

# C'è nell'aria

## C'è qualcosa nell'aria...

### Il campionamento per la valutazione microbica dell'aria: un confronto tra metodi attivi e passivi nelle camere bianche.

Marcella Barbieri Saraceno

In anni recenti la qualità microbiologica dell'aria è stata oggetto di attenzione sempre crescente, non si esagera a dire che essa è lo specchio delle condizioni igieniche di una qualsiasi area, specialmente nel settore ospedaliero dove il controllo della contaminazione dell'aria è divenuto uno strumento indispensabile di prevenzione.

Tuttavia, il dibattito è ancora aperto sulla metodologia, l'interpretazione dei risultati ed il livello massimo di contaminazione accettabile.

La conta dei microbi presenti nell'aria non è un lavoro semplice, sostanzialmente i metodi ad oggi utilizzati possono essere divisi in 4 gruppi:

- La conta delle Unità Formanti Colonia per metro cubo d'aria (CFU/m<sup>3</sup>)
- La conta delle Unità Formanti Colonia sulle piastre di deposito (CFU/m<sup>2</sup>)
- La misura di un componente chimico delle cellule microbiche/m<sup>3</sup> (DNA, enzimi)
- La conta sotto il microscopio

La misura di un componente chimico delle cellule microbiche non ha finora dato risultati affidabili per problemi legati alla sensibilità degli strumenti utilizzati; la conta sotto il microscopio o la conta automatica in fluorescenza è ancora in studio e per ora ha mostrato limiti applicativi.

Al momento quindi, il metodo più utilizzato è la conta delle CFU, che permette di contare effettivamente i microrganismi vitali in grado di riprodursi. I campioni di aria a questo scopo possono essere raccolti in 2 modi: 1) con campionatori "attivi", che misurano il numero di CFU per metro cubo aspirando un volume d'aria conosciuto, facendolo passare attraverso un nutriente e poi misurando la crescita dopo un periodo di incubazione definito.

2) con campionatori "passivi", utilizzando piastre di sedimentazione contenenti un nutriente solido lasciate aperte per un determinato periodo di tempo.

Vengono messi a confronto i due metodi, per capire se – ed eventualmente in quale caso – un metodo è preferibile all'altro.

Ci sono molti campionatori attivi disponibili sul mercato, la loro diffusione è stata favorita dalla rapidità di utilizzo e dal fatto che diverse norme internazionali prevedono la misurazione della contaminazione microbica al m<sup>3</sup>.

E' emerso però da diversi studi che differenti campionatori attivi danno differenti risultati, benché usati nello stesso posto ed allo stesso tempo; inoltre è difficile se non impossibile confrontare i dati raccolti usando campionatori differenti: la conta finale differisce da un dispositivo ad un altro, inoltre non è sempre chiaro quale sia il criterio da adottare per la scelta del campionatore da utilizzare. Il dispositivo è difficile da sterilizzare, costoso, rumoroso e deve essere ri-calibrato frequentemente.

Una delle maggiori limitazioni dei campionatori d'aria è legata alla quantità di aria che deve essere prelevata: alcuni campionatori hanno una capacità di campionatura di 80 l/minuto. Se vogliamo testare 1 m<sup>3</sup> d'aria abbiamo bisogno di un tempo di esposizione di 15 minuti, ma potrebbe essere necessario aumentare di 15 minuti i tempi della campionatura per ottenere un campione rappresentativo dell'aria. Questo apre considerazioni sulla possibilità che in aree critiche si creino turbolenze che disturbano i normali flussi d'aria aumentando la probabilità di contaminazione. Oltre a questo una buona quantità di particelle biologicamente attive vengono inattivate durante il campionamento nell'impatto con il dispositivo e con il nutriente. Infine, tutti i regolamenti ufficiali sul controllo dei microrganismi aerotrasportati sono fondamentalmente basati sulla conta delle CFU al metro cubo senza specificare quale campionatore deve essere usato (ad eccezione della Gran Bretagna). Questo pone un serio problema perché l'efficienza dei diversi campionatori disponibili sul mercato è diversa.

La campionatura passiva dell'aria viene eseguita utilizzando piastre di sedimentazione. I dischi contengono un nutriente solido che viene lasciato aperto per un determinato periodo di tempo; i microbi trasportati dalle particelle inerti

cadono sulla superficie del nutriente e dopo l'incubazione a 37° le colonie crescono in numero proporzionale al livello di contaminazione microbica dell'aria.

Al metodo delle piastre di sedimentazione venne inizialmente rimproverato il fatto che non potesse essere considerato un metodo quantitativo perché influenzato dalla misura delle particelle e dal movimento dell'aria circostante; inoltre non poteva essere misurato il volume dell'aria dalle quali le particelle originano ed infine non era chiara la durata del tempo di esposizione: da 15 minuti a un'ora o più. Quindi diversi studiosi conclusero che il metodo delle piastre di deposito non potesse essere considerato un sistema per il monitoraggio microbiologico dell'aria nelle sale operatorie.

Successivamente, a seguito di studi specifici, alcuni degli stessi autori contraddissero le loro prime conclusioni sottolineando che le piastre di deposito possono avere un ruolo nel monitoraggio dell'aria in aree critiche perché riflettono il carico batterico più prossimo al sito chirurgico. Infatti le piastre di deposito sono sterili, economiche e permettono una facile leggibilità. I risultati sono riproducibili e affidabili, molti posti possono essere verificati nello stesso momento e i dati raccolti da differenti piastre in differenti punti da differenti operatori possono essere confrontate ed interpretate. Le piastre danno una misurazione della parte pericolosa della popolazione aerotrasportata che cade su superfici critiche in un certo momento: permettono la valutazione della contaminazione delle superfici generata dall'aria, riproducono le circostanze di inquinamento da particelle che si sedimentano nella ferita meglio del campionamento attivo e mostrano la contaminazione batterica delle superfici in modo più pratico e più rilevante come indicatori delle effettive contaminazioni delle ferite. Si è visto che entrambi i metodi sono sostenuti da alcuni e criticati da altri e che la comunità scientifica, anche nell'elaborazione di norme di buona prassi, non è unanime.

Tra le norme tecniche internazionali, l'unica che parli esplicitamente dei due metodi è la ISO 14698-1:2003, li illustra entrambi e fornisce una lunga lista di aspetti da considerare nello scegliere un metodo di campionamento senza però sbilanciarsi su quale sia preferibile nelle diverse circostanze:

- Tipo e misura di particelle da individuare
- Sensibilità delle particelle vitali alla procedura di campionamento
- Concentrazione attesa delle particelle vitali
- Capacità di misurare valori molto alti o molto bassi di biocontaminazione
- Terreno di coltura adatto
- Tempo e durata del campionamento
- Condizioni ambientali del luogo oggetto del controllo
- Interferenze sul flusso unidirezionale dell'apparecchio di monitoraggio
- Caratteristiche dell'apparecchio (velocità del flusso, appropriata velocità di impatto, necessità di attrezzatura ausiliaria, dipendenza da una pompa del vuoto, acqua, elettricità, etc).
- Facilità di pulizia, disinfezione e sterilizzazione
- Possibilità intrinseca che l'apparecchio aumenti il numero delle particelle vitali alla biocontaminazione da misurare.

Diversi studi hanno cercato di confrontare il carico microbico ottenuto da sistemi attivi e passivi ma con risultati inconsistenti: mentre in alcuni studi sembrava esserci una correlazione, in altri invece non si è arrivati alle stesse conclusioni.

Purtroppo non essendo standardizzato il metodo di campionamento dell'aria non è possibile confrontare i risultati dei diversi studi. A titolo di esempio, mentre Whyte trovò una correlazione tra metodo attivo e passivo con il "Active Casella Slit Sampler", Sayer non trovò la stessa correlazione usando il "Andersen Active Sampler".

Uno studio interessante è stato condotto nel 2012 da un gruppo di ricercatori dell'Ospedale Universitario di Bari, con lo scopo di valutare i livelli di contaminazione microbica nelle sale operatorie usando sia il campionamento attivo che quello passivo al fine di verificare una correlazione tra i risultati ottenuti con i differenti metodi.

Il campionamento passivo è stato svolto per determinare l'indice di contaminazione microbica dell'aria (IMA). Questo indice corrisponde al numero di unità formanti colonie contate su un disco di Petri con Ø 9cm posizionato secondo lo schema 1/1/1 (1 ora ad 1 m dal pavimento e ad 1 m dal muro o da un qualsiasi grande ostacolo). Le piastre IMA sono state posizionate in

sala operatoria ad 1 m dal tavolo operatorio ed i risultati espressi in CFU/m<sup>3</sup>/h. Poiché non ci sono valori-limite per le piastre IMA nelle linee guida ufficiali italiane, è stata presa come riferimento il valore-limite proposto dall'Associazione degli Ospedali Svizzeri per sale operatorie con flusso turbolento:  $\leq 5$  CFU/piastra Ø 9cm/h *at rest*, e  $\leq 25$  CFU/piastra Ø 9cm/h *in operational*.

Come campionatori attivi sono stati usati i SAS, (Surface System Sampler) con flusso di 180 l/minuto posizionati accanto alle piastre di sedimentazione. Poiché non ci sono documenti ufficiali per il controllo della biocontaminazione delle sale operatorie (volume d'aria da filtrare, durata della campionatura etc.), è stato preso come riferimento uno studio e filtrati 500 lt di aria *at rest* in un unico prelievo (in assenza di attività, i risultati del campionamento riflettono principalmente la performance del sistema di condizionamento e ventilazione). In questa situazione un singolo e continuo prelievo può essere paragonabile ad un'ora di esposizione delle piastre di sedimentazione.

*In operational*, i risultati del campionamento riflettono invece il rispetto delle procedure di igiene e del comportamento. Per questa ragione il campionamento attivo è stato svolto contemporaneamente all'esposizione delle piastre ma con cinque prelievi separati di 100 l ciascuno con intervalli di 12 minuti tra l'uno e l'altro poiché secondo altri studi, *in operational*, sono preferibili campionamenti attivi ad intervalli regolari. I campioni raccolti sono stati 32 *at rest* e 19 *in operational* poiché nelle altre 13 sale operatorie non seguì alcuna attività operatoria successivamente al campionamento *at rest*.

I limiti di accettabilità per il campionamento attivo sono invece stati presi dalle Linee Guida ISPESL (2009) relativi al campionamento dell'aria in sala operatoria con flusso turbolento: 180 CFU/m<sup>3</sup>.

La regressione lineare (Fig. 1-2) rivela una significativa associazione tra la presenza di persone e la conta di particelle vitali con entrambi i metodi: IMA e SAS.

La qualità microbiologica dell'aria delle sale operatorie è un indicatore significativo per il controllo delle infezioni associate alle cure: la carica microbiologica contenuta nell'aria può essere monitorata attraverso i due metodi: attivo e passivo ma, al momento, benché vengano raccomandati limiti, non ci sono precise linee guida su come ottenere tali valori.

Questo studio ha dimostrato che se un protocollo viene seguito in modo rigoroso, i risultati del campionamento attivo e passivo sono correlati sia nella situazione *at rest* che *at operatio-*

*nal*. La scelta tra i due dipende dalle informazioni che vogliamo ottenere: se vogliamo monitorare il rischio di contaminazione della ferita sarà preferibile il campionamento passivo; al contrario, se vogliamo ottenere informazioni sulla concentrazione di tutte le particelle attive inalabili, il metodo attivo sarà da preferire.

## BIBLIOGRAFIA

- Annals of Agricultural and Environmental Medicine, Monitoring of airborne bacteria and aerosols in different wards of hospitals – Particle counting usefulness in investigation of airborne bacteria.; 2015, Vol 22, No 4, 670-673.
- Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza del Lavoro. Linee guida per la definizione degli standard di sicurezza e di igiene ambientale dei reparti operatori. 2009,
- Napoli C., Marcotriggiano V., Montagna M., Air sampling procedure to evaluate microbial contamination: a comparison between active and passive methods in operating theatres. BMC Public Health, 2012; 12: 594
- Pasquarella C., Pitzurra O., Savino A.; The index of microbial air contamination. Journal of hospital infection (2000) 46: 241-256
- Pasquarella C, Veronesi L, Castiglia P, Liguori G, Montagna MT, Napoli C, Rizzetto R, Torre I, Masia MD, Di Onofrio V, Colucci ME, Tinteri C, Tanzi M: Italian multicentre study on microbial environmental contamination in dental clinics: a pilot study. Sc Total Environ. 2010, 408: 4045-4051. 10.1016/j.scitotenv.2010.05.010.
- Perdelli F, Sartini M, Orlando M, Secchi V, Cristina ML: Relationship between settling microbial load and suspended microbial load in operating rooms. Ann. Ig. 2000, 12: 373-380.
- Whyte W. Sterility Assurance and models for assessing bacterial contamination. Parenter Sc Technol 1995; 40: 188-197. |

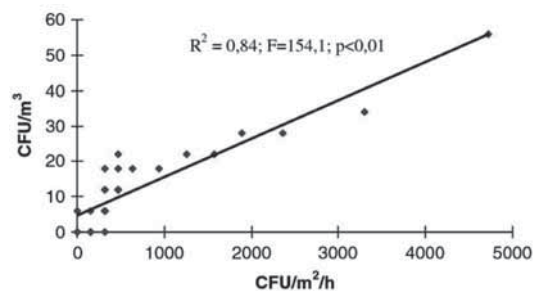


Fig. 1

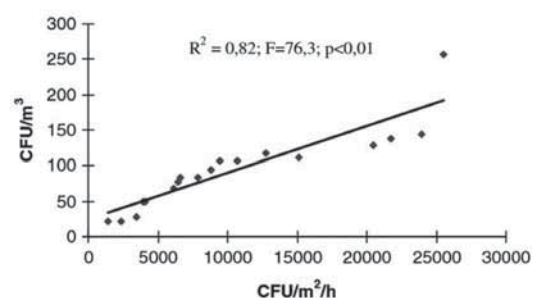


Fig. 2