



## **PREPORUKE MIKROBIOLOŠKE KONTROLE KVALITETE LABORATORIJA ZA HUMANU REPRODUKCIJU**

Stručno povjerenstvo Hrvatskog društva kliničkih embriologa u suradnji s prim. Ivankom Batarilo, spec. med. mikrobiologije, (Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Petrova 3, Zagreb)

Prema *Pravilniku o uvjetima u pogledu prostora, medicinsko-tehničke opreme i sustava kvalitete za provođenje postupaka medicinski pomognute oplodnje* (NN br. 70/13), točka 5., stavak 3., traži se da: „Kod obrade spolnih stanica, spolnih tkiva i zametaka u bezprašnoj komori zahtijeva se najmanje kvaliteta zraka u kojoj broj čestica i broj mikrobnih kolonija odgovara najmanje klasi C, kako je određeno u Prilogu 1. Načela i smjernica dobre proizvođačke prakse za lijekove kao i dodatne posebnosti za pojedine postupke i oblike lijekova sa svim dopunama, koje se u prijevodu na hrvatski jezik objavljuju na web-stranici Ministarstva zdravlja (u daljnjem tekstu: DPP), zajedno s prikladnim okolišem, a koji odgovara barem klasi D DPP-a u smislu broja čestica i mikrobnih kolonija.“

Prema Preporukama za kvalitetu i sigurnost u medicinski pomognutoj oplodnji, odjeljak 2.2.4. Kvalifikacija i validacija čistog prostora, navedeno je: “U bezprašnoj komori zahtijeva se kvaliteta zraka u kojoj broj čestica i broj mikrobnih kolonija prema GMP odgovara najmanje klasi C, a pripadajućem okolišu zahtijeva se barem klasa D prema GMP.” Čisti prostor je pojam proizašao iz dobre proizvođačke prakse u izradi biomedicinskih proizvoda (EU Good Manufacturing Practise – GMP - Annex 1: Manufacture of sterile medicinal products). Čisti prostor je prostor kontroliranih uvjeta u čestičnom i mikrobiološkom pogledu koji je potreban za obradu spolnih stanica, spolnih tkiva i zametaka. Svrha čistog prostora je osigurati uvjete za rukovanje jajnim stanicama, spermijima i zametcima pri kojima će se izbjeći mogućnost kontaminacije koja može uzrokovati štetu u postupcima medicinski pomognute oplodnje.

### **Hrvatsko društvo kliničkih embriologa**

Predsjednik: dr.sc. Patrik Stanić, Potpredsjednik: dr.sc. Daria Hafner, Tajnik: mr.sc. Dejan Ljiljak  
Matični broj: 2647583 :: OIB: 88755446642 :: IBAN HR7023600001102173250 SWIFT ZABA HR2X  
E-mail: [info@hdke.hr](mailto:info@hdke.hr), Web: [www.hdke.hr](http://www.hdke.hr)

Adresa: Klinika za ženske bolesti i porodništvo (za HDKE), KBC Sestre milosrdnice, Vinogradska c. 29, 10000 Zagreb



Za prostore određene klase čistoće prema EU GMP postoje mikrobna ograničenja (tablica 1.) pa se prema tome u mikrobiološkom pogledu kvalitete zraka u prostoru za određenu klasu moraju zadovoljiti sljedeći uvjeti:

Tablica 1.

Mikrobna ograničenja za prostore po klasama čistoće, prema EU GMP Klasa	Zrak aktivno (CFU/m <sup>3</sup> )	Zrak pasivno taložne ploče promjera 90 mm (CFU/4 sata)	Površine kontaktne ploče CT3P promjera 55 mm (CFU/ploča)	Otisak prstiju (CFU/ploča)
<b>A</b>	<1	<1	<1	<1
<b>B</b>	10	5	5	5
<b>C</b>	100	50	25	-
<b>D</b>	200	100	50	-

Kako bi se osigurala kvaliteta zraka u laboratorijima za humanu reprodukciju, ulazni filteri i HEPA filteri se mijenjaju prema uputama proizvođača, a češće u slučaju potrebe. U čistom prostoru treba osigurati redovito i pravilno čišćenje i dezinfekciju, smanjen protok osoblja te odvajanje infektivnog otpada od komunalnog. U čistom prostoru potrebno je nositi standardnu zaštitnu odjeću te po potrebi koristiti jednokratne rukavice bez pudera. Unutar čistog prostora treba uvesti posebna pravila ponašanja (shema kretanja materijala i proizvoda) i rada.

Odsustvo znakova infekcije u izvantjelesnoj kulturi potvrda je kontinuirane odgovarajuće kvalitete zraka u mikrobiološkom smislu.

Kvaliteta zraka se dokazuje mikrobiološkim nadzorom. Osim mikrobiološke kvalitete zraka, potrebno je vršiti nadzor kritičnih površina.

U svrhu osiguranja kvalitetne i propisane izvedbe postupaka u laboratoriju za humanu reprodukciju, minimalno jednom godišnje potrebna je mikrobiološka kontrola uzimanjem uzoraka:

- mikrobiološka kontrola kvalitete zraka u prostoru IVF laboratorija, pass-boxu i laminarima vrši se pomoću taložnih ploča kroz maksimalno četiri sata tijekom rada. Ploče za analizu se dostavljaju u akreditirani mikrobiološki laboratorij. Dobiveni rezultati analiza se pregledaju,

**Hrvatsko društvo kliničkih embriologa**

2

Predsjednik: dr.sc. Patrik Stanić, Potpredsjednik: dr.sc. Daria Hafner, Tajnik: mr.sc. Dejan Ljiljak  
Matični broj: 2647583 :: OIB: 88755446642 :: IBAN HR7023600001102173250 SWIFT ZABA HR2X  
E-mail: info@hdke.hr, Web: www.hdke.hr

Adresa: Klinika za ženske bolesti i porođništvo (za HDKE), KBC Sestre milosrdnice, Vinogradska c. 29, 10000 Zagreb



analiziraju i pohranjuju u dokumentaciju. Taložne ploče se postavljaju u prostoru IVF laboratorija, pass-boxu i laminarima kako bi se dokazala propisana kvaliteta zraka.

- mikrobiološke obriske uzima klinički embriolog prethodno odjeven na način da ne kontaminira površine. Obrisci se uzimaju na način da se pomoću sterilnog štapića s vatom prethodno uronjenog u sterilnu fiziološku otopinu uzima obrisak površina te dostavlja u akreditirani mikrobiološki laboratorij. Kako bi se dokazala kvaliteta kritičnih površina uzimaju se brisevi s različitih radnih površina u embriološkom i androloškom laboratoriju: iz svakog inkubatora koji se koristi, pass-boxova, laminara, mikroskopa, stolova od inox-a.

1. Prema EU GMP, preporučene dopuštene granice za mikrobiološku kontaminaciju za **zrak** izražene kao broj kolonija (colony forming unit – CFU) su : C klasa – 50 CFU; D klasa – 100 CFU (taložna ploča).

**GRANICA UPOZORENJA** je broj kolonija za klasu C do 30, a za klasu D do 80.

**GRANICA AKCIJE** je broj kolonija za klasu C iznad 50, a za klasu D iznad 100.

2. Prema EU GMP, preporučene dopuštene granice za mikrobiološku kontaminaciju za radne **površine**, izražene kao broj kolonija (colony forming unit – CFU) su : C klasa – 25 CFU; D klasa – 50 CFU (obrisak/otisak).

**GRANICA UPOZORENJA** je broj kolonija za klasu C do 15, a za klasu D do 35.

**GRANICA AKCIJE** je broj kolonija za klasu C iznad 25, a za klasu D iznad 50.

Kod nesukladnosti koja je u zoni akcije, treba poduzeti korektivne i preventivne mjere te dokaz ispravnosti postupka potvrditi ponovnim uzimanjem uzoraka.

#### **Korektivne i preventivne mjere:**

Korektivne i preventivne mjere trebaju biti propisane kako bi se pojavnost nesukladnih rezultata smanjila na najmanju moguću mjeru. U slučaju nesukladnog rezultata treba provesti istragu koja bi trebala otkriti uzrok nesukladnom rezultatu (djelatnici, postupci, oprema, materijal, prostor). Preventivne mjere trebaju osigurati uvjete za sigurno izvođenje postupaka i smanjenje pojave nesukladnih rezultata na najmanju moguću mjeru. Ukoliko se tijekom



mikrobiološke kontrole pokažu odstupanja od propisanih standarda, potrebno je provesti mjere poboljšanja mikrobiološke kvalitete, na način da se obrati pozornost i upozore svi uključeni u čišćenje prostora/opreme te pojača nadzor nošenja zaštitne odjeće/obuće. Nakon tjedan dana ponoviti obriske i usporediti s prethodnima.

Od eventualno izoliranih mikroorganizama u dozvoljenom broju kolonija uzoraka, toleriraju se mikroorganizmi koji čine fiziološku floru kože kao što su:

- *Staphylococcus epidermidis*,
- Koagulaza negativni stafilokoki (KNS),
- *Micrococcus spp*,
- *Corynebacterium spp*

**Ne toleriraju se** izolirani mikroorganizmi:

- *Staphylococcus aureus*,
- *Enterobacteriaceae: Eschericia coli, Enterobacter spp, Salmonella spp, Shigella spp*
- Beta-hemolitički streptokok, *Enterococcus spp*
- Sporogeni mikroorganizmi: *Bacillus spp, Clostridium spp*
- gram negativni non-fermentori: *Pseudomonas spp, Acinetobacter spp*
- gram negativni anaerobni mikroorganizmi: *Bacteroides spp*,
- gljive i
- plijesni.