima za hemodijalizu, od kojih je 10 bakterioloških s ukupno 145 slučajeva zaraze i 2 smrtna ishoda u periodu od 1973. do 2008. godine. Najčešće bakterije koje su se pojavljivale u uzorcima vode su *Burkholderia cepacia* pronađena u vodi pročišćenoj reverznom osmozom; *Enterobacter cloacae*; *Flavobacterium spp.*, *Proteus*, *Pseudomonas spp.* (*Pseudomonas aeruginosa*) pronađeni u vodovodnoj vodi i slojevima

smole unutar dijalizatora, iako nije detektiran rezidualni klor nakon deionizacije; *Pseudomonas cepacia* pronađen je zbog nedovoljno provedene dezinfekcije kontaminirane vode iz slavine koja se koristila za čišćenje uređaja za hemodijalizu; zatim *Klebsiella pneumonia*, *Ralstonia picketti*, *Sphingomonas paucimobilis* i *Stenotrophomonas maltophilia*. Najveći broj slučajeva mikrobnе kontaminacije javljao se uglavnom zbog nepravilno provedene dezinfekcije, neredovitog čišćenja sustava za deionizaciju vode, nepravilnog korištenja smjese dezinficijensa za dezinfekciju dijalizatora te zbog korištenja novih kemijskih dezinficijensa zbog čega su nastale pukotine na membranama dijalizatora i tako se omogućio prolazak bakterija iz dijalizata u krvožilni sustav pacijenta. Još neki od izvora mikrobiološke kontaminacije u centrima za hemodijalizu u SAD-u su loše provođenje kontrola infekcija i spremnici s pročišćenom vodom koji su kontaminirani Gram (-) bakterijama. Osim direktne infekcije preko krvotoka, problem je i to što se mikroorganizmi iz kontaminirane vode mogu prenositi na rukama djelatnika do aparata za hemodijalizu ili čak direktno do pacijenata. Zato američke CMS preporuke slijede Preporuke za prevenciju prijenosa infekcije kod kroničnih pacijenata na hemodijalizi, američkog CDC-a. Neke preporuke koje se mogu izdvojiti jesu obavezno nošenje rukavica bilo za njegu pacijenta, bilo za korištenje opreme i aparata za pojedinog pacijenta uz redovito mijenjanje rukavica i odlaganje u posebne spremnike, obavezno pranje ruku nakon svakog skidanja rukavica i prilikom dolaska novog pacijenta, obavezno osiguravanje opreme i aparature striktno za jednog pacijenta kako bi se izbjegla bilo koja vrsta kontaminacije te obavezno čišćenje i dezinfekcija prostora, aparature i instrumenata nakon obavljene hemodijalize (8,10). Autori su zaključili kako je za pravilno održavanje kompletnih sustava u centrima za hemodijalizu vrlo važno educirati djelatnike te provoditi programe kontrole infekcija. Također je istaknuto kako bi se mikrobiološka i kemijska kontrola vode za hemodijalizu u SAD-u trebala u budućnosti prolagođavati restriktivnijim međunarodnim standardima kvalitete vode za hemodijalizu (8).

Istraživanje znanstvenika Parvina Heidarieha i suradnika iz 2016. godine (11) u Iranu obuhvaćalo je pet bolničkih ustanova s centrima za hemodijalizu u kojima se analizirala prisutnost bakterija u distribucijskim sustavima vode za hemodijalizu. Prema Europskoj Renalnoj Organizaciji (eng. European Renal Assotiation) i prema tadašnjim AAMI standardima, u uzorcima vode za hemodijalizu ne smije se naći više od 100 CFU/mL bakterija. Jedina metoda koja se koristi za analizu bakterija u uzorcima vode za hemodijalizu u Iranu je nasađivanje bakterija na hranjive medije Mueller-Hinton agar ili krvni agar te jednostavna biokemijska analiza. Uzorci vode

prikupljani su od veljače do svibnja 2014. godine u centrima za hemodijalizu jedne bolničke ustanove iz Teherana i četiri bolničke ustanove iz gradova pokrajine Alborz. Tijekom 4 mjeseca, prikupljeno je 80 uzoraka iz svih bolnica s 5 mjesta uzorkovanja: voda iz slavine, voda iz spremišta komunalne vode, voda iz izlaznog otvora sustava za pročišćavanje, voda pročišćena reverznom osmozom te dijalizat prije ili nakon obavljene dijalize. Uzorci su uzimani dan prije provođenja redovite dezinfekcije peroctenom kiselinom. Uzorci su otpremljeni u sterilnim bocama u hladnim uvjetima do Mikrobiološkog istraživačkog laboratorija Sveučilišta medicinskih znanosti u Alborzu. Procjena broja heterotrofnih bakterija radila se nasađivanjem 0,1 i 0,5 mL uzorka na R2A agar prema AAMI/ISO 13959 normi iz 2014. godine. Uzorci su se inkubirali na $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ tijekom 7 dana. Prema rezultatima analize, zabilježen je velik broj bakterija na R2A agaru u bolnici u Teheranu, ali i u sve 4 bolnice u pokrajini Alborz. Velik broj uzoraka vode iz izlaznog otvora sustava za pročišćavanje i iz sustava reverzne osmoze u bolnicama u Alborz pokrajini sadržavalo je više od 100 CFU/mL bakterija. Prema izvješćima bolnica, ukupni broj bakterija analiziran na krvnom agaru i na Mueller-Hinton agaru bio je 0 za sve uzorke, osim bolnice u Teheranu koja je prijavila *Pseudomonas aeruginosa* u jednom uzorku vode iz izlaznog otvora sustava za pročišćavanje. U istraživanju koje se dalje bavilo fenotipizacijom i razvrstavanjem izoliranih bakterija u skupine, konvencionalnim mikrobiološkim testovima prepoznato je 229 morfološki različitih bakterija koje su prema fenotipskim karakteristikama dalje razvrstane u 45 skupina, od kojih je 17 skupina Gram (-) i 28 skupina Gram (+) bakterija. Utvrđen je, dakle, visok stupanj kontaminacije za sve 4 bolnice u Alborz pokrajini. U istraživanju nije utvrđena prisutnost koliformnih bakterija. Budući da se u bolničkim sustavima mikrobiološka analiza vode za hemodijalizu provodi nasađivanjem na krvni agar i na Mueller-Hinton agar, a u ovom istraživanju je potvrđeno da rezultati bolničkih analiza nisu pouzdani, autori ističu važnost promjena metoda analize vode za hemodijalizu. Istraživanjem je potvrđeno da korištenje R2A agara i produženog vremena inkubacije na temperaturi od $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ prema AAMI ISO 13959 normi treba postati temelj za daljnje bakteriološke analize u Iranu. Autori su zaključili da je važno poduzeti sve potrebne mjere za redovitu i precizniju kontrolu vode te da se trebaju provoditi dodatna istraživanja kako bi se utvrdio utjecaj različitih bakterijskih zajednica na sustave za hemodijalizu, a sve to u svrhu smanjenja rizika od zdravstvenih problema kod pacijenata na hemodijalizi (11).

U radu Shannona A. Novosada i suradnika iz 2019. godine (12) u SAD-u obrađeni su podaci o pojavi infekcija Gram (-) bakterijama kod dijaliziranih pacijenata u 3 ambulantna centra

za hemodijalizu u periodu od srpnja 2015. do studenog 2016. godine. Pretpostavljeno je kako su voda i ostale tekućine za dijalizu u povezanosti s pojavom infekcija Gram (-) bakterijama. U centrima za hemodijalizu ispitivali su se rezultati rutinskih mjesečnih kontrola vode za hemodijalizu, dijalizata i vode u zidnim spremnicima, uvučenima u zid pored svakog sustava za hemodijalizu, koji služe za priključivanje aparata za hemodijalizu s vodom koja dolazi iz sustava pročišćavanja reverznom osmozom i koncentratom za hemodijalizu te za povezivanje odvodnje potrošenog dijalizata u kanalizacijski sustav. Također se procjenjivalo održavanje i čišćenje središnjih venskih katetera na aparatima za hemodijalizu. Uzorci su se uzimali u sterilne posude od 1L iz individualnih slavina i iz otvora sustava za pročišćavanje reverznom osmozom. Analizirano je ukupno 43 uzorka iz 3 centra za hemodijalizu. U većini uzoraka vode pronađene su Gram (-) bakterije, a u svim uzorcima vode iz zidnih spremnika nalazile su se bakterije *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter cloacae*. Također, analiziralo se i 18 izolata kod pacijenata, kod kojih su se pronašle bakterije *Serratia marcescens* u 9 slučajeva, *Pseudomonas aeruginosa* u 5 slučajeva i po jedan slučaj *Escherichia coli*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae* i *Klebsiella pneumoniae*. Nadalje, tijekom ljeta 2016. godine, u 2 od 3 centra za dijalizu uveo se protokol održavanja odvoda u zidnim spremnicima vode i edukacija djelatnika o higijeni nakon kontakta sa zidnim spremnicima čime se povećala učestalost provođenja kontrole higijene ruku kod zaposlenika. Upravo redovitim održavanjem zidnih spremnika, pravilnom higijenom ruku i učestalim kontrolama vode za hemodijalizu i dijalizata mogu se spriječiti masovne pojave infekcija Gram (-) bakterijama kod dijaliziranih bolesnika (12).

2. CILJ RADA

Cilj rada bio je navesti bakterijske vrste izolirane iz voda koje se koriste za potrebe hemodijalize. Istraživanjem su obuhvaćena četiri hemodijalizna centra smještena na području Primorsko-goranske županije, u šestogodišnjem razdoblju (2016.-2021.). Utvrđena je prevalencija izolata pojedinih bakterijskih vrsta te su opisane njihove karakteristike s obzirom na vrstu vodenog medija iz kojeg su izolirane.

Također, dodatni cilj rada bio je utvrditi razlike u pokazatelju UBB pri dvjema temperaturama inkubacije (37°C/48 h i 22°C/72 h) između različitih hemodijaliznih centara, između sezona i godina u promatranom razdoblju.

3. MATERIJALI I METODE

Bakteriološka kontrola vode za hemodijalizu obavlja se u svrhu utvrđivanja čistoće i ispravnosti opreme za hemodijalizu. Onečišćenje bakterijama analizira se u:

- uzorcima vode koja se priprema za hemodijalizu (demineralizirana i deionizirana voda)
- koncentratu dijalizata prije upotrebe (bikarbonati, acetati)
- otopini za dijalizu prije prolaska kroz dijalizator
- vodi koja se koristi za ispiranje dijalizatora nakon čišćenja, tj. dezinfekcije

Rezultati obavljenih bakterioloških analiza iskazuju se u CFU/mL uzorka i identifikacijom bakterijskih vrsta pronađenih u uzorcima vode prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za potrebe hemodijalize (5).

Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za potrebe hemodijalize definira način uzorkovanja, vrste ispitivanja na uzorcima vode, kao i učestalost provođenja laboratorijskih analiza vode za hemodijalizu. Zdravstvena ispravnost vode za hemodijalizu kontrolira se jednom tjedno prilikom otvaranja novih centara za hemodijalizu sve dok se ne zadovolje svi parametri, jednom mjesečno u onim centrima za hemodijalizu koji već imaju uspostavljenu kontrolu, zatim nakon svakog servisa uređaja za pripremu vode, tj. nakon bilo kakvog tehničkog zahvata na sustavu te nakon saznanja o pojavama bakteriemije, toksičnih ili pirogenih manifestacija koje su se javile kod dijaliziranih pacijenata, ukoliko se mogu povezati sa zdravstvenom ispravnošću vode. Uzorkovanje za analizu obavlja se i prije i nakon provođenja cjelovite dezinfekcije sustava ukoliko dolazi do odstupanja od Pravilnikom određenih mikrobioloških standarda. Kvaliteta vode koja se koristi za hemodijalizu ispituje se fizikalno-kemijskim i mikrobiološkim analizama, a uzorke vode koji se šalju na analizu potrebno je uzimati na Pravilnikom definiranim mjestima u sustavu (4, 5).

Svaki centar za hemodijalizu ima svoju shemu i broj kontrolnih mjesta koja određuje zasebno s obzirom na broj priključnih mjesta, oblik mreže i način pripreme otopine za provođenje postupka dijalize. Ukupni broj uzoraka za kontrolu vode koja se koristi za potrebe hemodijalize određen na temelju broja kritičnih mjesta na mreži, učestalosti kontaminacije uzoraka i učestalosti komplikacija kod pacijenata. Najčešća mjesta uzimanja uzoraka su:

- mjesta s najvećim rizikom od kontaminacije bakterijama

- mjesto ulaska tretirane vode u sustav distribucije
- koncentrat dijalizata prije miješanja s tretiranom vodom
- dijalizna otopina (pomiješana tretirana voda i dijalizat)
 - a) prilikom jednosmjernog prolaska nakon prolaza kroz aparat za hemodijalizu (monitor), a prije prolaza kroz filter za hemodijalizu (dijalizator)
 - b) prilikom jednosmjerne recirkulacije na periferiji sustava, gdje komora za recirkulaciju sadrži otopinu za dijalizu
- mjesto izlaza iz sustava na kojem dolazi do pada aktivne koncentracije dezinficijensa, odnosno krajnje (najniže) mjesto u sustavu (4).

U ovom radu analizirani podaci dobiveni su mikrobiološkim ispitivanjem uzoraka vode koja se koristi za potrebe hemodijalize iz četiri hemodijalizna centra na području Primorsko-goranske županije u razdoblju od šest godina (2016.-2021.). Ukupan broj ispitanih uzoraka u zadanom periodu iznosi 573.

Uzorkovanje prema pravilima struke proveli su djelatnici Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije, Odsjeka za uzorkovanje i pripadajućih ispostava prema normi Kvaliteta vode – Uzorkovanje – 14. dio: Upute za osiguravanje kvalitete i kontrolu kvalitete pri uzorkovanju i rukovanju uzorcima vode iz okoliša HRN EN ISO 5667-14:2016 te prema normi Kakvoća vode – Uzorkovanje za mikrobiološku analizu HRN EN ISO 19458:2008. Uzorci su sakupljeni u staklenim bocama sa plastičnim čepovima kapaciteta 0.5 L koje su prethodno sterilizirane u autoklavu na temperaturi od 121°C u vremenu od 15 minuta. Pri uzimanju uzorka vode iz za to definiranog mjesta na postrojenju ili na cjevovodu, mjesto uzorkovanja dezinficirano je plamenom ukoliko je to mjesto metal ili prebrisano 70%-tnim etilnim alkoholom ukoliko je u pitanju mjesto uzorkovanja sačinjeno od plastičnog materijala. Nakon dezinfekcije izljevno mjesto puštena je voda da teče tri do pet minuta prije uzimanja uzorka u sterilne namjenske boce. Na svakoj boci s uzorkom zabilježeno je vrijeme, mjesto i vrsta vode. Ispisani su i Zapisnici s detaljnim karakteristikama uzoraka i potpisima osoba koje su obavljale uzorkovanje te odgovornog djelatnika hemodijaliznog centra. Uzorci su dostavljeni u laboratorij za mikrobiologiju voda Zdravstveno ekološkog odjela Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije odmah po završetku uzorkovanja, unutar četiri sata uz čuvanje uzoraka na sobnoj temperaturi ili uz pohranu na 2-8°C tijekom 8-24 sata. Obrada uzoraka vršila se odmah po dostavi.

Bakteriološka obrada uzoraka obavljala se standardnim, normiranim i akreditiranim tehnikama i metodama kvantifikacije, pri čemu je broj poraslih kolonija izražen kao CFU u 1 mL ili u 100 mL uzorka, ovisno o metodi. U laboratoriju za mikrobiologiju voda Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije provode se akreditirane metode za utvrđivanje i identifikaciju bakterijskih vrsta: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus spp.*, *Clostridium perfringens*, ukupni enterokoki, *Escherichia coli* i ukupne koliformne bakterije. Kvalifikacija, odnosno identifikacija poraslih bakterijskih vrsta, koje nisu dio redovitih akreditiranih metoda koje se provode u laboratoriju obavljala se pomoću VITEK[®]2 instrumenta ili API testom (eng. Analytical Profile Index).

Prije obrade, boce s uzorcima bilo je potrebno dobro promiješati kako bi se postigla ravnomjerna raspodjela mikroorganizama. Otvor boce s uzorkom prenosio se preko plamena radi dodatne sterilizacije, a zatim se potrebna količina uzorka izlijevala u sterilni lijevak ili se sterilnom pipetom nasađivala na Petrijevu zdjelicu ili podlogu krvnog agara.

Nasađivanje uzoraka vršilo se tehnikom membranske filtracije (MF) kojom je profiltrirano po 100 mL uzorka kroz 47 mm sterilne građirane, bijele filtere koji se sastoje od miješanih celuloznih estera (MCE), a promjer pora filtera iznosi 0,45 µm. Radnom uputom (RU 101-200) – Rukovanje, održavanje, čišćenje i provjera sterilnosti uređaja za membransku filtraciju te sterilnosti „pour plate“ metode opisano je održavanje sustava za membransku filtraciju i provjera čistoće tehnike koja se koristi za obradu uzoraka. Membranska filtracija prikazana je na Slikama 4 i 5. Osim membranskom filtracijom, uzorak je obrađen i akreditiranom „pour plate“ metodom (metoda izlijevanja hranjivog agara na uzorak u sterilnoj Petrijevoj zdjelici). Ova metoda koristi se za brojanje ukupnog broja bakterija. Razlijevanjem 0,5 mL uzorka preko ploče krvnog agara utvrđivalo se prisutstvo *Proteus spp.*, ali i identifikacija nepoznatih bakterijskih vrsta koje su porasle na agaru. Porasle kolonije *Proteus spp.* na krvnom agaru prikazane su na Slici 6.



Slika 4. Membranska filtracija
Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo
Primorsko-goranske županije



Slika 5. Membranska filtracija
Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo
Primorsko-goranske županije



Slika 6. Proteus na krvnom agaru
Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije

Bakterijske vrste koje najčešće opterećuju hemodijalizne vode su: *Pseudomonas spp.*, *Flavobacter spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Achromobacter spp.*, *Aeromonas spp.*, *Serratia spp.*, *Stenotrophomonas spp.* i *Mycobacterium spp.* Uzorci u ovom radu analizirani su na različite odabrane bakterijske vrste koje obuhvaćaju Gram (+) i Gram (-) bakterije, netuberkulozne mikobakterije, kvasce i plijesni koje mogu biti izolirane iz voda za potrebe hemodijalize.

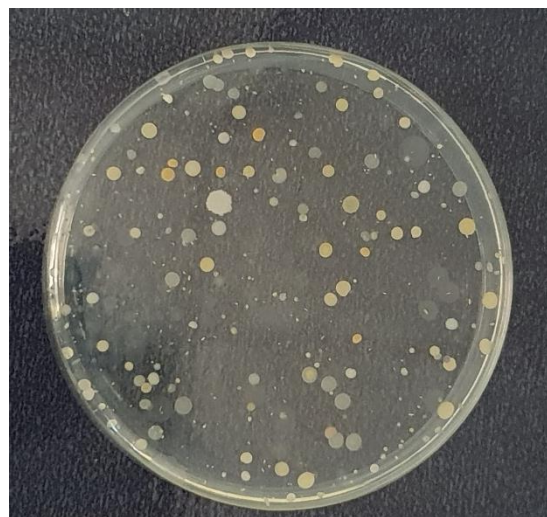
3.1. UKUPNI BROJ AEROBNIH BAKTERIJA

Utvrđivanje ukupnog broja bakterija (UBB) rađeno je prema normiranoj i akreditiranoj metodi HR EN ISO 6222:2000 Brojenje uzgojenih mikroorganizama nacjepljivanjem na hranjivi agar. Nasađivanje uzorka provelo se metodom prelijevanja 15-20 mL otopljenog, temperiranog hranjivog agara (eng. Yeast Extract Agar, YEA) preko 1 mL uzorka u sterilnoj Petrijevoj zdjelici. Inkubacija uzorka provodila se na temperaturi od 37°C tijekom 48 sati te na temperaturi od 22°C tijekom 72 sata. UBB na YEA agaru prikazan je na slikama 7 i 8.



Slika 7. UBB na YEA agaru

*Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo
Primorsko-goranske županije*



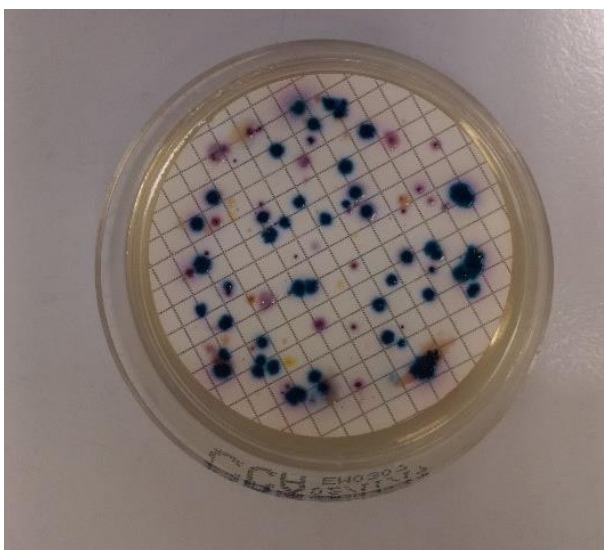
Slika 8. UBB na YEA agaru

*Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo
Primorsko-goranske županije*

3.2. UKUPNE KOLIFORMNE BAKTERIJE I *Escherichia coli*

Za detektiranje i brojanje *E. coli* i ukupnih koliformnih bakterija korištena je normirana i akreditirana metoda HRN EN ISO 9308-1:2014/A1:2017. Prema normi, 100 mL uzorka sterilno se profiltrira kroz membranski filter veličine pora 0,45 µm na aparaturi za membransku filtraciju. Filtar se aseptično prenese na kromogenu selektivnu podlogu CCA agar (eng. Chromogenic Coliform Agar) koja se inkubira na 36±2°C tijekom 24 sata. Na Slici 9. prikazane plave porasle kolonije broje se kao *E. coli*, a različite varijante rozih ili crveno-rozih bakterija potvrđuju se oksidaza testom. Oksidaza negativne bakterije identificiraju se kao ukupne koliformne bakterije,

dok se oksidaza pozitivne bakterije dalje identificiraju API testom ili VITEK[®]2 instrumentom. Kromogena podloga, odnosno CCA agar pogoduje i rastu *Aeromonas spp.*

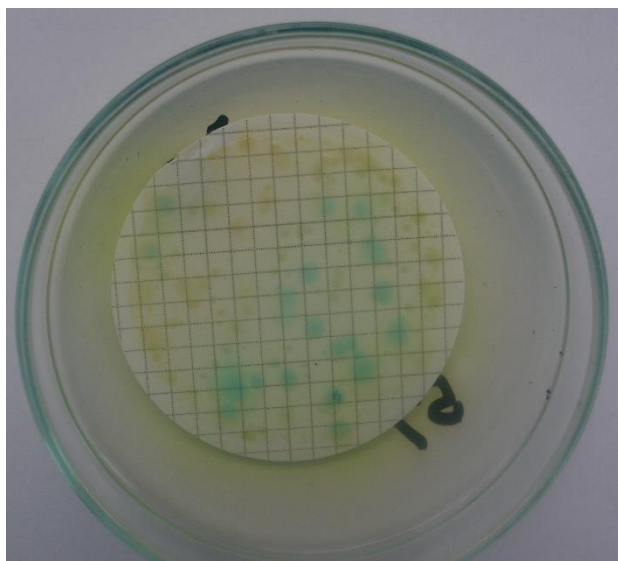


Slika 9. Escherichia coli na CCA agaru
Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo
Primorsko-goranske županije

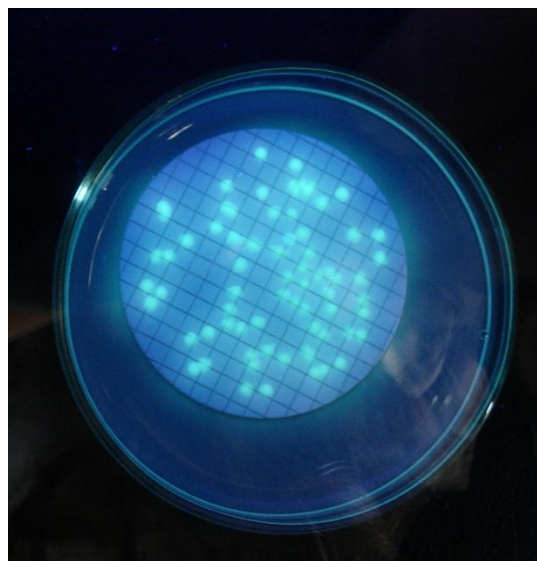
3.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Za detekciju i brojanje *Pseudomonas aeruginosa* korištena je normirana i akreditirana metoda HRN EN ISO 16266:2008. Prema normi, 100 mL uzorka vode za hemodijalizu obrađeno je metodom membranske filtracije kroz filter veličine pora 0,45 µm. Sterilni filter aseptično se prenosi na selektivnu podlogu CN-agar (agar s dodatkom antiseptika cetrimida i nalidikcinske kiseline) koji se inkubira na temperaturi od $41,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ u periodu od 48 sati. Nakon inkubacije izbrojane su sve kolonije koje produciraju plavo zelenu boju kao dokaz *P. aeruginosa*, što je vidljivo na Slici 10. Za ostale porasle kolonije membranski filter postavljen je pod UV lampu. Fluorescirajuće kolonije prikazane na Slici 11. dalje se razrađuju nasadivanjem na hranjivi agar (NA nutrient agar) i inkubiraju se na $36 \pm 2^\circ\text{C}$ tijekom 24 sata. Nakon potvrde oksidaza testa (oksidaza pozitivan) razrada se nastavlja dokazivanjem deaminacije acetamida pomoću acetamid bujona (AB bujon) i inkubira na temperaturi $36 \pm 2^\circ\text{C}$ u periodu od 24 sata. Nesslerovim reagensom očitava se pozitivna reakcija stvaranjem ciglasto crvene boje i taloga. Crveno smeđe kolonije koje ne fluoresciraju potvrđene su kao *P. aeruginosa* ukoliko je dobivena pozitivna reakcija

našađivanjem kolone na AB bujon i inkubacijom na $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ tijekom 24 sata i našađivanjem na King's B medij te inkubacijom na $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ tijekom 5 dana. Na King's B mediju se razvija fluorescencija ukoliko se radi o *P. aeruginosa*. Ostale porasle kolonije kojima rast pogoduje CN agaru, a to su uglavnom bakterijske vrste srodne *Pseudomonas spp.*, identificirane su pomoću API testa ili VITEK[®]2 instrumenta.



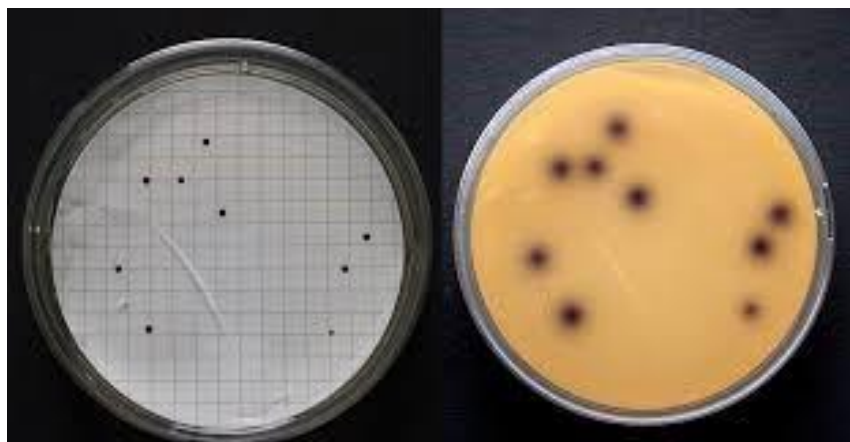
Slika 10. P. aeruginosa na CN-agaru
Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo
Primorsko-goranske županije



Slika 11. P.aeruginosa
Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo
Primorsko-goranske županije

3.4. CRIJEVNI ENTEROKOKI

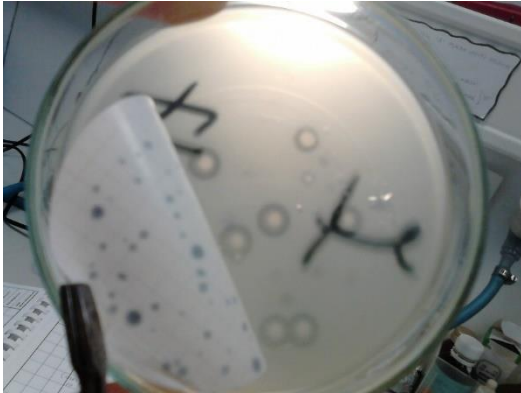
Normirana i akreditirana metoda HRN EN ISO 7899-2:2000 koristi se za određivanje i brojanje crijevnih enterokoka. Nakon membranske filtracije 100 mL uzorka, filter se aseptično prenosi na selektivnu podlogu Slanetz Bartley agar (SBA agar) koja se inkubirala na $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ tijekom 48 sati. Filter s poraslim kolonijama prenosi se na BAA agar (eng. Bile Aesculine agar, žučni eskulin azid agar) i inkubira se 2 sata na temperaturi od $40\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Crijevni enterokoki hidroliziraju eskulin čiji krajnji produkt reagira sa željezovim (II) ionima iz BAA agara pri čemu nastaje crno obojeni kompleks koji difundira u podlogu, kao što je prikazano na Slici 12.



*Slika 12. Crijevni enterokoki na SBA agaru (lijevo) i na BAA agaru (desno)
Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije*

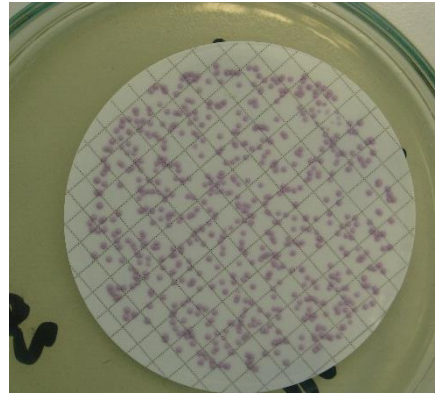
3.5. *Staphylococcus aureus*

Za detekciju i brojanje *Staphylococcus aureus* korištena je akreditirana standardna metoda američkog javnozdravstvenog udruženja (eng. American Public Health Association – APHA), Standard methods, 23rd Ed. 9312 B, 2017. Tehnikom membranske filtracije 100 mL uzorka profiltrira se kroz bijeli, sterilni graduirani filter od celuloznog nitrata s veličinom pora od 0,22 µm. Filter se aseptično prenosi na selektivnu podlogu BP egg agar (Braid Parker + eng. Egg Yolk hranjivi agar) i kultivira se 48 sati na temperaturi 36±2°C. Tipične kolonije *S.aureus* su crne do sive boje, svjetlucave, konveksne (promjera 1,5-2,5 mm nakon 48 sati inkubacije), okružene čistom zonom, što je vidljivo na Slici 13. Nakon najmanje 24 sata može se pojaviti unutar bistre zone opalescentni prsten u neposrednom kontaktu s kolonijom. Suspektne kolonije nasađene su na BHI bujon (eng. Brain-Heart Infusion bujon) i inkubirane 24 sata na temperaturi 36±2°C. Nakon toga je napravljen koagulaza test s plazmom kunića. Pozitivan koagulaza test diferencira *S. aureus* od ostalih *Staphylococcus spp.* Osim koagulaza testa rađeni su i mikroskopski preparat, katalaza test, razgradnja manitola i DNA-za test.



Slika 13. *Staphylococcus aureus* na BP egg agaru

Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije



Slika 14. *Staphylococcus aureus*

Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije

3.6. *Clostridium Perfringens*

Za određivanje i brojanje *Clostridium perfringens* korištena je normirana i akreditirana metoda HRN EN ISO 14189:2016. Nakon membranske filtracije 100 mL uzorka kroz filter MCE veličine pora 0,45 μm, filter se aseptično prenosi na selektivnu podlogu TSC agar (eng. Tryptose sulphite cycloserin agar) te se inkubira anaerobno na 44±1°C tijekom 24 sata. Porasle crne ili sive do žuto-smeđe kolonije dalje se presađuju na krvni agar te se anaerobno kultiviraju na 36±2°C tijekom 24 sata. Potvrdni test za *Clostridium perfringens*, kiselom fosfatazom, provodi se tako da se sumnjive kolonije razmažu po filter papiru te se na njih nanese 2-3 kapi reagensa kisele fosfataze. Pojava ljubičaste boje u roku od 3 do 4 minute smatra se pozitivnom reakcijom i dokazom *Clostridium perfringens*.

3.7. OSTALE VRSTE BAKTERIJA

Identifikacija nepoznatih bakterijskih vrsta rađena je pomoću instrumenta VITEK®2 COMPACT i API testom.

API® ID strip range, indeks analitičkog profila, klasifikacija je bakterija na temelju biokemijskih testova što omogućuje brzu identifikaciju bakterija. S višestrukim biokemijskim reakcijama u stripovima s po 20-ak testova te uz široku bazu podataka identifikacija bakterija pomoću API® je pouzdana i točna za prepoznavanje općeprisutnih i poznatih bakterijskih vrsta.

Vitek[®] 2 COMPACT je sustav koji koristi fluorogenu metodologiju za identificiranje organizama i turbidimetrijsku metodu za testiranje osjetljivosti pomoću kartice na kojoj se nalazi oko 60 testova. Opsežan broj i izbor testova omogućuju identifikaciju bakterijske vrste i vidljivost unutar 5 sati.

3.8. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Statistička obrada rezultata provedena je pomoću programa Microsoft Excel 2016 i programa Tibco Statistica 14.0.0. 15 softverskog paketa (Tibco Software Inc., Palo Alto, CA, USA). Za grafičku obradu podataka korištena je deskriptivna statistika: srednja vrijednost rezultata u programu Microsoft Excel i Median test Kruskal-Wallis H testa u programu Tibco Statistica, jer dobiveni podaci nemaju „normalnu“, odnosno Gaussovu raspodjelu. Za statističku obradu rezultata korišteni su neparametrijski testovi, Kruskal-Wallis H Test (K-W H) i Spearmanova korelacija, kod kojih je statistički značajna razlika određena na razini pouzdanosti $p \leq 0,05$.

4. REZULTATI

Na ukupnom broju od 573 ispitanih uzoraka voda koje se koriste u hemodijalizi izolirane su i identificirane 23 bakterijske vrste, koje su navedene u Tablici 2.

Tablica 2. Bakterijske vrste izolirane iz uzoraka vode za hemodijalizu iz četiri centra za hemodijalizu u Primorsko-goranskoj županiji

Redni broj	Naziv bakterije	Raspon broja bakterija [CFU/100mL]	Broj pozitivnih uzoraka
1.	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	10 - 2000	4
2.	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	2000	1
3.	<i>Aeromonas hydrophila</i>	4	1
4.	<i>Escherichia coli</i>	1	2
5.	<i>Neisseria animaloris</i>	2000	2
6.	<i>Neisseria zoodegmatis</i>	2000	2
7.	<i>Oligella ureolytica</i>	2000	2
8.	<i>Pantoea spp.</i>	1300	2
9.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3 - 1300	4
10.	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	60 - 260	3
11.	<i>Ralstonia insidiosa</i>	22 - 1300	4
12.	<i>Ralstonia mannitolilytica</i>	500-1300	3
13.	<i>Ralstonia picketti</i>	1300	1
14.	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	600	2

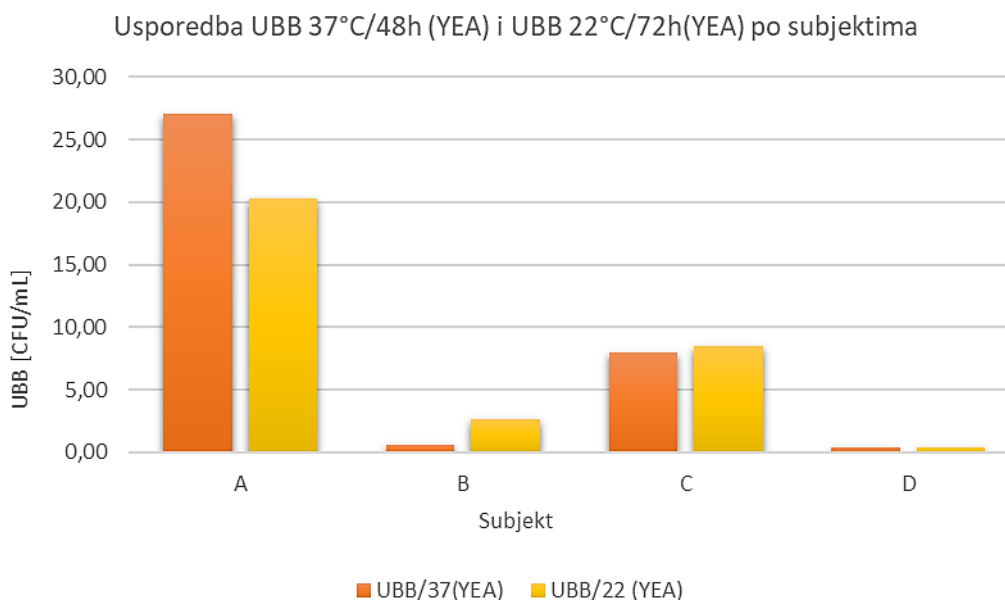
15.	<i>Staphylococcus aureus</i>	1-35	3
16.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1
17.	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1 - 2	2
18.	<i>Staphylococcus hominis</i>	4	1
19.	<i>Staphylococcus warneri</i>	2-8	2
20.	<i>Streptococcus mitis</i>	10 – 20	2
21.	<i>Streptococcus oralis</i>	10 – 20	2
22.	Ukupne koliformne bakterije	1-14	5
23.	Crijevni enterokoki	1	1

Nadalje, usporedbom dobivenih vrijednosti pokazatelja UBB na dvjema temperaturama (37°C/48 h i 22°C/72 h) između različitih centara za hemodijalizu, izračunate su za svaki pojedini skup podataka srednje vrijednosti koje se nalaze u Tablici 3.

Tablica 3. Srednje vrijednosti UBB 37°C/48 h i UBB 22°C/72 h izraženih u CFU/mL za četiri hemodijalizna centra (subjekta)

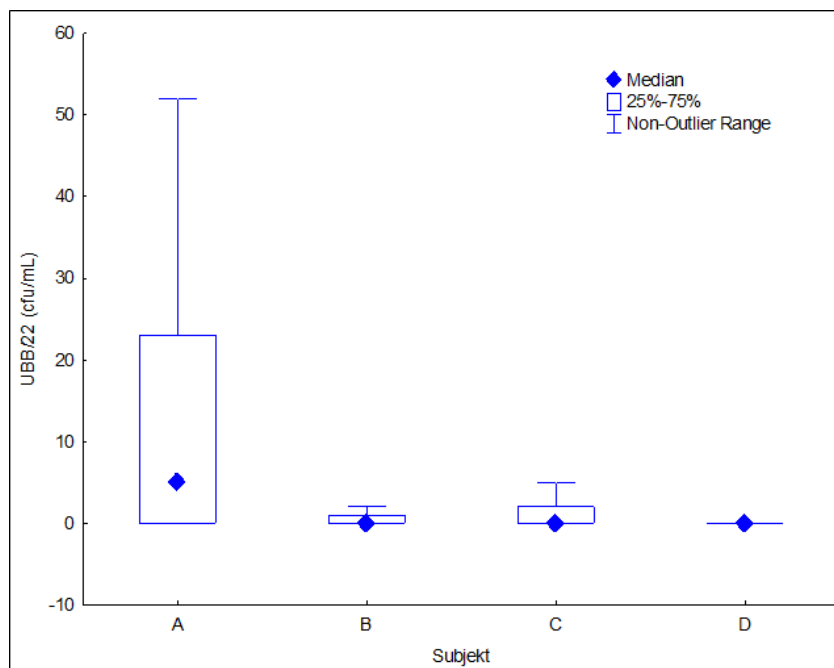
Subjekt	Broj analiziranih uzoraka, n	Srednja vrijednost UBB 37°C/48 h (YEA) [CFU/mL]	Srednja vrijednost UBB 22°C/72 h (YEA) [CFU/mL]
A	297	27,06	20,32
B	101	0,62	2,70
C	107	7,96	8,50
D	68	0,43	0,43

Na temelju dobivenih srednjih vrijednosti izrađen je grafički prikaz (Slika 15.) iz kojeg je vidljivo da centar za hemodijalizu A ima najveću srednju vrijednost UBB i na temperaturi 37°C/48 h (27,06 CFU/mL) i na temperaturi 22°C/72 h (20,32 CFU/mL), a ujedno ima i najveći broj analiziranih uzoraka (n=297). Najmanju srednju vrijednost pokazatelja UBB na temperaturi 37°C/48 h i na 22°C/72 h ima centar za hemodijalizu D, koji ima najmanji broj analiziranih uzoraka (n=68).

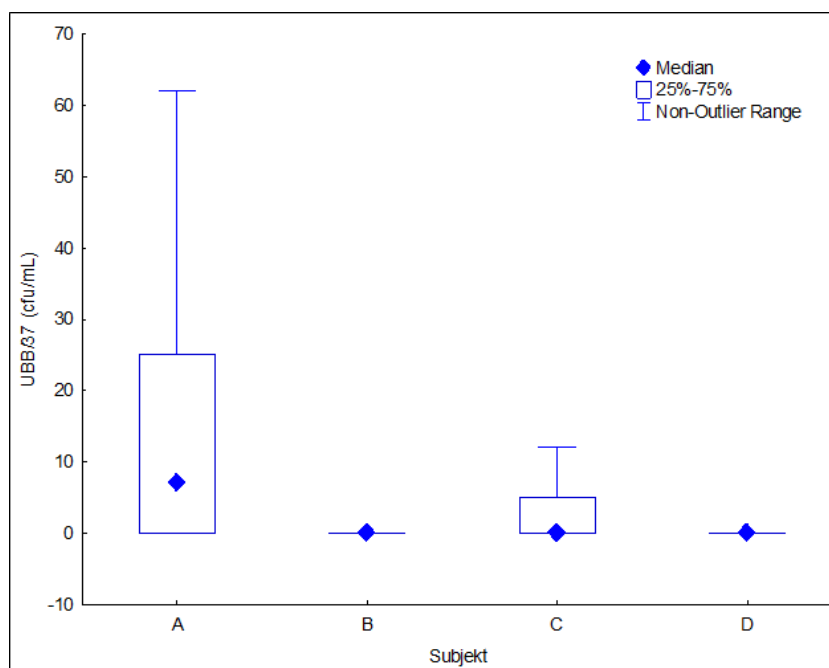


Slika 15. Usporedba srednjih vrijednosti pokazatelja UBB (YEA agar) izraženog u CFU/mL pri temperaturama 37°C/48 h i 22°C/72 h između četiri hemodijalizna centra (subjekta): A, B, C, D

Kruskal-Wallis H test je ukazao da između medijana pojedinih skupina podataka postoje statistički značajne razlike. *Post hoc* testom višestrukog uspoređivanja utvrđeno je da hemodijalizni centar A ima statistički značajno veći medijan vrijednosti UBB na obje ispitane temperature 37°C/48 h i 22°C/72 h u odnosu na ostale centre uključene u istraživanje (Slike 16. i 17.). Kod temperature od 37°C/48 h statistički se značajno razlikuju i hemodijalizni centar B od C te C od D dok pri temperaturi od 22°C/72 h kod ostalih centara nije utvrđena statistički značajna razlika.



Slika 17. Usporedbe medijana za vrijednosti UBB 22°C/72 h izraženih u CFU/mL između 4 hemodijalizna centra (subjekta): A, B, C, D; Kruskal-Wallis H test (minimum, maksimum, donji i gornji kvartil te medijan)



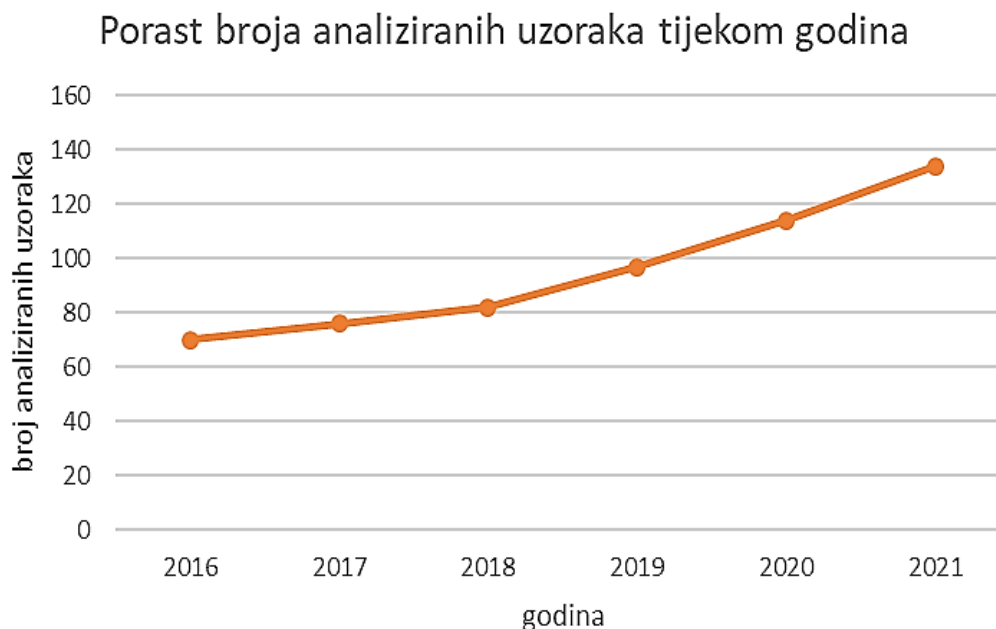
Slika 16. Usporedbe medijana za vrijednosti UBB 37°C/48 h izraženih u CFU/mL između 4 hemodijalizna centra (subjekta): A, B, C, D; Kruskal-Wallis H test (minimum, maksimum, donji i gornji kvartil te medijan)

Tablica 4. prikazuje izračunate srednje vrijednosti svakog skupa podataka za UBB na dvjema temperaturama tijekom 6 godina (2016.-2021.)

Tablica 4. Srednje vrijednosti UBB 37°C/48 h i UBB 22°C/72 h izraženih u CFU/mL tijekom 6 godina

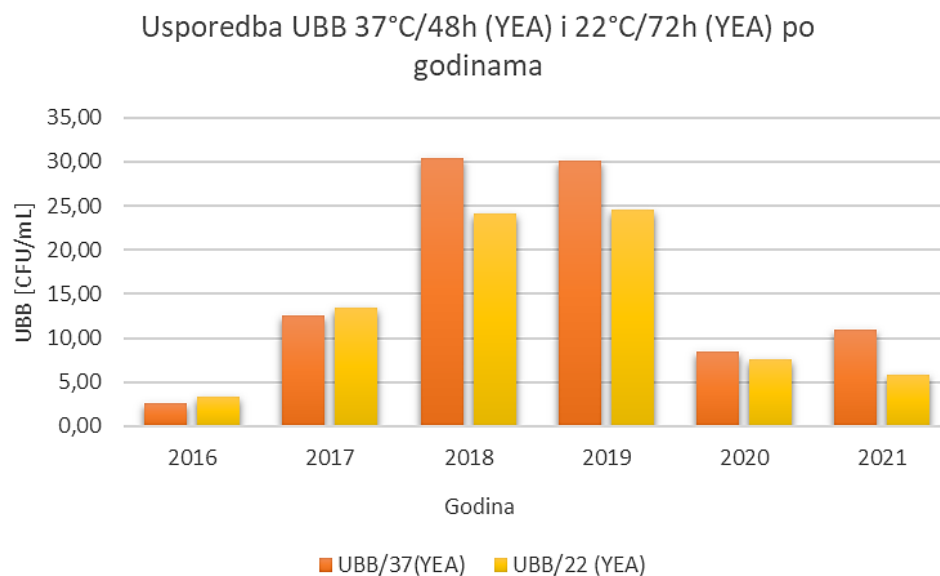
Godina	Broj analiziranih uzoraka, n	UBB/37(YEA)	UBB/22 (YEA)
2016	70	2,64	3,29
2017	76	12,58	13,43
2018	82	30,46	24,12
2019	97	30,10	24,57
2020	114	8,46	7,54
2021	134	10,89	5,80

Na linijskom grafikonu, Slika 18., koji je izrađen na temelju podataka o broju analiziranih uzoraka iz Tablice 4., jasno se vidi kako je broj analiziranih uzoraka godišnje u porastu tijekom 6 godina.



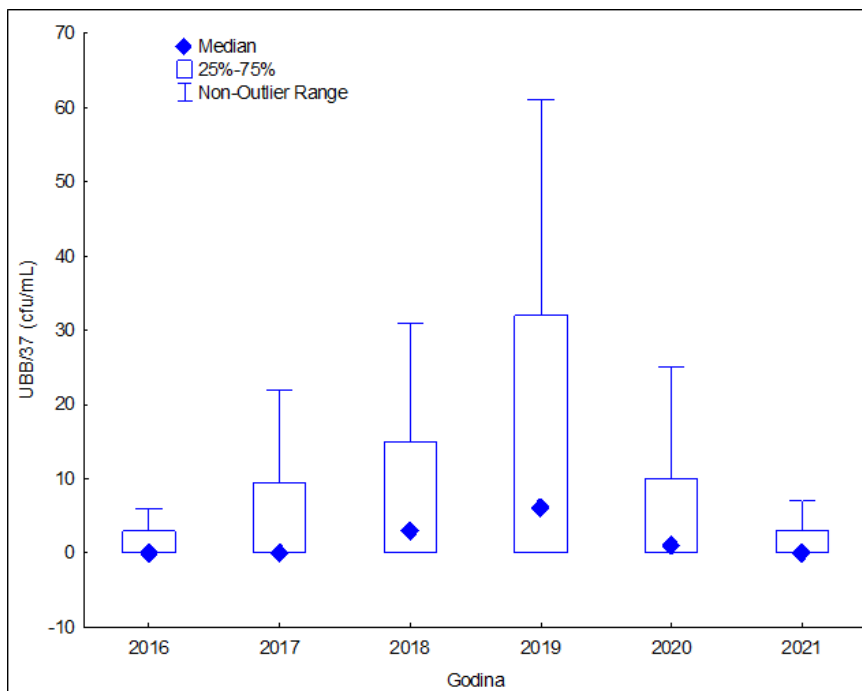
Slika 18. Grafički prikaz porasta broja analiziranih uzoraka vode za potrebe hemodijalize tijekom 6 godina: 2016.-2021.

Na Slici 19., grafički prikaz srednjih vrijednosti UBB tijekom 6 godina pokazuje da je u 2018. godini najveća srednja vrijednost UBB na 37°C/48 h (30,46 CFU/mL). Međutim na temperaturi 22°C/72 h najveća srednja vrijednost bila je u 2019. godini (24,57 CFU/mL). Najmanja srednja vrijednost UBB utvrđena na obje temperature bila je u 2016. godini, u kojoj je najmanji broj analiziranih uzoraka (n=70).

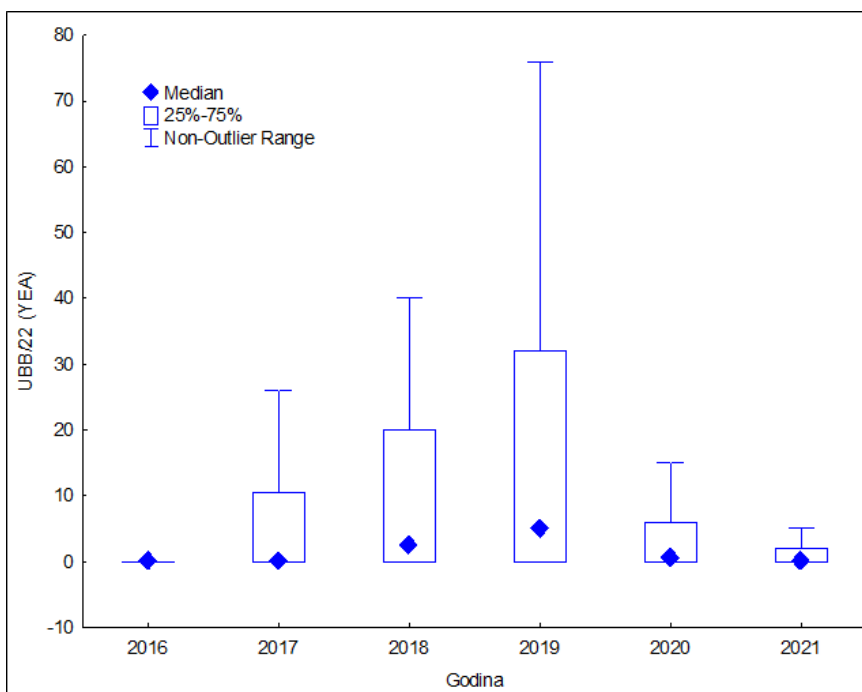


Slika 19. Usporedba srednjih vrijednosti pokazatelja UBB (YEA agar) izraženog u CFU/mL pri temperaturama 37°C/48 h i 22°C/72 h tijekom šest godina: 2016.- 2021.

Kruskal-Wallis H testom (Slika 20. i Slika 21.) utvrđene su statistički značajne razlike među medijanima pojedinih grupa podataka na objema temperaturama. *Post hoc* testom višestrukog uspoređivanja utvrđeno je da 2019. godina ima statistički značajno veći medijan vrijednosti UBB na obje ispitane temperature (37°C/48h i 22°C/72h) u usporedbi s ostalim godinama uključenim u istraživanje. Na obje temperature, statistički značajno se razlikuju medijani vrijednosti UBB za 2016. i 2018. te 2016. i 2019. godinu, zatim 2017. i 2019. godinu, 2018. i 2021. godinu, 2019. i 2020. godinu te 2019. i 2021. godinu, dok između ostalih godina nema statistički značajnih razlika.



Slika 20. Usporedbe medijana za vrijednosti UBB 37°C/48 h izraženih u CFU/mL tijekom 6 godina: 2016.-2021.; Kruskal-Wallis H test (minimum, maksimum, donji i gornji kvartil te medijan)



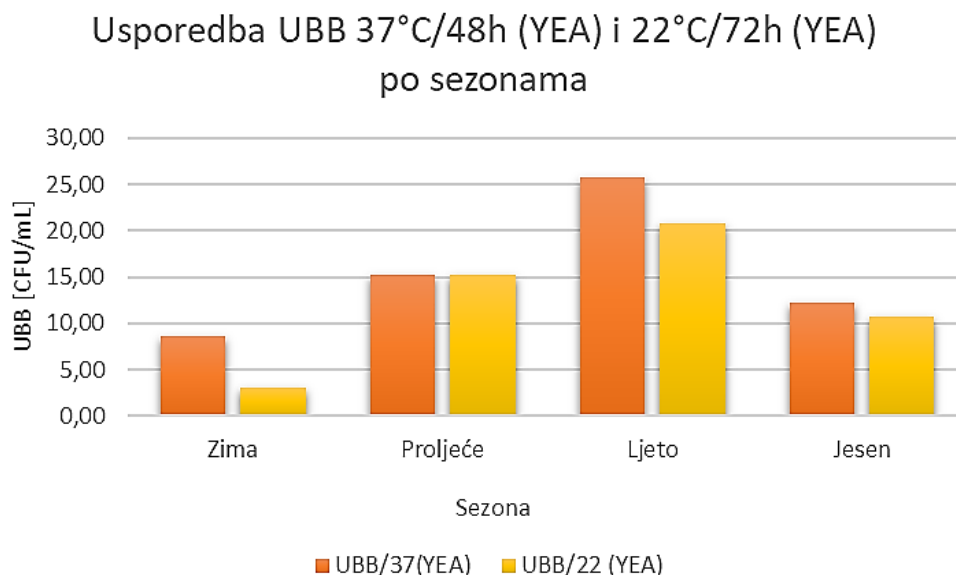
Slika 21. Usporedbe medijana za vrijednosti UBB 22°C/72 h izraženih u CFU/mL tijekom 6 godina: 2016.-2021.; Kruskal-Wallis H test (minimum, maksimum, donji i gornji kvartil te medijan)

Izračunate srednje vrijednosti UBB za svaki pojedini skup podataka na dvjema temperaturama prikazane su u Tablici 5.

Tablica 5. Srednje vrijednosti UBB 37°C/48 h i UBB 22°C/72 h izraženih u CFU/mL za četiri sezone

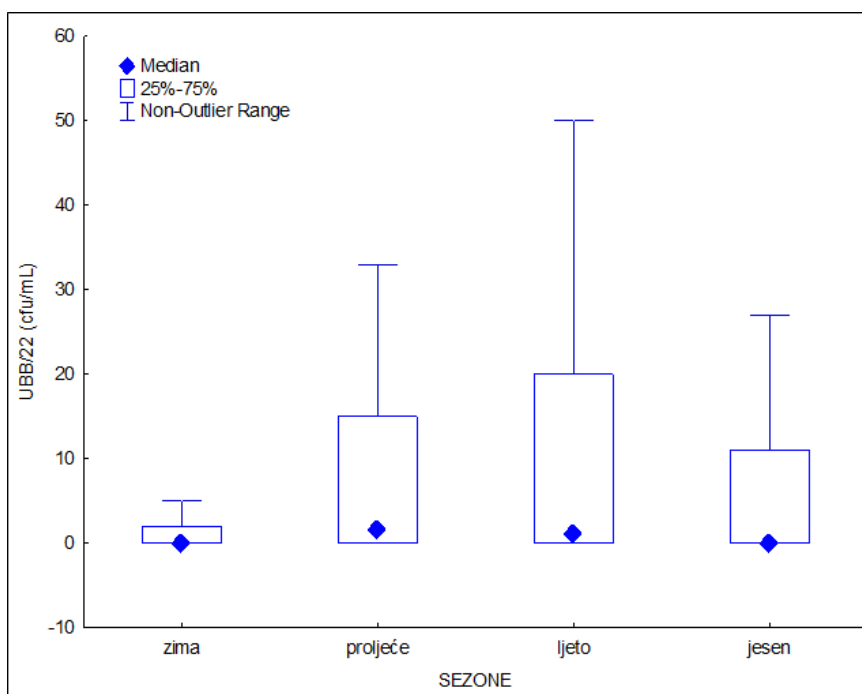
Sezona	Broj analiziranih uzoraka, n	UBB/37(YEA)	UBB/22 (YEA)
Zima	130	8,63	3,00
Proljeće	130	15,32	15,18
Ljeto	150	25,79	20,86
Jesen	163	12,28	10,77

Na temelju dobivenih srednjih vrijednosti izrađen je grafički prikaz (Slika 22.) na kojem je vidljivo da je najveća srednja vrijednost UBB ljetnoj sezoni na temperaturi 37°C/48 h (25,79 CFU/mL) i 22°C/72 h (20,86 CFU/mL). Najmanja srednja vrijednost UBB je bila u zimskoj sezoni za obje ispitane temperature (8,63 CFU/mL na 37°C/48 h i 3,00 CFU/mL na 22°C/72 h).

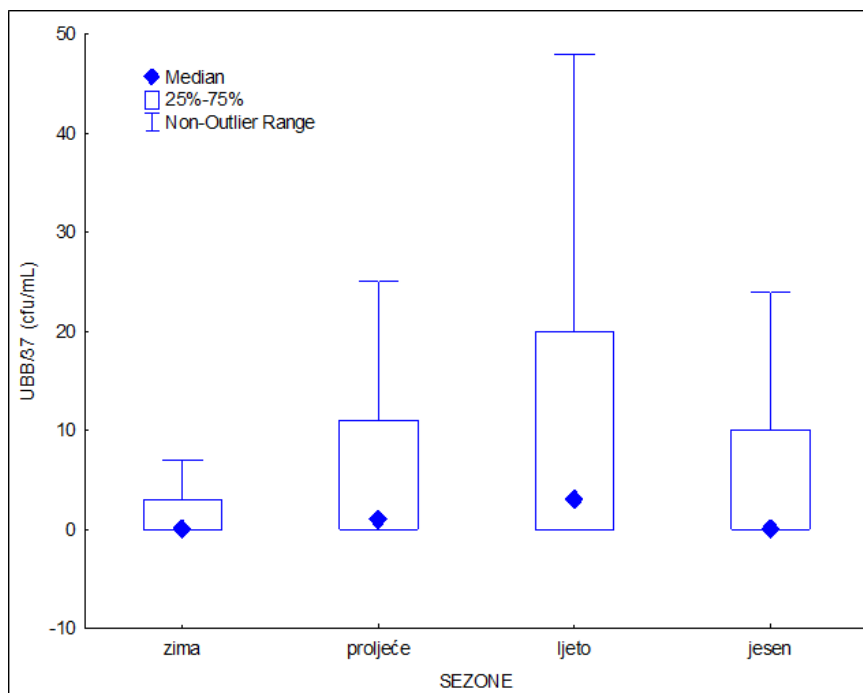


Slika 22. Usporedba srednjih vrijednosti pokazatelja UBB (YEA agar) izraženog u CFU/mL pri temperaturama 37°C/48 h i 22°C/72 h po sezonama: Zima, Proljeće, Ljeto, Jesen

Kruskal-Wallis H test pokazao je da se medijani pojedinih skupina rezultata međusobno statistički značajno razlikuju. Iz *Post hoc* testa višestruke usporedbe vidljivo je da ljetna sezona ima statistički značajno veći medijan vrijednosti UBB od ostalih sezona na obje ispitane temperature. Utvrđeno je da se na temperaturi 37°C/48h statistički značajno razlikuju medijani vrijednosti UBB između ljetne i zimske sezone, dok se između ostalih sezona nije utvrdila statistički značajna razlika. Pri temperaturi 22°C/72 h utvrđena je statistički značajna razlika u vrijednostima UBB između zime i proljeća, zime i ljeta te zime i jeseni, dok između ostalih sezona bilo statistički značajnih razlika u UBB na navedenoj temperaturi.



Slika 24. Usporedbe medijana za vrijednosti UBB 37°C/48 h izraženih u CFU/mL po sezonama: Zima, Proljeće, Ljeto, Jesen; Kruskal-Wallis H test (minimum, maksimum, donji i gornji kvartil te medijan)



Slika 23. Usporedbe medijana za vrijednosti UBB 37°C/48 h izraženih u CFU/mL po sezonama: Zima, Proljeće, Ljeto, Jesen; Kruskal-Wallis H test (minimum, maksimum, donji i gornji kvartil te medijan)

Spearmanovom korelacijom, koja je prikazana na Slici 25., utvrđeni su korelacijski odnosi između pojedinačnih vrsta bakterija i njihova povezanost s vrijednostima UBB na temperaturama 37°C/48 h i 22°C/72 h, a ova vrsta statističkog testa korištena je jer postoje rezultati u kojima UBB značajno odstupa od većine izmjerenih rezultata. Iz rezultata dobivenih provođenjem testa Spearmanove korelacije utvrđene su sljedeće korelacije sa statistički značajnim razlikama:

- Porast vrijednosti UBB na 37°C/48 h i 22°C/72 h u uzorku praćen je statistički značajnim porastom broja *P. aeruginosa*.
- Porast broja ukupnih koliformnih bakterija, praćen je statistički značajnim rastom broja kolonija *E. coli*.
- Utvrđena je pozitivna povezanost pokazatelja UBB na 22°C/72 h i UBB na 37°C/48 h.

Spearman Rank Order Correlations (Spreadsheet45)									
MD pairwise deleted									
Marked correlations are significant at $p < .05000$									
Variable	SA	PA	CP	Proteus	ENT	EC	UK	UBB/37(YEA)	UBB/22 (YEA)
SA	1,000000	-0,006093			-0,004301	-0,004301	-0,007489	0,055089	0,060131
PA	-0,006093	1,000000			-0,004971	-0,004971	-0,008655	0,088227	0,098583
CP			1,000000						
Proteus				1,000000					
ENT	-0,004301	-0,004971			1,000000	-0,003503	-0,006099	0,034273	-0,006562
EC	-0,004301	-0,004971			-0,003503	1,000000	0,575312	0,025646	-0,015213
UK	-0,007489	-0,008655			-0,006099	0,575312	1,000000	0,038017	0,035155
UBB/37(YEA)	0,055089	0,088227			0,034273	0,025646	0,038017	1,000000	0,718280
UBB/22 (YEA)	0,060131	0,098583			-0,006562	-0,015213	0,035155	0,718280	1,000000

Slika 25. Spearmanova korelacija

5. RASPRAVA

U šestogodišnjem razdoblju, od početka 2016. do kraja 2021. godine u 4 različita centra za hemodijalizu u Primorsko-goranskoj županiji utvrđene su 23 vrste bakterija. Najviše bakterijskih vrsta izolirano je u uzorcima za hemodijalizni centar A (22 od ukupno 23 vrste). Istraživanja iz Europe i svijeta vezana za neke od utvrđenih vrsta bakterija pojašnjavaju njihov utjecaj na ljudsko zdravlje i načine na koji se pojavljuju u sustavima hemodijalize.

5.1. *Achromobacter xylosoxidans*

Achromobacter xylosoxidans pronađen je u uzorcima vode uzorkovanim u centru za hemodijalizu A, u permeatu – čistoj vodi nakon procesa reverzne osmoze, a broj kolonija iznosio je najviše 2000 CFU/100 mL. *A. xylosoxidans* je Gram (-), aerobni, oksidaza pozitivni, nefermentirajući bacil.

Navedena bakterija prirodno se nalazi u ljudskom organizmu, pretežito u koži i probavnom traktu, a za imunokompromitirane osobe može biti vrlo patogen i uzrokovati različite oblike infekcija, npr. meningitisa i bakterijemije – prisutnosti bakterija u krvnome protoku. Španjolski rad iz 2014. godine (14) opisuje pojavu *A. xylosoxidans* kod dva pacijenta na hemodijalizi u istom centru za hemodijalizu na isti datum. U prvom slučaju, imunokompromitirana pacijentica iz (hipertenzija, dijabetes, pretilost), nakon tretmana hemodijalizom, primljena je u bolnicu s klasičnim simptomima povezanim s bakterijemijom – povišenom temperaturom i drhtavicom. Analize su potvrdile pozitivnu hemokulturu na *Staphylococcus aureus*, dok su pozitivne kulture *A. xylosoxidans* i *Enterococcus faecalis* utvrđene nalazom s katetera. Stanje pacijentice se poboljšalo kombiniranom terapijom antibioticima za ove tri bakterije. Drugi slučaj odnosio se na pacijenta oboljelog od kronične bubrežne bolesti i kroničnog glomerulonefritisa na višegodišnjoj hemodijalizi. Na vaskularnom pristupu za liječenje hemodijalizom pojavila se ulceracija (stvaranje čira) na koži iz koje je izolirana bakterijska vrsta *A. xylosoxidans*. Mogući razlozi infekcije su prijenos odjećom ili rukama zdravstvenih djelatnika ili kontaminacija dijalizata. Antibiotička terapija se pokazala neuspješnom te je uklonjena fistula i ugrađen novi vaskularni pristup (14).

5.2. *Acinetobacter lwoffii*

Acinetobacter lwoffii utvrđen je u uzorcima vode analiziranim za centar za hemodijalizu A, u permeatu, u količini od 2000 CFU/100 mL. To je Gram (-), aerobna, oksidaza negativna,

nefermentirajuća bakterija (bacil) koja obično kolonizira kožu, no može uzrokovati i bakterijemije kod hospitaliziranih bolesnika. Najčešće se izolira iz hrane. Za *A. lwoffii* u literaturi nisu pronađeni članci koji povezuju bakteriju s hemodijalizom.

5.3. *Aeromonas hydrophila*

Aeromonas hydrophila pronađen je u uzorcima vode koji su analizirani za centar za hemodijalizu A u permeatu, u količini kolonija 4 CFU/100 mL. To je Gram (-), oksidaza pozitivan, fermentirajući, fakultativno anaeroban bacil.

Navedena bakterija koja živi u vodenom okolišu, može se naći u ribi, pticama i prirodnoj zemlji. Često uzrokuje infekcije kod imunokompromitiranih domaćina. Može uzrokovati probavne i neprobavne infekcije, najčešće bubrežne bolesti, bakterijemije, sepsu, meningitis, pneumonije i respiratorne infekcije. U radu iz Pakistana, iz 2013. godine (15) znanstvenici su predstavili slučaj infekcije *A. hydrophila* kod imunokompromitiranog pacijenta (hipertireoza, ishemijska bolest srca i zatajenje bubrega) zbog čega je u njegovo liječenje uveden tretman hemodijalizom kroz centralni venozni kateter. Pacijent je primljen u bolnicu sa simptomima povišene tjelesne temperature, blagog kašlja, pjenastog sputuma i iskašljavanja krvi. Uzet je uzorak krvi iz periferne vene i bris katetera za dijalizu. Oba uzorka su bila pozitivna na prisustvo *A. hydrophila*. Međutim, u uzorku otopine za hemodijalizu nije porasla nijedna bakterijska vrsta. Pacijentu je uklonjen kateter nakon obavljene hemodijalize, a za liječenje infekcije propisana mu je terapija antibioticima. Prema tvrdnjama znanstvenika iz Pakistana, infekcija *A. hydrophila* rijetko se povezuje s kontaminacijom katetera, odnosno češća je mogućnost inficiranja preko kontaminirane vode za hemodijalizu i dijalizata. Znanstvenici smatraju kako se je infekcija *A. hydrophila* u ovom slučaju mogla proširiti kožnim putem što je dovelo do širenja bakterija preko kože do otvorenog pristupa katetera. Isto tako, postoji mogućnost kontaminacije kontaktom od strane pacijenta ili od strane zdravstvenih djelatnika koji su prethodno bili u dodiru s kontaminiranom vodom ili otopinom za hemodijalizu. Kao najbolje rješenje za oporavak pacijenta svakako je istaknuto pravovremeno uklanjanje katetera i brza reakcija terapijom antibioticima (15).

5.4. *Escherichia coli*

Escherichia coli pronađena je u uzrocima vode koji su analizirani za centar za hemodijalizu A, u permeatu, u količini 1 CFU/100 mL. *E. coli* je Gram (-), oksidaza pozitivan, fermentirajući i fakultativno anaeroban bacil.

E. coli je jedan od rutinskih pokazatelja zdravstvene ispravnosti vode prema Pravilniku (NN 125/17, NN 39/20) koja se analizira u laboratoriju za mikrobiologiju voda u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije. Jedan je od najčešćih patogena mokraćnog sustava, osobito u slabije razvijenim zemljama. U francuskom radu iz 2019. godine (16) opisan je slučaj pacijentice na hemodijalizi tretirane terapijom zračenjem radi raka maternice. U bolnicu je primljena zbog povišene temperature, opće slabosti i diareje. Kronična diareja kod pacijentice uzrokovana je radijacijskim rektitisom zbog terapija zračenjem. U hemokulturi je izolirana *E. coli* otporna na amoksisicilin (antibiotik). Terapiju antibioticima primala je 2 tjedna, nakon čega je primljena na jedinicu intenzivnog liječenja zbog intenzivnog plućnog edema te je nekoliko sati kasnije razvila akutnu ishemiju donjeg lijevog ekstremiteta. Nakon većih komplikacija dijagnosticiranih na srcu, svi znakovi su upućivali na dijagnozu nativnog endokarditisa i arterijske embolije, a to su uzroci ishemije lijevog uda. Po završetku operativnog zahvata, došlo je do zatajenja srca i pacijentica je uslijed komplikacija umrla. Iz kirurških uzoraka embolusa i srčanog zalistka izolirana je *E. coli* koja proizvodi β -laktamazu. Znanstvenici su istaknuli kako je *E. coli* rijedak uzročnik infektivnog endokarditisa, a nijedna studija nije posebno istraživala svojstva i rezultate infektivnog endokarditisa *E. coli*. U radu je zaključeno kako postoje velike poteškoće u dijagnosticiranju infektivnog endokarditisa kod pacijenata, osobito ako pacijent nema nikakvih kliničkih simptoma ili ako ne postoji bakteriološka naznaka. Također, liječnici trebaju imati na umu da je hemodijaliza jedan od većih čimbenika rizika za razvoj endokarditisa. Endokarditis izazvan *E. coli* može se liječiti kombiniranim terapijama antibioticima, a u težim slučajevima važna je i brza kirurška intervencija (16).

5.5. *Neisseria animaloris* i *Neisseria zoodegmatis*

U uzorcima vode, odnosno permeata za centar za hemodijalizu A utvrđene su bakterijske vrste *Neisseria animaloris* i *Neisseria zoodegmatis* s ukupnim brojem poraslih kolonija 2000 CFU/100 mL. One su fakultativno anaerobni, Gram (-), oksidaza pozitivni koki.

Najčešće infekcije povezane s ugrizima životinja su infekcije rana koje su obično polimikrobne i uključuju različite vrste bakterija. *N. animaloris* i *N. zoodegmatis* su rijetki patogeni koji se prenose ugrizom mačaka i pasa, najčešće se izoliraju iz normalne flore usne šupljine tih životinja. Ljudske infekcije *N. animaloris* i *N. zoodegmatis* obično su lokalne infekcije rana, no mogući su razvoji ozbiljnijih komplikacija poput bakteriemije, sepse, endoftalmitisa – upale dijelova oka (17). U pretraženoj literaturi ne postoje podaci na temelju kojih se ove dvije bakterije mogu povezati sa sustavom hemodijalize, no svakako treba imati na umu da je najvažniji faktor prevencije infekcija ovim bakterijama pravilna higijena pacijenata, ali i zdravstvenih djelatnika na hemodijalizi, koji imaju kućne ljubimce.

5.6. *Oligella ureolytica*

Oligella ureolytica pronađena je u uzorcima permeata za centar za hemodijalizu A, u količini od 2000 CFU/100 mL. Ubraja se u aerobne, Gram (-), oksidaza pozitivne kokobacile.

O. ureolytica pripada rodu *Oligella*, pojavljuje se prvotno u mokraći, osobito kod pacijenata koji dugotrajno imaju ugrađene sustave za odvođenje mokraće. Inficirane osobe sklone su razvoju kamenca u mokraćnom mjehuru, a bakteriemija je zabilježena kod pacijenata s opstruktivnom uropatijom – poremećajem normalnog protoka mokraće. Infekcije *O. ureolytica* dijagnosticiraju se kulturom bakterija (18). U pretraženoj literaturi ne postoje podaci i istraživanja koja povezuju *O. ureolytica* i infekcije pacijenata tijekom tretmana hemodijalizom.

5.7. *Pantoea spp.*

Pantoea spp. pronađena je u uzorcima vode za centar za hemodijalizu A, u permeatu, a broj kolonija je 1300 CFU/100 mL. Ova bakterija je fakultativno anaeroban, Gram (-), oksidaza negativan, pokretan bacil.

Vrste roda *Pantoea* mogu se izolirati iz tla, vode, biljaka, sjemenja, ali i iz ljudskog i životinjskog probavnog sustava. Pronalaze se i u krvi i urinu. Oportunistički su patogeni i uzročnici su infekcija mokraćnog sustava, infekcija kirurških rana i infekcija krvotoka kod osoba koje imaju ugrađene katetere. U španjolskom radu iz 2020. godine (19) opisana je pojava epidemije bakteriemije uzrokovane *Pantoea spp.* bakterijom u jednom centru za hemodijalizu, gdje su se u istom tjednu pojavila 3 slučaja kod pacijenata u različitim smjenama, na različitim aparatima za hemodijalizu uz nadzor različitog medicinskog osoblja. U centru je bilo ukupno 30 pacijenata, svi

su imali ugrađene jugularne centralne venozne katetere. Troje pacijenata, koji su zahvaćeni infekcijom mikroorganizma, na mjestu obavljanja hemodijalize u prvom satu procesa dobili su simptome povišene temperature do 40°C, slabog općeg stanja, a kod dvoje od troje pacijenata javilo se i povraćanje. Uzete su hemokulture iz katetera i pozitivne su na bakterije iz roda *Pantoea*. Obavljena su epidemiološka i mikrobiološka istraživanja na uređaju za hemodijalizu, uzeti su uzorci i izrađene su kulture vode nakon pročišćavanja, tekućine za dijalizu, pufera te iz dijalizatora i sustava cijevi za odvođenje i dovođenje tekućine u uređaj, te konačno u odvodima gdje se je potvrdio rast *Pantoea spp.* Moglo se pretpostaviti da je zdravstveno osoblje prijenosnik navedene bakterije, s obzirom da nakon kontakta s vodom rukuju s vaskularnim pristupima uređaja za hemodijalizu. Nakon otkrivanja pojave *Pantoea spp.*, pravilnog čišćenja i dezinfekcije sustava za hemodijalizu te ažuriranja protokola zdravstvenih djelatnika za rukovanje vodom i uređajem za hemodijalizu, više nije bilo novih slučajeva infekcije. Znanstvenici ističu da su čimbenici sigurnog provođenja terapije hemodijalizom pravovremeno otkrivanje patogena, definiranje kritičnih točaka i brza reakcija u svrhu sprječavanja daljnjeg širenja mikroorganizma (19).

5.8. *Pseudomonas aeruginosa* i *Pseudomonas stutzeri*

Pseudomonas aeruginosa pronađen je u uzorcima vode analiziranim za centar za hemodijalizu A, u permeatu i u uzorku iz umivaonika, u količinama od 3 CFU/100 mL, 130 CFU/100 mL i 1300 CFU/100 mL. U uzorcima vode za centar za hemodijalizu A, u dijalizatu pronađena je bakterija *Pseudomonas stutzeri*, u količinama od po 60 CFU/100 mL i 130 CFU/100 mL. Uzorak vode iz pripreme za hemodijalizu iz centra za hemodijalizu C sadržavao je 260 CFU/100 mL *P. stutzeri*. *Pseudomonas spp.* su Gram (-), oksidaza pozitivni, nefermentirajući bacili. *P. aeruginosa* je se, među ostalima, analizira kao rutinski pokazatelj zdravstvene ispravnosti vode prema Pravilniku (NN 125/17, NN 39/20) u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije.

Bakterije iz roda *Pseudomonas* obično se nalaze u tlu i vodi, no mogu se izolirati i iz grla, kože, pa čak i iz stolice zdrave osobe. U bolničkom okruženju *Pseudomonas* može kolonizirati hranu, umivaonike, tuševe, kupaonske prostore poput podova, zidova, opremu za disanje, opremu za čišćenje bolnica, dezinfekcijske otopine za ruke, a osoba se može zaraziti preko predmeta te ingestijom kontaminirane hrane i vode. Izraelski rad iz 2013. godine (20) opisuje pojavu epidemije *P. aeruginosa* u centru za hemodijalizu u ustanovi za dugotrajnu njegu bolesnika. Na temelju

epidemioloških i mikrobioloških istraživanja utvrđeni su čimbenici rizika u pacijenata, izvori infekcije i načini prijenosa infekcije. Kod 12 pacijenata, koji su imali ugrađeni tunelirani kateter – „permcath“ ukupno je zabilježeno 18 slučajeva infekcije *P. aeruginosa*. 9 pacijenata, koji su imali ugrađenu atrio-vensku fistulu, imali su negativan nalaz. Sve tekućine za dijalizu imale su negativne nalaze na *P. aeruginosa*. Pozitivne kulture imali su uzorci ruku nekoliko zdravstvenih djelatnika, glava tuša i podovi kupaonica pacijenata te kupaonski stolac. Čak je jedan pozitivan nalaz pacijenta bio identičan pozitivnom nalazu glave tuša. Uzrok infekcija je nedostatak pažnje zdravstvenog osoblja prilikom mijenjanja obloga na kateterima tijekom kupanja pacijenata. Autori ističu da se zdravstveno osoblje mora pridržavati uputa za održavanje katetera kako bi se smanjio rizik od infekcije i kako bi se povećala sigurnost za zdravlje pacijenata na hemodijalizi (20). Za *P. stutzeri* u pretraženoj literaturi nisu pronađeni podaci o povezanosti bakterije i slučajeva infekcije pacijenata u sustavu hemodijalize.

5.9. *Ralstonia insidiosa*, *Ralstonia mannitolilytica* i *Ralstonia picketti*

U uzrocima permeata u centru za hemodijalizu A identificirana je *Ralstonia insidiosa* u količinama od 22 CFU/100 mL, 650 CFU/100 mL i 1300 CFU/100 mL. U uzorcima permeata za isti centar za hemodijalizu izolirana je *Ralstonia mannitolilytica* u količinama 500 CFU/100 mL. *Ralstonia picketti* pronađena je u istoj vrsti uzorka za isti hemodijalizni centar u količini 1300 CFU/100 mL. Ove bakterije su aerobni, Gram (-), oksidaza pozitivni nefermentirajući bacili.

Bakterije roda *Ralstonia* najčešće se nalaze različitim vodama, pa čak i u vodoopskrbama bolnica, a otkriveno je da uzrokuju brojne infekcije. Neke od ozbiljnijih infekcija uzrokovanih bakterijama roda *Ralstonia* su osteomijelitis i meningitis, osobito u bolničkim uvjetima. *R. insidiosa* izolirana je u vodi, tlu, aktivnom mulju, pročišćenoj vodi u laboratorijima, sustavima za distribuciju vode, pa čak i u industrijskoj vodi visoke čistoće. *R. mannitolilytica* najčešće je utvrđena kod pacijenata koji boluju od cistične fibroze. *R. picketti* može se pronaći u vodi za piće, flaširanoj vodi i vodama za opskrbu dentalnih ordinacija i bolnica, a izolira se u različitim kliničkim uzorcima poput mokraće i krvi (21).

U radu znanstvenika iz Kolumbije iz 2020. godine (22) objašnjava se identifikacija pojave *Ralstonia spp.* u jedinicama za hemodijalizu gradu Cali u Kolumbiji. 2017. godine utvrđena je pojava epidemije u sjevernoj i južnoj za hemodijalizu, odnosno ukupno 11 pacijenata unutar 2 tjedna pokazalo je blage simptome drhtavice i povišene tjelesne temperature nakon tretmana

hemodijalizom. Hemokulture svih pacijenata bile su pozitivne na *R. mannitolilytica* i *R. pickettii*. Uzorci iz jedinice za hemodijalizu uzeti su sa površina, zidova, iz zraka, opreme, uređaja za ventilaciju, vode iz slavine i vode iz hemodijaliznog sustava. Mikrobiološki su obrađeni i uređaji i sredstva za čišćenje i dezinfekciju. Ukupno 795 pacijenata bilo je na terapiji hemodijalizom, od čega je kod 124 pacijenta utvrđena infekcija *Ralstonia spp.* Utvrđen je i 21 izolat *R. mannitolilytica* u obje jedinice za hemodijalizu. S obzirom na to da je voda koja je korištena za hemodijalizu u jedinicama odvojena, a zdravstveno osoblje različito, bilo je sve jasnije da je izvor infekcije lijek heparin koji su između sebe dijelile jedinice za hemodijalizu. Lijek je brzo promijenjen na početku izbijanja epidemije, uz zahtjev za dodatne informacije od dobavljača o seriji proizvoda. Utvrđeno je da je serija pripravka promijenjena, ali ne i serija sirovine koja se koristi za pripravak. Znanstvenici su u radu zaključili kako se pri istraživanju pojave epidemije nekih bakterija trebaju detaljno pregledati lijekovi koje primaju pacijenti, ali da se uvijek moraju u obzir uzimati i drugi mogući uzroci infekcije, kao što su voda, uređaji ili često korišteni instrumenti (22).

5.10. *Sphingomonas paucimobilis*

U uzrocima permeata analiziranim za centar za hemodijalizu A izolirana je količina od 600 CFU/100 mL *Sphingomonas paucimobilis*. Navedena bakterija je aeroban, Gram (-), oksidaza pozitivan nefermentirajući bacil.

S. paucimobilis obično se može pronaći u tlu i izvorskoj vodi. Izoliran je iz širokog spektra kliničkih uzoraka: sputum, cerebrospinalna tekućina, krv, mokraća. Turski rad iz 2018. godine (23) opisuje rijedak slučaj infekcije *S. paucimobilis* kod dugogodišnje pacijentice koja boluje od na hemodijalizi. Javila se na hitni prijem u bolnici sa simptomima drhtavice i povišene tjelesne temperature, a simptomi su se javljali unatrag mjesec dana. Drhtavica se javljala po obavljenom tretmanu hemodijalizom, a infekcija koja je dijagnosticirana utvrđena je na ulaznom dijelu tuneliranog katetera desne podključne arterije. Napravljena je hemokultura iz koje je identificirana bakterijska vrsta *S. paucimobilis*. Pacijentici je prepisana terapija antibiotikom. Iz rada proizlazi zaključak da se *S. paucimobilis* pri dijagnosticiranju infekcije mora uzimati u obzir kao jedan od mogućih čimbenika infekcija na hemodijalizi preko katetera (23).

5.11. *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*

U uzorcima permeata analiziranom za centar za hemodijalizu A, izolirano je 1 CFU/100 mL i 35 CFU/100 mL *Staphylococcus aureus*. Isti broj *S. aureus* (1 CFU/100 mL) izoliran je i u uzorku iz pripreme vode za hemodijalizu analiziranom za centar za hemodijalizu C. U uzorcima vode za ispiranje i dijalizata analiziranim za centar za hemodijalizu A izolirani su *S. hominis* s brojem kolonija 4 CFU/100 mL, *S. haemolyticus* s brojem kolonija 2 CFU/100 mL, *S. epidermidis* u količini od 1 CFU/100 mL i *S. warneri* s brojem kolonija 2 CFU/100 mL. *S. warneri* pronađen je u permeatu za hemodijalizni centar A s brojem kolonija 8 CFU/100 mL. *Staphylococcus spp.* su fakultativno anaerobni, Gram (+) koki.

Bakterije roda *Staphylococcus* patogeni su mikroorganizmi koji nastanjuju ljudsku kožu, no mogu izazvati različite vrste infekcija, osobito kod osoba s ozljedama i opekotinama. *S. aureus* čest je patogen u ljudskom organizmu, uzrokuje različite spoljne infekcije kože, no može uzrokovati i ozbiljnije poremećaje u organizmu poput pneumonije, osteomijelitisa, meningitisa, endokarditisa i dr. Najopasniji oblik ove bakterije je meticilin-rezistentni *S. aureus* (MRSA) koji se prenosi kontaktom sa zaraženom osobom, dijeljenjem ručnika i drugih predmeta za higijenu te kontaktom s kontaminiranim površinama. *S. aureus*, kao i *S. epidermidis*, uzročnici su infekcija povezanih s ugrađenim uređajima i prostetskim materijalima (umjetni zglobovi, kardiovaskularni uređaji, umjetni srčani zalistci, kateteri) (24).

Prospektivna studija njemačkih autora iz 2019. godine (25) bavi se 25-mjesečnim promatranjem pojave infekcije *S. aureus* kod 86 sudionika istraživanja koji su pacijenti na hemodijalizi, a brisevi su im se uzimali iz nosne sluznice i s kože na mjestima gdje se nalazi ulazni dio katetera. U istraživanje je bilo uključeno 86 pacijenata, od čega 70% muškaraca, a ukupno 22 pacijenta je umrlo tijekom trajanja istraživanja. 16 od 22 pacijenta umrlo je od sepse ili septičkog šoka, no u samo jednom slučaju je potvrđeno da je infekcija *S. aureus* uzrok smrti. Prisutnost *S. aureus* analizirala se kod pacijenata ukupno 5 puta, svakih 6 mjeseci. Nalazi uzoraka iz nosne sluznice bili su pozitivni u otprilike 33-46% slučajeva, ovisno o mjesecu uzorkovanja. U samo 5 slučajeva, kod 3 pacijenta, utvrđena je prisutnost *S. aureus* u uzorcima uzetim s kože na ulaznim mjestima katetera. Među pozitivnim uzorcima, potvrđena je prisutnost MRSA u samo 2 slučaja. Usporedbom dobivenih rezultata utvrđeno je kako je kod pacijenata koji su obavljali terapiju preko

atrio-venske fistule bila prisutna veća kolonizacija *S. aureus* nego kod pacijenata koji su hemodijalizirani preko centralnih venoznih katetera. Nadalje., od svih pozitivnih slučajeva, kod ukupno 6 slučajeva potvrđena je bakteriemija *S. aureus*, a pacijenti su imali uobičajene simptome – povišena tjelesna temperatura, sustavni upalni odgovor i povećani broj leukocita. Od 6 potvrđenih bakteriemija, 3 su se javile kod pacijenata koji su dijalizirani preko centralnog venoznog katetera, no nije bilo povezanosti između infekcije *S. aureus* i različitih venskih pristupa hemodijalizi. Na temelju rezultata istraživanja, znanstvenici su potvrdili nisku stopu pojave bakteriemija *S. aureus* i zaključili da je kontakt sa *S. aureus* značajan faktor za jačanje njihove imunološke reakcije na buduće infekcije (25).

S. epidermidis uzročnik je infekcija koje su obično povezane s medicinskom aparaturom i perifernim ili centralnim venskim pristupima za hemodijalizu, no najčešće ne uzrokuje teže oblike infekcije. Retrospektivna studija iz 2011. godine (26) u Sjedinjenim Američkim Državama analizirala je pojavu bakteriemija povezanih s kateterima kod pacijenata koji su na hemodijalizi u 5 centara za hemodijalizu na Sveučilištu Alabama u Birminghamu. Retrospektivno je proučen ukupno 2016 slučaj bakteriemija povezanih s infekcijama preko katetera u periodu od 5 godina. Potvrđeno je da je najviše infekcija ulaznih mjesta za katetere povezano s prisutnošću *S. epidermidis*, a nešto manje infekcija uzrokovano je *S. aureus*. Utvrđeno je i kako pacijenti koji su bili inficirani *S. epidermidis* nisu imali veće komplikacije, dok su pojedini pacijenti zaraženi *S. aureus* imali teže stanje sa smrtnim ishodom. Također, komplikacije uzrokovane *S. epidermidis* lako se mogu liječiti antibioticima, dok je kod infekcije *S. aureus* potrebne pravovremene intervencije uklanjanja katetera. Autori su zaključili kako je studija manjkava zbog svoje retrospektivnosti te se ne može izvesti neki generalni zaključak zbog analiziranja podataka na samo jednome mjestu (26).

Za *S. haemolyticus*, *S. hominis* i *S. warneri* u pretraženoj literaturi nisu pronađeni podaci o pojavi slučajeva infekcije u centrima za hemodijalizu. *S. haemolyticus* je česti uzročnik bolničkih infekcija i ima sposobnost za razvoj multirezistencije – otpornosti na različite vrste antibiotika, *S. hominis* je jedan od najčešćih uzročnika bakteriemije i sepsa kod novorođenčadi i imunokompromitiranih osoba. *S. warneri* također je prirodni dio mikroflore na ljudskoj koži, no u određenim slučajevima može uzrokovati bakteriemije, infekcije mokraćnog sustava, sepsu i druge vrste infekcija kod ljudi koji imaju ugrađene katetere i druge medicinske uređaje.

5.12. *Streptococcus mitis* i *Streptococcus oralis*

U uzorcima permeata analiziranim za centar za hemodijalizu A pronađeno je 10 CFU/100 mL i 20 CFU/100 mL *Streptococcus mitis* i *Streptococcus oralis*. Bakterije roda *Streptococcus* su Gram (+) koki.

S. mitis, kao i *S. oralis*, dio su skupine Viridans streptokoka, koji normalno žive u usnoj šupljini i na zubima, u dišnom i probavnom sustavu. Koloniziraju usne šupljine zdrave novorođenčadi, a ponekad mogu uzrokovati infekcije kod imunokompromitiranih osoba. Još se uvijek istražuje klinički utjecaj ovih bakterija na ljudsko zdravlje, kao i njihova epidemiološka slika. Simptomi i posljedice infekcija *S. mitis* i *S. oralis* još uvijek su nedovoljno specifični. Za navedene bakterije u pretraženoj literaturi ne postoje podaci koji ih povezuju s infekcijama u centrima za hemodijalizu.

5.13. UKUPNE KOLIFORMNE BAKTERIJE

U određenim uzorcima permeata iz centra za hemodijalizu A bila je vidljiva slaba diskriminacija ukupnih koliformnih bakterija na selektivnoj hranjivoj podlozi, no u drugim uzorcima permeata identificirano je 1 CFU/100 mL, 2 CFU/100 mL i 7 CFU/100 mL koliformnih bakterija. Uzorak vode analiziran za centar za hemodijalizu B sadržavao je 14 CFU/100 mL ukupnih koliformnih bakterija. Uzorak dijalizata za centar za hemodijalizu C sadržavao je 1 CFU/100 mL koliformnih bakterija. Koliformne bakterije su uglavnom fakultativno anaerobni bacili.

Koliformne bakterije poput *Erwinia* i *Enterobacter* su često su dio prirodne flore različitog povrća i obično se ne smatraju rizikom za zdravlje ljudi (29). U pretraženoj literaturi nije pronađen članak koji povezuje pojavnost infekcije koliformnim bakterijama s procesom hemodijalize.

5.14. CRIJEVNI ENTEROKOKI

U uzorku dijalizata analiziranom za centar za hemodijalizu C pronađen je crijevni enterokok u količini od 1 CFU/100 mL. Crijevni enterokoki su fakultativno anaerobni, Gram (+) koki.

Crijevni enterokoki indikatori su zagađenja vode za ljudsku potrošnju, vode za kupanje, bazenskih voda, rijeka, jezera, a indikatori su i lošeg održavanja prostora (osobito sanitarnih

čvorova) te loše osobne higijene. Neke od patogenijih vrsta crijevnih enterokoka su *Enterococcus faecalis* i *E. faecium*. Normalno žive u probavnom sustavu nekih životinja i čovjeka, a u okoliš dolaze iz fekalija. Najčešće infekcije enterokokima javljaju se u mokraćnom sustavu čovjeka, no oni mogu uzrokovati i peritonitis, bakteriemije i endokarditis. U pretraženoj literaturi nema podataka o pojavi infekcija enterokokima u centrima za hemodijalizu.

5.15. UKUPNI BROJ BAKTERIJA

Ukupni broj bakterija iskazan u CFU/mL analiziran je na dvjema temperaturama inkubacije između hemodijaliznih centara, godina i sezona.

Pregledom statističke analize UBB na temperaturama 37°C/48 h i 22°C/72 h između centara za hemodijalizu, utvrđeno je da centar za hemodijalizu A ima najveću srednju vrijednost i statistički značajno različite rezultate u odnosu na ostale centre za hemodijalizu, dok se ostali centri za hemodijalizu statistički značajno ne razlikuju prema broju poraslih kolonija na obje temperature. Važno je napomenuti kako je za hemodijalizni centar A tijekom 6 godina analiziran najveći broj uzoraka te je u uzorcima iz tog centra identificirano najviše bakterijskih vrsta. Također, postoji mogućnost da hemodijalizni centar A ima drugačiji način održavanja sustava za pripremu vode za hemodijalizu te drugačiji način čišćenja, pranja ili dezinfekcije od ostalih centara za hemodijalizu. Najmanje srednje vrijednosti UBB ima centar za hemodijalizu D na obje temperature. Ujedno, u ovom centru analiziran je i najmanji broj uzoraka tijekom 6 godina što bi mogao biti jedan od razloga takvog rezultata.

Vidljiv je porast broja analiziranih uzoraka po godinama, koji može biti uzrokovan moderniziranjem zakonodavstva, jačanjem svijesti o praćenju i održavanju visokih higijenskih standarda uz pojačanje samokontrole subjekata u zdravstvu te napretkom dijagnostike čime su dobivene iskustvene spoznaje o opasnostima i rizicima kojima su izloženi pacijenti na hemodijalizi. Nadalje, UBB tijekom godina, prema podacima srednjih vrijednosti, prvo raste, a zatim pada. Najveću srednju vrijednost UBB na temperaturi 37°C/48 h imali su rezultati za 2018. godinu, dok je na 22°C/72 h najveća srednja vrijednost UBB bila u 2019. godini. Rezultati za 2019. godinu međusobno su se statistički značajno razlikovali s rezultatima za sve ostale godine na objema temperaturama. Razlog tome mogle bi biti promjene načina ili sredstava higijenskog održavanja sustava za hemodijalizu. Moguće je i da su se bakteriološke analize pojačale tijekom 2020. i 2021. godine zbog pojave epidemije COVID-19. Nadalje, najmanja srednja vrijednost

UBB utvrđena je na objema temperaturama u 2016. godini, a postojale su statistički značajne razlike samo u rezultatima između 2016. i 2018. te 2016. i 2019. godine, dok u usporedbi UBB za 2016. s ostalim godinama nije bilo statistički značajne razlike.

Statistički podaci za pokazatelj UBB na dvije temperature po sezonama pokazali su da je najveća srednja vrijednost rezultata UBB vidljiva kod uzoraka analiziranih u ljetnoj sezoni, a vrijednosti UBB se statistički značajno razlikuju između ljetne i zimske sezone na temperaturi 37°C/48 h, dok se između ostalih sezona ne razlikuju na navedenoj temperaturi. Na obje ispitane temperature najmanja srednja vrijednost UBB utvrđena je u zimskoj sezoni, a postoje i statistički značajne razlike u vrijednostima UBB između zime i ljeta na temperaturi 37°C/48 h, te između zimske i ostale 3 sezone na temperaturi 22°C/72 h. Moguće je da na rast ukupnog broja bakterija u vodi za hemodijalizu utječu temperaturni uvjeti pojedine sezone kako je sam izvor hemodijalizne vode, vodovodna voda, a time i izvorska voda.

Analizom korelacije između pojedinačnih bakterijskih vrsta i vrijednosti UBB na obje temperature, utvrđena je statistički značajna pozitivna povezanost između UBB na 37°C/48 h i broja kolonija *P. aeruginosa*. Isto tako je utvrđen pozitivan, statistički značajan korelacijski odnos između broja ukupnih koliformnih bakterija i *E. coli*. Konačno, porast pokazatelja UBB na 22°C/72 h statistički je značajno praćen porastom UBB na 37°C/48 h.

Dobiveni rezultati ukazuju kako se u vodi za hemodijalizu mogu pronaći različite vrste Gram (-) i Gram (+) bakterija koje mogu biti štetne za zdravlje pacijenata na hemodijalizi, osobito imunokompromitiranih bolesnika. Najčešći izvori bakterija su sustavi za pripremu vode za potrebe hemodijalize, cijevi, ventili, filteri i sl. Uzroci onečišćenja ovih izvora upravo su nepravilno održavanje, neadekvatno provedena dezinfekcija vode, neodržavanje prikladne temperature u sustavu za prolazak otopina za hemodijalizu prema dijalizatoru i nepravilno rukovanje vodom i tekućinom za hemodijalizu od strane zdravstvenog osoblja.

Vrlo je važno da zdravstveno osoblje ima osiguranu potrebnu edukaciju u svrhu sprječavanja mikrobiološke i kemijske kontaminacije vode. Zbog svih uzroka onečišćenja vode za hemodijalizu, nužno je obavljati monitoring pripreme vode za hemodijalizu, pratiti postupke održavanja sustava za pripremu vode, svakodnevno kontrolirati elektrovodljivost vode u svrhu ranog otkrivanja kontaminacije i brze reakcije, redovito obavljati bakteriološke i kemijske analize

vode te redovito kontrolirati rad zdravstvenog osoblja na hemodijalizi. Na taj način osigurala bi se kvalitetna i čista voda, a mogućnosti kontaminiranja i razvijanja komplikacija kod pacijenata na hemodijalizi smanjile bi se na najmanju moguću mjeru.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju obrade rezultata za pojedine bakterijske vrste, za ukupni broj bakterija na temperaturama 37°C/48 h i 22°C/72 h između četiri hemodijalizna centra, između 6 godina i 4 sezone, te na temelju provedene statističke analize i rasprave, doneseni su zaključci:

- 1) Broj analiziranih uzoraka vode koja se koristi za potrebe hemodijalize s godinama se povećava.
- 2) Identificirane su ukupno 23 bakterijske vrste. Od identificiranih bakterijskih vrsta najveći udio u analiziranim uzorcima imale su ukupne koliformne bakterije, *Achromobacter xylosoxidans*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Ralstonia insidiosus*.
- 3) Najveći broj kolonija u analiziranim uzorcima bio je oko 2000 CFU/100 mL, a bakterije koje su formirale najviše kolonija na pločama s uzorcima bile su *Achromobacter xylosoxidans* i *Acinetobacter lwoffii*, *Neisseria animaloris*, *Neisseria zoodegmatis* i *Oligella ureolytica*.
- 4) Najveći broj izoliranih bakterijskih vrsta utvrđen je kod uzoraka analiziranih za centar za hemodijalizu A, koji je ujedno imao i najveći broj analiziranih uzoraka.
- 5) Najveći ukupni broj kolonija bakterija zabilježen je u centru za hemodijalizu A, na obje temperature. Zatim je utvrđen najveći UBB kod uzoraka analiziranih u 2018. godini na temperaturi 37°C/48 h te u 2019. godini na 22°C/72 h. Konačno, najviši UBB za obje temperature zabilježen je u ljetnoj sezoni, a najniži broj UBB na obje temperature zabilježen je u zimskoj sezoni.
- 6) Pozitivni korelacijski odnosi utvrđeni su između UBB na 37°C/48 h i broja kolonija *Pseudomonas aeruginosa*, zatim između broja kolonija ukupnih koliformnih bakterija i *E. coli* te između UBB na 37°C/48 h i UBB na 22°C/72 h.
- 7) Za sprječavanje kontaminacije izvora onečišćenja vode bakterijama nužno je redovito održavati opremu, pravilno provoditi dezinfekciju vode te provoditi potrebnu edukaciju i nadzor zdravstvenog osoblja.
- 8) Kako bi se na vrijeme mogla otkriti pojava kontaminacije bakterijama i spriječiti infekcije dijaliziranih pacijenata istima, važno je pridržavati se svakodnevnih provjera elektrovodljivosti vode i provoditi redovite bakteriološke analize.

7. LITERATURA

1. Guyton AC, Hall JE. Medicinska fiziologija. 13. izdanje. izd. Zagreb: Medicinska naklada, 1000 Zagreb, Cankarova 13; 2017.
2. Kes P, Bašić Jukić N. New experiences with the therapy of acute kidney injury. U: ResearchGate GmbH; 12.2009. [citirano 13.04.2022.]; Dostupno na: https://www.researchgate.net/publication/24175185_New_experiences_with_the_therapy_of_acute_kidney_injury
3. Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS. Handbook of Dialysis. [internet] Fifth edition. Wolters Kluwer Health. 2015. Zarqa University. Jordan [citirano 13.04.2022.]; Dostupno na: https://zu.edu.jo/UploadFile/Library/E_Books/Files/LibraryFile_91444_8.pdf
4. Mijatović I i sur. Priprema vode za hemodijalizu. Zagreb: Hrvatska gospodarska komora; 2004.
5. Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za potrebe hemodijalize (NN 125/2003). [internet] [citirano 27.04.2022.] Dostupno na: <http://hidra.srce.hr/arhiva/263/18315/www.nn.hr/clanci/sluzbeno/2003/1810.htm>
6. Jakić M, Mihaljević D, Milas J, Zibar L, Jakić M. Mikrobiološka kvaliteta vode za hemodijalizu i dijalizata. Medicinski vjesnik [Internet]. 1998 [citirano 13.05.2022.];30((3-4)):197-203. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/192341>
7. Pontoriero G, Pozzoni P, Andrulli S, Locatelli F. The quality of dialysis water. Nephrology Dialysis Transplantation [Internet] 2003. [citirano 23.05.2022.]; 18(7):22-25. Dostupno na: https://academic.oup.com/ndt/article/18/suppl_7/vii21/1818271?login=false
8. Coulliette AD, Arduino MJ. Hemodialysis and water quality. Semin Dial. [Internet] 2013. [citirano 24.05.2022.]; 26(4):427-438. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23859187/>
9. Centers for Medicare and Medicaid Services. [Internet] [citirano 24.05.2022.] Dostupno na: <https://www.cms.gov/>

10. CDC. Recommendations for Preventing Transmission of Infections Among Chronic Hemodialysis Patients. [Internet] 2001. [citirano 24.05.2022.] Dostupno na: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5005a1.htm>
11. Heidarieh P, Hashemi Shahraki A, Yaghoubfar R, Hajehasani A, Mirsaeidi M. Microbiological Analysis of Hemodialysis Water in a Developing Country. *ASAIO J.* [Internet] 2016. [citirano 24.05.2022.]; 62(3):332-339. Dostupno na: https://journals.lww.com/asaiojournal/Fulltext/2016/05000/Microbiological_Analysis_of_Hemodialysis_Water_in.19.aspx
12. Novosad SA, Lake J, Nguyen D, et al. Multicenter Outbreak of Gram-Negative Bloodstream Infections in Hemodialysis Patients. *Am J Kidney Dis.* [Internet] 2019. [citirano 24.05.2022.]; 74(5):610-619. Dostupno na: [https://www.ajkd.org/article/S0272-6386\(19\)30797-8/fulltext](https://www.ajkd.org/article/S0272-6386(19)30797-8/fulltext)
13. Shetty N, Hill G, Ridgway GL. The Vitek analyser for routine bacterial identification and susceptibility testing: protocols, problems, and pitfalls. *Journal of Clinical Pathology.* [Internet] 1998. [citirano 09.08.2022.]; 51(4):316-323. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC500679/>
14. Palacios-Gómez ME, Martín-Gómez A, García-Marcos S. *Achromobacter xylosoxidans* in two haemodialysis patients. *Nefrologia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola Nefrologia.* [Internet] 2014. [citirano 18.08.2022.]; 34(4):538-539. Dostupno na: <https://revistanefrologia.com/en-achromobacter-xylosoxidans-in-two-haemodialysis-articulo-X2013251414054217>
15. Khalil MA, Rehman A, Kashif WU, Rangasami M, Tan J. A rare case of *Aeromonas hydrophila* catheter related sepsis in a patient with chronic kidney disease receiving steroids and dialysis: a case report and review of *Aeromonas* infections in chronic kidney disease patients. *Case reports in nephrology.* [Internet] 2013. [citirano 18.08.2022.]; 735194. Dostupno na: <https://www.hindawi.com/journals/crin/2013/735194/>
16. Vieille T, Winiszewski H, Chirouze C, Bertrand X, Fournier D. *Escherichia coli* endocarditis in an hemodialysis patient. *Medecine et Maladies Infectieuses.* [Internet] 2019. [citirano

19.08.2022.]; 49(6):478-479. Dostupno na:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0399077X18308527?via%3Dihub>

17. Heydecke A, Andersson B, Holmdahl T, Melhus A. Human wound infections caused by *Neisseria animaloris* and *Neisseria zoodegmatis*, former CDC Group EF-4a and EF-4b. *Infection Ecology & Epidemiology*. [Internet] 2013. [citirano 18.08.2022.] 2;3. Dostupno na:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3733017/>

18. MSD MANUAL Professional Version. [Internet] MERCK & Co, Inc., Rahway. NJ, USA; 2020. [ažurirano Ožu 2021.; citirano 19.08.2022.]. Dostupno na:
<https://www.msdmanuals.com/professional/infectious-diseases/gram-negative-cocci-and-coccobacilli/oligella-infections#top>

19. Borrego Garcia E, Ruiz Sancho AL, Plaza Lara E, Díaz Gómez L, Delgado Ureña A. Bacteremia outbreak due to *Pantoea agglomerans* in hemodialysis, an infection by an unexpected guest. *Nefrologia (Engl Ed)*. [Internet] 2020. [citirano 19.08.2022.]; 40(5):573-575. Dostupno na:
<https://www.revistanefrologia.com/es-linkresolver-brote-bacteriemia-por-pantoea-agglomerans-S0211699519301997>

20. Ciobotaro P, Fialko A, Nadir E, Oved M, Bardenstein R, Gershkoviz P, Zimhony O. P205: An outbreak of polyclonal *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in hemodialysis patients. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. [Internet] 2013. [citirano 19.08.2022.]; 1186/2047-2994-2-S1-P205. Dostupno na:
https://www.researchgate.net/publication/257884441_P205_An_outbreak_of_polyclonal_pseudomonas_aeruginosa_bacteremia_in_hemodialysis_patients

21. Ryan MP, Adley CC. *Ralstonia spp.*: emerging global opportunistic pathogens. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. [Internet] 2014. [citirano 19.08.2022.]; 33(3):291-304. Dostupno na: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-013-1975-9>

22. Saldarriaga-Quintero EA, Mosquera-Palacios Y, Pinzón-Gómez EM, Lesmes-Duque MC, Victoria-Garcia MC, Hurtado-Palacios IC. *Ralstonia spp.* in a dialysis unit: an experience in the identification and control of an outbreak. *Infectio*. [Internet] 2020. [citirano 19.08.2022.]

Dostupno na: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922020000400243

23. Gursoy S, Yasar KK, Sari ND, Kuvat N, Ozturk S. *Sphingomonas Paucimobilis* Bacteremia in a Hemodialysis Patient and Literature Review. Int J Crit Care Emerg Med [Internet] 2018. [citirano 19.08.2022.]; 4:041. Dostupno na: <https://clinmedjournals.org/articles/ijccem/international-journal-of-critical-care-and-emergency-medicine-ijccem-4-041.php?jid=ijccem>

24. Foster T. *Staphylococcus*. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston. [Internet] 1996. [citirano 20.08.2022.] Chapter 12. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8448/>

25. Scheuch M, Freiin von Rheinbaben S, Kabisch A, Engeßer J, Ahrendt S, Dabers T, Kohler C, Holtfreter S, Bröker BM, Stracke S. *Staphylococcus aureus* colonization in hemodialysis patients: a prospective 25 months observational study. BMC Nephrology. [Internet] 2019. [citirano 20.08.2022.]; 20(1):153. Dostupno na: <https://bmcnephrol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12882-019-1332-z>

26. Sychev D, Maya ID, Allon M. Clinical management of dialysis catheter-related bacteremia with concurrent exit-site infection. Seminars in Dialysis. [Internet] 2011. [citirano 21.08.2022.];24(2):239-241. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4017937/>

27. Agudelo Higueta NI, Huycke MM. Enterococcal Disease, Epidemiology, and Implications for Treatment. [Internet] 2014. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, editors. Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary. 2014. [citirano 21.08.2022.] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190429/>

28. Peterson WJ, Maya ID, Carlton D, Estrada E, Allon M. Treatment of dialysis catheter-related Enterococcus bacteremia with an antibiotic lock: a quality improvement report. American Journal of Kidney Diseases. [Internet] 2009 [citirano 21.08.2022.] ;53(1):107-111. Dostupno na: [https://www.ajkd.org/article/S0272-6386\(08\)01241-9/fulltext](https://www.ajkd.org/article/S0272-6386(08)01241-9/fulltext)

29. Brackett RE. Water Quality Monitoring and Management. Chapter 6 - Microbial Quality. [Internet] Ed. Shewfelt RL, Prussia SE. In Food Science and Technology, Postharvest Handling. Academic Press. 1993. [Citirano 21.08.2022.] 125-148. Dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/coliform-bacteria>
30. Maurer IM. Hospital hygiene. 3rd Edition. London: Edward Arnold; 1985.

8. ŽIVOTOPIS

Mateja Mihaljević rođena je 19. Travnja 1998. godine u Ogulinu, živi u mjestu Oštarije pokraj grada Ogulina. Svoje osnovnoškolsko obrazovanje završila je 2013. godine u Osnovnoj školi Josipdol, Područnoj školi Siniše i Zrinka Rendulića u Oštarijama, nakon čega je upisala smjer opća gimnazija u Gimnaziji i strukovnoj školi Bernardina Frankopana u Ogulinu.

Nakon završene srednje škole, 2017. godine, upisuje Preddiplomski stručni studij Sanitarno inženjerstvo na Zdravstvenom veleučilištu u Zagrebu, gdje 2020. godine završava studij i stječe titulu stručne prvostupnice sanitarnog inženjerstva. Nastavlja svoje studiranje upisom na Diplomski sveučilišni studij Sanitarno inženjerstvo na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci.

Tijekom srednjoškolskog i fakultetskog obrazovanja, radila je studentske poslove konobarenja, promocija prehrambenih proizvoda te rada na blagajni, a osnovna iskustva vezana za struku stekla je obavljanjem stručne prakse u sklopu diplomskog studija, u sanitarnoj inspekciji i centralnoj sterilizaciji u bolnici.