

Determinarea contaminării aerului, a obiectelor și a suprafețelor

Determinarea contaminării aerului, a obiectelor și a suprafețelor se face cu precădere în acele spații în care prezența bacteriilor, a virusurilor și/sau a fungilor generează un risc crescut de transmitere a unor boli infecțioase.

Contaminarea aerului este în strânsă legătură cu contaminarea obiectelor și suprafețelor, în sensul că microorganisme prezente în aer pot ajunge pe obiectele și suprafețele din respectiva încăpere (prin sedimentare, datorită forței de atracție gravitațională) și, totodată, de pe obiecte și suprafețe pot ajunge în aer numeroase microorganisme, odată cu ridicarea prafului.

1. Determinarea contaminării aerului

Deși aerul nu are o microfloră proprie, în aer se găsesc în permanență microorganisme (bacterii, virusuri, fungi), fie provenite din mediu (*aeromicroflora crioofilă*, care se dezvoltă la temperaturi de 15-22°C), fie de proveniență umană sau animală (*aeromicroflora mezofilă*, care se dezvoltă la temperaturi de 35-40°C). Germenii de origine umană pot fi saprofiți, condiționat patogeni sau patogeni; ei provin din nazofaringe și din cavitatea bucală (mai rar din trahee sau din bronhiile mari), de pe suprafața cutanată (intactă sau lezată) sau din dejecte; se pot găsi în aer sub formă de picături de secreție, de nuclei de picături sau de praf bacterian.

Determinarea contaminării aerului se realizează prin parcurgerea a două etape – recoltarea probelor de aer, urmată de însămânțarea lor pe medii de cultură și termostatare. Rezultatele astfel obținute sunt ulterior interpretate.

1.1. Recoltarea probelor de aer se poate face prin sedimentare, prin aspirație sau prin precipitare (întrucâtva asemănător recoltării probelor de aer pentru determinarea poluării cu pulberi).

Recoltarea prin sedimentare (metoda Koch) constă în expunerea la locul determinării, timp de 5-60 minute (în funcție de gradul estimat de contaminare a aerului), a unor cutii Petri ce conțin medii de cultură solide. Germenii din aer se vor sedimenta pe suprafața mediului de cultură, fiind atrași de forța gravitațională. Apoi cutiile Petri se închid și se termostatează (sedimentarea este o metodă în care recoltarea probelor de aer coincide cu însămânțarea lor pe medii de cultură).

După cum am menționat la capitolul 1.1.3.1.2., recoltarea prin sedimentare este o metodă simplă și ieftină, ce permite efectuarea unui număr mare de determinări într-un timp scurt, de aceea este și foarte folosită. Nu putem ignora însă dezavantajele pe care le presupune, și anume:

- numărul de germeni sedimentați depinde de durata de expunere a cutiilor Petri la locul determinării;
- nu se sedimentează toți germenii, ci cu precădere cei aflați sub formă de picături de secreție (mai grele, deci supuse acțiunii atracției gravitaționale);
- nu se cunoaște exact volumul de aer din care s-au sedimentat germenii recoltați, deci rezultatele (exprimate pe unitatea de volum de aer) nu sunt foarte precise. Volumul de aer poate fi estimat (cu un coeficient de eroare destul de mare) pornind de la constatarea lui Omelianski „în decurs de cinci minute, pe o suprafață de 100 cm² se sedimentează germenii din 10 l de aer” și folosind formula:

$$\text{număr de germeni/m}^3 \text{ aer} = \frac{n \cdot 10.000}{S \cdot \frac{T}{5}}, \text{ unde:}$$

n = număr de colonii dezvoltate pe mediul de cultură după termostatare

S = suprafața cutiei Petri (în cm²)

T = timpul de expunere a cutiei Petri (în minute) [2, 11].

Recoltarea prin aspirație permite evaluarea mai precisă a gradului de contaminare a aerului, întrucât se cunoaște exact volumul probelor recoltate; presupune utilizarea instalației descrise la capitolul 1.1.3.1.3., în care sunt înseriate dispozitivul de reținere a microorganismelor (R), debitmetrul (D) și aspiratorul (A).

Microorganismele din proba de aer pot fi reținute prin filtrare, prin barbotare sau prin impact:

- **reținerea prin filtrare:** se folosesc dispozitive de sticlă în care se introduce masa filtrantă: nisip de cuarț steril sau filtre solubile (de zaharoză) care, după recoltare, se spală cu soluții izotone sterile ce vor fi însămânțate ulterior pe mediul de cultură; se pot folosi și membrane filtrante care, după recoltare, sunt aplicate direct pe suprafața mediului de cultură;
- **reținerea prin barbotare:** se folosesc dispozitive de sticlă (impingere, barbotoare) ce conțin soluție izotonă sterilă prin care este barbotat aerul aspirat; soluția se însămânțează ulterior pe medii de cultură;
- **reținerea prin impact:** se folosesc aparate speciale care realizează impactul fie datorită creării unui curent turbionar, fie datorită trecerii aerului printr-o fantă îngustă; astfel, aerul aspirat este proiectat cu forță pe suprafața unui mediu de cultură solid, unde germenii vor fi reținuți (reținerea prin impact este, de asemenea, o metodă în care recoltarea probelor de aer coincide cu însămânțarea lor pe medii de cultură).

Recoltarea prin precipitare – se folosește electroprecipitarea (după tehnica descrisă la capitolul 1.1.3.1.4., cu mențiunea că la electrozii de depunere ai electroprecipitatorului se găsește mediul de cultură; recoltarea prin precipitare este, astfel, o a treia metodă în care recoltarea probelor de aer coincide cu însămânțarea lor pe medii de cultură) [2, 11].

1.2. Însămânțarea probelor pe medii de cultură și termostatare

Mediile de cultură folosite sunt geloză nutritivă pentru germenii mezofili, geloză-sânge (eventual cu violet de gențiană) pentru streptococii hemolitici, geloză nutritivă sau geloză-sânge pentru stafilococi, geloză-sânge și apoi medii diferențiale (Levine) pentru coliformi, mediul Sabouraud sau Czapek pentru Candida.

După însămânțare pe medii de cultură (aspect abordat odată cu „recoltarea probelor”), probele se termostatează 24 de ore la 37°C. Numărul de germeni recoltați se apreciază în funcție de numărul de colonii dezvoltate în timpul termostatării, cunoscut fiind faptul că din fiecare germen însămânțat se dezvoltă o colonie.

Rezultatele determinărilor se exprimă în număr de germeni/m³ de aer [2, 11].

1.3. Interpretarea rezultatelor

Aprecieri de contaminare a aerului se realizează în funcție de două categorii de indicatori: uzuali și complementari.

Indicatorii uzuali de apreciere a contaminării aerului sunt reprezentați de numărul total de germeni mezofili, numărul de streptococi hemolitici, numărul de stafilococi și numărul de germeni coliformi:

- numărul total de germeni mezofili - un indicator global (de orientare) al condițiilor de igienă dintr-o încăpere;
- numărul de streptococi hemolitici - un indicator al contaminării aerului cu floră nazofaringiană; prezența tulpinilor β -hemolitice indică prezența în încăpere a unei/unor persoane bolnave sau purtătoare de germeni;
- numărul de stafilococi - un indicator mai precis al originii umane sau animale a contaminării;
- numărul de germeni coliformi - un indicator al contaminării fecale a aerului; prezența lor indică un grad ridicat de insalubritate a locuinței.

Indicatorii complementari de apreciere a contaminării aerului sunt *Pseudomonas aeruginosa* (bacilul piocianic), *Proteus* și *Candida*.

Interpretarea rezultatelor determinării contaminării aerului se face prin raportare la următoarele valori orientative:

- germeni mezofili:
 - în încăperi în care se desfășoară activități umane: sub 2.500/m³ aer;
 - în instituțiile pentru copii: sub 1.500/m³ aer;
 - în industria alimentară: sub 600/m³ aer;
 - în spitale:
 - în saloane: sub 600/m³ aer;
 - în săli cu risc crescut de transmitere a infecțiilor (săli de tratamente, de pansamente, de naștere, bucătării dietetice): sub 500/m³ aer;
 - în sălile de operație: sub 300/m³ aer;
 - în sălile de transplant, de operație neurochirurgie: sub 70/m³ aer.

- streptococi și stafilococi: se admite prezența lor numai în încăperile de locuit, reprezentând maximum 1-2% din numărul germenilor mezofili;
- germeni coliformi: nu se admite prezența lor în aer [2, 4, 11].

2. Determinarea contaminării obiectelor și a suprafețelor

Etapele parcurse pentru determinarea contaminării obiectelor și a suprafețelor sunt recoltarea probelor de aer, însămânțarea lor pe medii de cultură și termostatare, iar în final - interpretarea rezultatelor.

2.1. Recoltarea probelor se poate face prin ștergere, prin spălare, prin utilizare de pelicule adezive sau prin contact direct cu mediul de cultură.

Recoltarea prin ștergere – suprafața supusă analizei microbiologice se delimitează cu ajutorul unor șabloane sterile (pentru a putea determina precis aria suprafeței analizate, exprimată în cm^2); se șterge apoi cu un tampon steril (de vată sau de tifon) montat pe o tijă (asemănător cu celor folosite pentru recoltarea exudatului faringian – figura 1.14.) [38], uscat sau ușor umezit în soluție izotonă sterilă. După recoltare, tamponul se introduce într-un flacon ce conține 10 ml soluție izotonă sterilă; flaconul se agită și, din suspensia obținută, se fac diluții ce vor fi însămânțate pe medii de cultură.



Figura 1.14. Dispozitiv folosit pentru recoltarea prin ștergere a probelor

Recoltarea prin spălare– suprafața/obiectul de cercetat se spală cu soluție izotonă sterilă din care apoi se fac diluții și se însămânțează pe medii de cultură. Metoda este folosită în special pentru aprecierea gradului de contaminare a mâinilor; prezintă dezavantajul că nu se cunoaște exact aria suprafeței de pe care a fost recoltată proba.

Recoltarea prin utilizarea de pelicule adezive sterile - acestea se aplică întâi pe suprafața de cercetat, apoi pe suprafața mediului de cultură (timp de aproximativ 30 de secunde), astfel realizându-se însămânțarea germenilor. Metoda permite măsurarea precisă a ariei suprafeței analizate (este chiar aria peliculei folosite la recoltare).

Recoltarea prin contact direct al obiectului/suprafeței de cercetat cu mediul de cultură timp de 15 secunde este o metodă în care recoltarea probelor

coincide cu însămânțarea lor pe medii de cultură; prezintă dezavantajul că nu se cunoaște exact aria suprafeței de pe care a fost recoltată proba [2, 11].

2.2. Însămânțarea probelor pe medii de cultură și termostatare

După însămânțare pe medii de cultură (aspect abordat odată cu „recoltarea probelor”), probele se termostatează la 37°C timp de 24 de ore. Numărul de germeni recoltați se apreciază în funcție de numărul de colonii dezvoltate în timpul termostatării, pornind de la principiul că din fiecare germen însămânțat se dezvoltă o colonie.

Mediile de cultură folosite sunt cele menționate la capitolul 1.1.4.1.2.

Rezultatele determinărilor se exprimă în număr de germeni/cm² [2, 11].

2.3. Interpretarea rezultatelor

Aprecierea contaminării obiectelor și a suprafețelor se realizează în funcție de aceleași două categorii de indicatori (uzuali și complementari) folosiți pentru aprecierea contaminării aerului.

Interpretarea rezultatelor se face prin raportare la următoarele valori orientative:

- germeni mezofili:
 - în săli de operație - sub 2/cm²;
 - în săli cu risc crescut - sub 3/cm²;
 - în saloane și alte încăperi din unitățile sanitare - sub 5/cm²;
 - pe mâinile chirurgilor după spălare - sub 10/cm²;
 - pe mâinile personalului medical (cu excepția chirurgilor) - sub 40/cm²;
 - pe instrumentarul sterilizat - absenți;
- streptococi hemolitici - absenți;
- stafilococi hemolitici - absenți;
- germeni coliformi – absenți.

Precauțiuni universale

În conformitate cu *Ordinul MS 1101/2016 privind aprobarea Normelor de supraveghere, prevenire și limitare a infecțiilor asociate asistenței medicale în unitățile sanitare* (anexa 4), în orice cadru în care este asigurată asistență medicală se impune aplicarea unor măsuri minime obligatorii de prevenire și limitare a răspândirii infecțiilor.

Aplicarea acestor măsuri pornește de la următoarele trei reguli de bază:

1. toți pacienții se consideră potențial infectați cu agenți patogeni cu cale de transmitere sanguină, cunoscut fiind faptul că cei mai mulți dintre purtătorii de agenți patogeni sunt asimptomatici și nu-și cunosc starea de purtător;

2. sângele, celelalte fluide biologice și țesuturile tuturor pacienților se consideră a fi potențial infectate cu agenți patogeni cu cale de transmitere sanguină. Prin urmare, se consideră „la risc” contactul tegumentelor și mucoaselor cu sânge, lichid amniotic, lichid pericardic, lichid peritoneal, lichid pleural, lichid sinovial, lichid cefalo-rahidian, spermă, secreții vaginale, țesuturi și orice alte fluide organice vizibil contaminate cu sânge;

3. acele și alte obiecte folosite în practica medicală sunt considerate contaminate după utilizare.

Măsurile minime obligatorii de prevenire și limitare a răspândirii infecțiilor se aplică tuturor pacienților îngrijiți (indiferent de statutul lor de infecțiozitate suspectat sau confirmat) și sunt concepute atât pentru a proteja personalul sanitar, cât și pentru a preveni răspândirea infecțiilor în rândul pacienților; ele includ **precauțiuni standard** și **precauțiuni adresate căii de transmitere a infecției**.

1. Precauțiunile standard includ igiena mâinilor, utilizarea echipamentului individual de protecție, practici sigure de injectare, manipularea în condiții de siguranță a echipamentelor medicale și igiena respiratorie:

- igiena mâinilor este esențială pentru reducerea riscului de răspândire a infecțiilor. Utilizarea antisepticelor alcoolice este metoda preferată în toate situațiile clinice, cu excepția cazurilor când mâinile sunt vizibil murdărite cu sânge ori cu alte fluide biologice și/sau după examinarea pacienților cu infecție cu *Clostridium difficile* ori *norovirus*, situații în care trebuie utilizate apa și săpunul;
- utilizarea echipamentului individual de protecție (mănuși, halate, protectoare faciale ș.a.), în funcție de expunerea anticipată. Igiena mâinilor este întotdeauna etapa finală după îndepărtarea și aruncarea echipamentului;
- practici sigure de injectare, pentru a preveni transmiterea bolilor infecțioase atât de la un pacient la altul, cât și între un pacient și personalul medical în timpul preparării și administrării medicamentelor de uz parenteral;
- manipularea în condiții de siguranță a echipamentelor medicale, de asemenea pentru a preveni transmiterii bolilor infecțioase de la un pacient la altul sau între un pacient și personalul medical în timpul manipulării echipamentelor medicale;
- igiena respiratorie și eticheta de tuse (tehnica de tuse și strănut presupune poziționarea la minimum un metru față de celelalte persoane din încăpere, utilizarea de batiste de nas de unică folosință, urmată de igiena mâinilor) - se adresează în primul rând pacienților și însoțitorilor cu simptomatologie de posibilă infecție respiratorie, dar și oricărei persoane cu asemenea manifestări, la intrarea în unitatea sanitară.

2. Precauțiunile adresate căii de transmitere vin să completeze precauțiunile standard în cazul pacienților probabil sau confirmat colonizați/infectați cu agenți patogeni transmisibili; ele se aplică în situațiile în care calea de transmitere nu este complet întreruptă prin utilizarea precauțiunilor standard.

Căile de transmitere pentru care pot fi necesare precauțiuni suplimentare sunt transmiterea prin contact, transmiterea prin picături de secreție și transmiterea aeriană.

2.1. Transmiterea prin contact se poate realiza direct sau indirect:

- direct - microorganismele se transmit de la o persoană la alta (prin contactul cu produsele biologice ale persoanei colonizate/infectate cu agenți patogeni);
- indirect - microorganismele se transmit prin intermediul suprafețelor și/sau obiectelor contaminate, atunci când igiena mâinilor personalului medical/de îngrijire este inadecvată sau când echipamentul nu este curățat, dezinfectat sau sterilizat corespunzător.

Precauțiunile adresate transmiterii germenilor prin contact vizează:

- utilizarea echipamentului de protecție atunci când este posibil contactul cu un mediu contaminat cu germeni rezistenți la antibiotice (enterococi rezistenți la vancomicină VRE, stafilococ aureu rezistent la meticilină MRSA) sau *Clostridium difficile*;
- amplasarea pacientului fie singur într-o rezervă, fie într-un salon cu un alt pacient infectat cu același agent patogen;
- purtarea de mănuși curate și de echipament de protecție curat la intrarea în salon.

2.2. Transmiterea prin picături de secreție (la mai puțin de 2 m de sursă) poate fi directă (când picăturile ajung la nivelul mucoaselor sau sunt inhalate) și indirectă (când picăturile cad pe suprafețe sau pe mâini și sunt ulterior transmise pe mucoase sau pe alimente). Acest mod de transmitere este mai frecvent în infecțiile respiratorii comune, în gripă, în infecții cu virus sincițial.

Precauțiunile suplimentare care vizează această calea de transmitere constau în:

- amplasarea pacientului fie singur într-o rezervă, fie într-un salon cu alți pacienți infectați cu același agent patogen;
- purtarea de protectoare faciale când se lucrează la 1-2 metri de pacient; în situația în care este necesar transportul pacientului, acestuia i se aplică o mască.

2.3. Transmiterea aeriană se realizează prin intermediul particulelor mici (nuclei de picături, praf bacterian) care pot fi transportate de curenții de aer pe o distanță mai mare de 2 m față de sursă și, ulterior, inhalate (varicel-zoster, rujeola, tuberculoza pulmonară).

Precauțiunile adresate transmiterii aeriene a germenilor vizează plasarea pacientului într-o cameră de izolare cu presiunea aerului negativă în raport cu coridoarele, aerul fiind evacuat direct spre exterior sau recirculat prin filtre HEPA (high efficiency particulate air). În situația în care nu există astfel de facilități, simpla plasare a pacientului singur într-o rezervă (prevăzută cu grup sanitar și cu duș) reduce riscul de transmitere a germenilor.

Pentru bolile care au mai multe căi de transmitere se poate utiliza o combinație de măsuri de precauție. Măsurile se aplică în conformitate cu semnele și simptomele pacientului și în general nu se așteaptă rezultatele de laborator.