

## ANALIZA MICROBIOLOGICĂ SANITARĂ A AERULUI

### 60.1. DATE GENERALE

Analiza bacteriologică sanitară a aerului permite o apreciere igienică și epidemiologică a mediului aerian, pe baza căreia putem stabili un complex de măsuri pentru profilaxia infecțiilor aerogene, a căror pondere în patologia infecțioasă este considerabilă.

Aerul este un mediu în care microorganismele nu se multiplică din cauza lipsei nutrienților. Microorganismele care impurifică aerul provin din sol, apă, organismele vegetale, animale și uman, precum și din diverse activități ale omului. De aceea microflora aerului atmosferic și din încăperile închise diferă substanțial, atât cantitativ, cât și calitativ. În aerul atmosferic microflora este mai bogată vara și mai redusă iarna, pe când în încăperile închise iarna se depistează mai mulți microbi, inclusiv patogeni, iar vara mai puțini. O atenție deosebită se acordă studierii microflorei aerului din instituțiile de copii și unitățile sanitare.

Analiza microbiologică a aerului presupune studierea diversității speciilor microbiene, precum și cuantificarea indicatorilor microbiologici.

Aprecierea stării sanitare a aerului din încăperile închise se efectuează pe baza concentrației indicatorilor microbiologici, ca stafilococii și streptococii  $\alpha$ - și  $\beta$ -hemolitici, precum și numărului total de microorganisme per  $m^3$  de aer.

În clinicile chirurgicale, maternități și în alte instituții medicale se determină flora potențial patogenă, care cauzează deseori infecții nosocomiale (*Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Proteus* ș. a.). Se examinează aerul în sălile de operații, saloanele postoperatorii, sălile de pansament, secțiile de reanimare, sălile de naștere, saloanele postnatale, în grădinițele de copii, creșe, școli, policlinici, farmacii, precum și în locurile de concentrare în masă a populației cum ar fi cazărmi, cinematografe, săli de sport etc. În tabelele 60.1 și 60.2 prezentăm criteriile microbiologice de apreciere a aerului din încăperi și din instituții curative.

Tabelul 60.1. Criterii de apreciere a aerului din încăperi

Indicatorii	Vara		Iarna	
	curat	impurificat	curat	impurificat
NTM la $1 m^3$	$\leq 1500$	$\geq 2500$	$\leq 4500$	$\geq 7000$
Streptococi la $1 m^3$	<16	<36	<36	<124

**Tabelul 60.2. Aprecierea aerului în instituțiile curative**

Obiectul	Condițiile de activitate	NTM la 1 m <sup>3</sup>	Concentrația admisă la 1 m <sup>3</sup>	
			stafilococi patogeni	streptococi
Sală de operații	Până la operație	<500	—	—
	După operație	<1000	—	—
Saloane postoperatorii		<750	—	—
Secție de reanimare		<750	—	—
Sală de naștere	La începutul travaliului	<1500	—	—
Saloane postnatale		<2000	Până la 16 în total	
Saloane pentru nou-născuți		<1500	Până la 12 în total	
Sală de pansament	Până la lucru	<750	—	—
Salon de spital	Vara Iarna	<3500	<24	<16
		<5000	<52	<36

## 60.2. EFECTUAREA ANALIZEI

### 60.2.1. Recoltarea probelor

Pentru analiza microbiologică a aerului din încăperi închise se prelevă probe la fiecare 20 m<sup>2</sup> de suprafață, din 5 puncte (4 puncte la colțuri și în centru) situate la 0,5 m de la pereți și la o înălțime de 1,6—1,8 m de la podea (nivelul respirației în încăperile de locuit), și la nivelul patului în saloanele de spital. Recoltarea se face ziua în perioada activității intensive a omului și după curățenia umedă și ventilarea încăperii.

Aerul atmosferic din zonele de locuit se recoltează de la o înălțime de 0,5—2 m de la sol, în apropierea surselor de impurificare, precum și în zonele verzi (parcuri, grădini etc.).

Probele de aer pot fi recoltate prin metoda de sedimentare sau de aspirație.

■ *Metoda de sedimentare*, deși mai puțin exactă, este încă destul de frecvent aplicată, din cauză că este simplă și accesibilă. Metoda a fost propusă de Robert Koch și constă în capacitatea microorganismelor de a se sedimenta pe suprafața mediului de cultură în cutia Petri deschisă. Sedimentarea se face atât gravitațional, cât și sub influența mișcării aerului împreună cu particulele de praf și picăturile de aerosoli. Cutiile trebuie plasate orizontal în punctele de recoltare. Pentru determinarea numărului total de germeni se folosesc cutii cu geloză obișnuită, pentru stafilococi geloză hiperclorurată cu lapte sau cu lapte și ou, iar pentru streptococi mediul Garro (geloză cu sânge defibrinat de iepure și violet de gențiană). Pentru depistarea microorganismelor patogene se utilizează medii speciale corespunzătoare. Metoda de sedimentare are mai multe dezavantaje: sedimentează numai fracțiunile

macrodisperse ale aerosolului, deseori coloniile se formează din aglomerații de celule și nu din celule aparte, pe medii cresc numai o parte din microorganismele microflorei aerului. Metoda nu este utilă pentru analiza aerului atmosferic.

■ *Metoda de aspirație* este mai avantajoasă. În această metodă are loc sedimentarea forțată a microorganismelor din aer pe suprafața mediului de cultură sau în lichidul de captare (bulion peptonat, soluție tampon, soluție salină izotonă ș. a.). Pentru aceasta se folosesc aparatul Krotov, captatorul Recimenski, diverse dispozitive propuse de Kiktenko, Diakonov, Andersen ș. a. Pentru examinarea aerului atmosferic pot fi utilizate și membranele filtrante N4, prin care aerul se aspiră cu ajutorul aparatului Seitz.

*Aparatul Krotov* se folosește pentru analiza aerului din încăperile închise. Principiul de funcționare: aerul aspirat printr-o fantă din capacul aparatului se lovește de suprafața mediului de cultură, iar particulele de praf și aerosoli se lipesc de mediu și o dată cu ele microorganismele pe care le vehiculează. Cutia Petri cu mediul de cultură se montează pe măsura rotativă a aparatului, ceea ce asigură repartizarea uniformă a bacteriilor pe suprafața mediului. Probele se recoltează cu o viteză de 20—25 litri/minut timp de 5 minute. Pentru depistarea indicatorilor microbiologici, se recoltează probe de aer de până la 250 litri.

*Captatorul Recimenski* constă dintr-un cilindru cavitat din sticlă în interiorul căruia este sudată o pâlnie cu un capilar care comunică cu rezervorul. Înainte de recoltarea probei, se introduce în rezervor 3—5 ml lichid de captare. Aparatul Recimenski lucrează după principiul pulverizatorului: la trecerea aerului prin orificiul îngust din pâlnie, lichidul din rezervor se ridică prin capilar în cilindru sub formă de picături. Picăturile de lichid se pulverizează prin impactul cu pereții vasului și cu lopățile de sticlă. Așa se formează un noruș de picături mici, pe care se adsorb microorganismele din aer. Picăturile de lichid saturate cu bacterii se scurg în rezervor, apoi, din nou, sunt dispersate, ceea ce asigură o captare maximă a bacteriilor. Aparatul trebuie să funcționeze sub un unghi de 15—20°, pentru ca lichidul să se scurgă în rezervor. Viteza recoltării probelor este de 10—20 litri/minut. După recoltare, 0,2 ml de lichid aspirat din rezervor, cu o pipetă sterilă, se epuizează pe suprafața mediului de cultură adecvat.

*Aparatul Diakonov* asigură foarte simplu captarea bacteriilor în lichid. Este un cilindru din sticlă în care, prin dop, trec 2 tuburi, dintre care unul se termină sub dop, iar al doilea se montează până la fundul cilindrului, unde pătrunde aerul aspirat. În cilindru se toarnă soluție salină izotonă sau apă de robinet sterilă prin care se aspiră un anumit volum de aer. La fundul dispozitivului se introduc perle din sticlă, pentru a micșora dimensiunile bulelor de aer și totodată pentru a mări suprafața de contact a aerului cu lichidul. După aspirație, se însămânțează 0,1—0,2 ml de lichid pe geloză sau 0,3—0,5 ml pe mediile selective.

Când se presupune o concentrație mică a bacteriilor în aer sau când se urmăresc bacterii patogene și potențial patogene, se filtrează lichidul de captare prin membrane filtrante N2 sau N3, care sunt însămânțate ulterior pe geloză sau pe medii selective.

*Membranele filtrante.* Mai frecvent se utilizează membrane filtrante din nitrocluloză. În prealabil se fierb de două ori, câte 20 minute în apă distilată, după care se usucă, aseptice, la 37° în cutii Petri între două straturi de hârtie de filtru. Astfel pregătite, membranele filtrante sunt montate în aparatul Seitz și se aspiră aerul cu aspiratorul. După recoltarea probei, se transferă membranele filtrante pe suprafața mediului de cultură solid. Membranele trebuie să fie uscate, deoarece în stare umedă prin ele nu trece aerul.

### 60.2.2. Determinarea numărului total de bacterii saprofite

Numărul total de microorganisme se determină la  $1 \text{ m}^3$  de aer. Cel mai frecvent se recoltează cu aparatul Krotov două probe a 100 litri aer în cutii Petri cu geloză, care sunt incubate 24 ore la  $37^\circ\text{C}$  și 48 ore la temperatura camerei. Numărul coloniilor per cutie trebuie să nu fie mai mare de 200—250. Se numără coloniile de pe ambele cutii și se calculează media aritmetică, după care se face recalcularea pentru  $1 \text{ m}^3$  de aer. Coloniile se studiază cu ajutorul lupei. Putem diferenția mai multe tipuri de colonii:

- coloniile bacililor sporogeni: mari, rotunde, cu margini dantelate, uscate, rugoase;
- coloniile pigmentate (galbene, albe, oranj, negre, albastre-verzui etc.) pot fi urmărite mai ușor după menținerea culturilor la lumină;
- coloniile fungilor cu suprafață pufoasă (*Mucor* și *Aspergillus*), cu suprafață compactă verzuie sau albă-cenușie (*Penicillium*);
- coloniile de actinomicete: alburii, încastrate în geloză.

Numărul fiecărei grupe de colonii se exprimă în procente față de numărul total.

Când se utilizează metoda de sedimentare după Koch, se apelează la calculele lui V. Omelianski, care a constatat că pe suprafața cutiei de  $100 \text{ cm}^2$  se sedimentează în 5 minute cantitatea de microbi conținută în 10 litri de aer.

### 60.2.3. Determinarea stafilococilor

Stafilococii sunt relativ rezistenți la diverși factori ai mediului și sunt foarte răspândiți în aerul din încăperile închise. Depistarea stafilococilor patogeni în aer indică o situație epidemiologică nefavorabilă.

Se prelevă, cu aparatul Krotov, probe de aer în volum de 250 litri pe 2—3 cutii cu geloză hiperclorurată cu lapte sau cu lapte și ou și cu geloză-sânge, care sunt incubate 48 ore la  $37^\circ\text{C}$ . Stafilococii patogeni formează colonii cu diametrul de 2—3 mm, înconjurată de o zonă de hemoliză clară. Pe geloză hiperclorurată cu lapte și ou coloniile sunt înconjurată de o zonă transparentă cu un halou opac. Se verifică microscopic, pe frotiu colorat Gram, coloniile suspecte, apoi se repică pe geloză înclinată. După 24 ore de incubare la  $37^\circ\text{C}$ , se testează coagulaza prin repicarea culturii pure într-o eprubetă cu 0,5 ml de plasmă citratată și diluată 1:4. Stafilococii patogeni coagulează plasma în 2—24 ore, formând un coagul gelatinos la fundul eprubetei. Se calculează numărul UFC de stafilococi la  $1 \text{ m}^3$  de aer.

Pentru determinarea sursei și căilor de răspândire a infecției, trebuie efectuat fagotipajul culturii izolate.

### 60.2.4. Determinarea streptococilor

Aerul se poluează cu streptococii eliminați de bolnavii cu scarlatină, amigdalite, piodermite, precum și de purtători. Alături de stafilococi ei sunt indicatori microbiologici. Pentru depistarea streptococilor se recoltează, cu ajutorul aparatului Krotov, 200—250 litri de aer în cutii Petri cu geloză-sânge sau cu mediul Garro, care sunt incubate 18—24 ore la  $37^\circ\text{C}$ , apoi 48 ore la temperatura camerei. Pe geloză-sânge streptococii formează colonii mici, punctiforme, albe-cenușii,  $\beta$ -hemolitice sau  $\alpha$ -hemolitice. Mai eficient este mediul Garro, pe care microflora asociată este inhibată prin violetul de gențiană.

Se numără coloniile suspecte și se repică în bulion glucozat pentru acumularea de cultură pură necesară identificării. În bulion streptococi cresc la fundul și pe pereții eprubetei, iar mediul rămâne transparent. Identificarea culturii pure se face pe baza testelor cunoscute: coci grampozitivi dispuși în lanțuri, catalazonegativi etc.

#### 60.2.5. Determinarea microorganismelor patogene

Depistarea microbilor patogeni în aer este mai dificilă din cauza concentrației lor relativ mici. Sunt căutați la indicații epidemiologice (izbucniri de infecții respiratorii, nozocomiale) sau pentru a aprecia starea sanitară a saloanelor de spital ori eficiența dezinfecției aerului. La investigarea infecțiilor nozocomiale, se determină prezența în aer a stafilococilor, streptococilor, pseudomonadelor, klebsiелеlor, proteilor ș.a.

Se prelevă probe de aer cu volum de cel puțin 1000 litri, iar însămânțările se fac pe mediile de cultură selective corespunzătoare patogenilor urmăriți. Dacă sunt utilizate aparate cu lichid de captare, după prelevare se mențin 24 ore în termostat, pentru multiplicarea bacteriilor, și apoi se fac repicări pe medii selective.

Pentru depistarea micobacteriilor, ca lichid de captare se utilizează mediul Șkolnikov, care apoi se tratează cu soluție 3% de acid sulfuric și se centrifughează. Sedimentul neutralizat se însămânțează pe mediul Lowenstein-Jensen, Popescu sau Finn, cu incubare la 37°C timp de 3 luni. Se examinează eprubetele însămânțate după 3 săptămâni, după care la fiecare 10 zile. Cultura pură obținută se identifică pe baza caracterelor morfotinctoriale și a testelor uzuale.

Bacilii difterici sunt depistați folosind mediul Clauberg ș.a.

În ultimii ani se acordă o atenție deosebită depistării salmonelelor în aerul din staționare în cazul izbucnirilor nozocomiale de salmoneloză. Este dovedită circulația biovarurilor spitalicești de *Salmonella* prin aer, praf, obiecte de uz curent. Probele de aer pentru depistarea salmonelelor se recoltează atât prin metoda de sedimentare, cât și de aspirație pe mediul cu bismut-sulfid. În metoda de sedimentare se mențin cutiile în saloane de la 30 minute până la 3—4 ore. Cu aparatul Krotov se examinează 100—200 litri de aer.