

Muestreo de aire, ¿con placa de contacto o con placa Petri?

Donate Fernández, Ana; Herrero Córdoba, M^a José; Ibáñez López, Míriam; Sanchis Solera, Jorge.
Laboratorios Microkit, S.L.

1. Antecedentes

Interminables investigaciones en el campo del muestreo microbiológico del aire, realizadas por 18 laboratorios de España e Italia durante todo el año 1999, con más de 2.600 muestras comparadas en duplicados, y en su mayoría publicadas en la revista *BIO* del Colegio de Biólogos, septiembre de 2000, nos enseñaron importantes conclusiones, básicamente:

1. La muestra mínima en superficies es de 100-125 cm², a causa de la distribución contagiosa, no homogénea, de los microorganismos. En el aire, el número de muestreos debe ser la raíz cúbica del volumen de la sala y el muestreo mínimo y máximo por placa debe ser de 200 l.

2. No existe correlación entre los recuentos de superficies y los del aire que las rodea, por la aparición de un factor que distorsiona contundentemente los resultados: La carga microbiana de las personas. Por ello, deben realizarse muestreos de aire y también de superficies.

3. A menor caudal de muestreo, menor velocidad de impacto, menor efecto rebote y mayor recuperación de microorganismos. Las diferencias son más significativas cuanto más limpio es el aire. Esta conclusión es incómoda porque aconseja un mayor tiempo de muestreo para un volumen dado de muestra, pero los resultados obtenidos obligan a tenerla muy en cuenta.

4. Las placas de contacto deben elaborarse con inactivadores de todos los desinfectantes residuales, no es suficiente añadir lecitina y polisorbato (que inactivan los amonios cuaternarios), o no inactivaremos además el cloro-lejía, derivados fenólicos y benzenicos, glutaraldehído...: Usar el medio TSA-Neutralizing. Además deben tener antidesecantes especiales, como el antiburbujas Microkit, para que el flujo de aire no las reseque.

5. Para hongos debe usarse Agar Rosa Bengala Caf., ya que es el único que demuestra una recuperación completa para hongos de crecimiento lento, sin que los rápidos invadan y enmasquen su aparición. La sensibilidad, así, se llega a duplicar.

6. Las incubaciones deben realizarse a dos (o tres) temperaturas: 21-25 °C para saprofitos, 35-37 °C para flora asociada al hombre (y 55 °C para actinomicetos y demás termófilos). Las poblaciones a esas temperaturas son distintas y están ahí, no pudiendo extrapolar del recuento a una temperatura, el recuento a la otra.

7. Los cabezales con más de 220 poros obtienen recuperaciones significativamente (32 %) inferiores de bacterias a caudal bajo y de hongos (84 %) a caudales altos. Además, no permiten aplicar el factor de corrección NMP, con lo que los recuentos son aún menores.

8. *Legionella pneumophila* sí puede recuperarse en el aire, siempre que esté en él, con los medios adecuados (BCYE correcto) y un muestreador de impacto tipo Microflow.

Nos faltaba un parámetro comparativo que hemos estudiado ahora: El formato del medio de cultivo en el muestreo de impacto:

Placa de contacto (superficie convexa) y placa Petri convencional (superficie plana).

2. Introducción

Es de todos sabido que la placa de contacto fue elegida desde los años 60 por los países mediterráneos no solo para control de

superficies, sino como estándar para control de aire por impacto. Por el contrario, el estándar elegido por los países centroeuropeos fue la placa Petri de 90 mm de diámetro.

La historia se repite dentro de España, habiendo elegido por abrumadora mayoría las empresas y consultorías la placa de contacto (por su duplicidad de uso superficies/aire en sus muestreos de fábrica o "de campo") y los hospitales la placa de Petri (por la comodidad que les supone su disponibilidad en el stock general del hospital).

Siempre se ha dicho que, al menos en teoría, la placa de contacto presentaba la ventaja de que, al no haber pared por encima del medio, no se formarían reflujos en el aire muestreado, mientras que, por el contrario, en las placas Petri, la pared aumentaría la turbulencia y el consecuente efecto rebote.

Nos propusimos confirmar la veracidad de esta afirmación, mediante este estudio, sorprendiéndonos hasta qué punto la práctica supera la teoría, ya que no pensábamos que la diferencia fuese a resultar tan tremenda. No ha podido ser un estudio interlaboratorio, porque nadie dispone simultáneamente de los dos tipos de muestreadores necesarios. Por ello, todo laboratorio que disponga de muestreador de placa Petri y quiera verificar las afirmaciones de este estudio, tiene tres opciones:

1. Adquirir o alquilar un muestreador de impacto para placas de contacto, por la plena confianza que tengan en la seriedad de nuestros resultados. Si el aparato pedido o alquilado es Microflow y los resultados que obtiene no son semejantes a los aquí publicados, nos comprometemos a devolver el dinero, siempre que el equipo esté en las correctas condiciones en que fue entregado.

2. Pedir prestado un muestreador de impacto para placas de contacto. Microkit ofrece esta modalidad siempre que exista el compromiso serio de que, si los resultados son similares a los de esta publicación, el cliente se quede con el Microflow mediante un pedido en firme del mismo (somos una empresa privada y no podemos hacer préstamos sólo para que otras entidades confirmen la veracidad de nuestras afirmaciones).

3. Fabricarse placas Petri con menisco y realizar, sobre la marcha, al menos 10 muestreos duplicados comparando con placas Petri convencionales. Esta modalidad perdería rigor ya que, al no poder tomarse las dos muestras comparativas a la vez (a no ser que se tengan dos muestreadores de placa Petri), aunque sean inmediatamente consecutivas, no se compara la misma muestra. Pero es, sin duda, la opción más asequible.

3. Material y métodos

Se fijaron todos los demás parámetros para que el estudio fuese objetivo:

- Volumen, idéntico en ambos casos (200 l)

- Caudal, idéntico en ambos casos (0,5 l/s, elegido por haberse demostrado el más sensible en nuestras anteriores publicaciones)

- Tiempo de muestreo, idéntico en ambos casos (200/0,5 = 400 s)

- Hora, minuto y segundo de inicio, idénticos para que la muestra fuese la misma

- Posición, idéntica en ambos casos, y completamente paralelos
- Lugar de los dos muestreadores, separados por menos de 20 cm

- Número de poros del cabezal, de 220 en ambos casos

- Medio de cultivo, aspecto y día de su fabricación, idénticos en ambos casos

- Temperatura y tiempo de incubación, idénticos en ambos casos (48 horas a 37 °C para bacterias y 7 días a 25 °C para hongos).

Se tomaron muestras simultáneas con dos muestreadores de aire de impacto, uno para placas de contacto y otro para placas Petri. Se utilizaron, en el primero, placas de contacto recién fabricadas y, en el segundo, placas Petri recién fabricadas con los medios de cultivo: TSA-Neutralizing para bacterias y Rosa Bengala Cloranfenicol para hongos (levaduras y mohos). Todos los muestreos fueron de 200 l. Las placas de contacto y placas Petri de TSA-Neutralizing se incubaron 48 horas a 37 °C. Las de Rosa Bengala Cloranfenicol, 7 días a 25 °C. El número total de muestras fue de 160 (80 duplicados para bacterias y 80 duplicados para hongos) más los blancos.

Para evitar conclusiones erróneas, se tuvo en cuenta que la distinta naturaleza de los muestreadores podía echar por tierra todo el estudio; para evitarlo, y que las conclusiones afectaran sólo al formato del medio de cultivo (placa de contacto o placa Petri), nunca al tipo de muestreador, se tomaron muestras, como blanco, de placas Petri de 60 mm en muestreador de placas de contacto y de placas Petri de 90 mm, pero convexas, en muestreador de placas Petri de 90 mm.

Por fin, en Italia se estaba realizando, a la vez que este, el estudio inverso, en que comparan ambos tipos de muestreador con un mismo tipo de placa (placa Petri de 60 mm y de 90 mm en muestreador Microflow-clásico y Microflow-90, respectivamente). Aunque estaban empezando en el momento de escribir este artículo, nos apuntaban que a caudales altos las diferencias no estaban resultando significativas entre ambos tipos de muestreador y con el mismo tipo de placa en ambos.

4. Resultados

De los 80 muestreos duplicados (muestreador A + placas de contacto / muestreador B + placa Petri de 90 mm) para cada uno de los dos parámetros (bacterias por un lado y hongos –levaduras y mohos– por otro) se expresan a continuación los resultados obtenidos.

La tabla de resultados medios obtenidos para bacterias es la siguiente, una vez eliminados los duplicados para los que alguna

placa (de contacto o Petri) daba resultados incontables. Cada número es la media de 10 muestras:

Zona muestreada	Placa de contacto	Placa Petri 90 mm	Contacto/Petri
Laboratorio	215 ufc/m ³	31 ufc/m ³	6,93
Almacén limpio 1	83 ufc/m ³	17 ufc/m ³	4,88
Almacén limpio 2	47 ufc/m ³	17 ufc/m ³	2,76
Almacén sucio alto	179 ufc/m ³	25 ufc/m ³	7,16
Recepción	310 ufc/m ³	128 ufc/m ³	2,42
Cabina	32 ufc/m ³	4 ufc/m ³	8,00
Exclusa	89 ufc/m ³	20 ufc/m ³	4,45
Calle (control)	214 ufc/m ³	104 ufc/m ³	2,05
Media bacterias	146 ufc/m ³	43 ufc/m ³	3,40

La media de los blancos fue: placa convexa de 90 mm en muestreador de placa Petri: 40 ufc/m³; placa Petri de 60 mm en muestreador de placa de contacto: 2 ufc/m³: Ratio 20 veces mejor la placa convexa, en placa Petri de 60 mm los resultados son aún peor que en la de 90.

La tabla de resultados medios obtenidos para hongos es la siguiente, una vez eliminados los duplicados para los que alguna placa (de contacto o Petri) daba resultados incontables. Cada número es la media de 10 muestras:

Zona muestreada	Placa de contacto	Placa Petri 90 mm	Contacto/Petri
Laboratorio	89 ufc/m ³	7 ufc/m ³	12,71
Almacén limpio 1	62 ufc/m ³	2 ufc/m ³	31,00
Almacén limpio 2	39 ufc/m ³	2 ufc/m ³	19,50
Almacén sucio alto	258 ufc/m ³	71 ufc/m ³	3,63
Recepción	340 ufc/m ³	61 ufc/m ³	5,57
Cabina	92 ufc/m ³	21 ufc/m ³	4,38
Exclusa	98 ufc/m ³	18 ufc/m ³	5,44
Calle (control)	411 ufc/m ³	190 ufc/m ³	2,16
Media hongos	174 ufc/m ³	46 ufc/m ³	3,78

La media de los blancos fue: placa convexa de 90 mm en muestreador de placa Petri: 32 ufc/m³; placa Petri de 60 mm en muestreador de placa de contacto: 6 ufc/m³: ratio 5,3 veces mejor la placa convexa, en placa Petri de 60 mm los resultados son aún peor que en la de 90.

5. Conclusiones

Para bacterias, en todos los casos y absolutamente en todas las muestras y sub-muestras, la placa de contacto recupera significativamente más ufc de bacterias que la placa de Petri convencional. En zonas sucias la diferencia es de más del doble a favor de la placa de contacto. En zonas limpias se nota aún más la diferencia, llegándose a recuperaciones hasta un 800 % superio-

res en placa de contacto que en placa Petri, lo que reconfirma la idoneidad del uso de este tipo de muestreador a bajos caudales en zonas limpias y confirma la idoneidad de su uso con placas de contacto y no con placas Petri convencionales. Como media general sin tener en cuenta el tipo de aire, obtenemos 3,4 veces (340 %) más recuento bacteriano con placa de contacto que con placa Petri.

Para hongos (levaduras + mohos) las diferencias son aún más abismales. En todos los casos y absolutamente en todas las muestras y sub-muestras, la placa de contacto recupera significativamente más ufc de hongos que la placa de Petri convencional. En zonas sucias la diferencia es de más del doble a favor de la placa de contacto. En zonas limpias se nota aún más la diferencia, llegándose a recuperaciones hasta un 3.100 % superiores en placa de contacto que en placa Petri. Como media general sin tener en cuenta el tipo de aire, obtenemos 3,78 veces (378 %) más recuento fúngico con placa de contacto que con placa Petri.

En ambos casos, bacterias y hongos, la regla mnemotécnica es que la recuperación con placa de contacto es de más del triple que con placa Petri.

En ambos casos, bacterias y hongos, los blancos demuestran categóricamente que no es, en absoluto, un problema del muestreador, sino del tipo de placa (placa Petri, sea de 90 o de 60 mm).

También es muy significativo el hecho de no haber encontrado ni una sola de las 160 muestras paralelas, en que haya mayor recuperación en placa de Petri que en placa de contacto, ni de bacterias ni de hongos, por lo que las conclusiones nos dan la razón en un 100 %.

No podemos, pues, pasar por alto este estudio comparativo y no podemos, en consecuencia, recomendar el uso de muestreadores con placas de Petri convencionales, con medio plano por debajo de la altura de la pared de la placa. En cambio, recomendamos, si cabe, aún con más entusiasmo que antes, los muestreadores con placas de contacto, con medio convexo por encima de la altura de la pared de la placa.

Llamamos la máxima atención de estos resultados a todo usuario pero, con especial énfasis, a quienes trabajan con salas blancas, no sólo a los laboratorios farmacéuticos, la mayoría de los cuales ya están concienciados de estas diferencias tan significativas, sino, sobre todo, a los hospitales que han de muestrear quirófanos, ya que hacerlo con un muestreador de placa Petri les puede suponer recuperaciones, al menos, 6 veces inferiores a caudal alto y con placa Petri que a caudal bajo y con placa de contacto, y por tanto, ¡marcar la diferencia entre detectar el problema o no detectarlo!

La idea de que, si hasta ahora, con un muestreador de placas de Petri obteníamos una media de 5 ufc bacterianas/m³, por ejemplo, con un muestreador de placas de contacto subiríamos a una media de 17 ufc/m³, por ejemplo, no es descabellada.

Pero no olvidemos aplicar también las conclusiones de nuestros anteriores estudios, ya que además habría que multiplicar por un factor de corrección de 2 a causa del caudal, por otro factor de corrección de 2 en hongos si se usó un medio diferente al

Agar Rosa Bengala Cloranfenicol, por otro factor de corrección de 1,3 (bacterias) o 1,8 (hongos) si se usaron cabezales con más de 220 poros... Llegándose a diferencias acumuladas potenciales de hasta un 884 % para bacterias y de hasta un 2.722 % para hongos. Si hasta ahora, con un muestreador de placas de Petri y con Agar Sabouraud obteníamos una media de 5 ufc fúngicas/m³, por ejemplo, con un muestreador de placas de contacto y con Agar Rosa Bengala subiríamos a una media de 38 ufc/m³, por ejemplo.

El problema más grave serán las muestras en que hayamos obtenido 0 ufc/m³ a caudal alto con muestreadores de placa Petri. En estos casos no hay reconversión posible, ya que dicho método se demuestra que no tiene la suficiente sensibilidad para captar, como mínimo, por debajo de, probablemente, 3,4 (tipo de placa) x 1,4 (caudal) x 1,3 (número de poros) = 6 bacterias/m³, y 3,78 (tipo de placa) x 1,84 (número de poros) = hongos/m³.

Aumentando la sensibilidad obtendremos resultados más reales y podremos prevenir mejor los eventuales problemas del futuro, aunque ello supondrá incrementar el valor máximo de nuestros límites de aceptabilidad.

El responsable del control microbiológico del aire debe sopesar si prefiere modificar o no su archivo histórico, y sus valores límite, a la vista de tan dramáticos resultados. De lo que no debe dudar es de la trascendencia de estas conclusiones de cara al futuro, tomando parte activa en ellas mediante la adquisición, a partir de ahora, de equipos de máxima sensibilidad en el muestreo microbiológico del aire (posibilidad de caudal de 0,5 l/s, cabezal con 220 poros...), con placas de contacto (de TSA-Neutralizing y de Rosa Bengala Caf.), como Microflow y Envirocount de Microkit.

Fax: 91 897 46 41.



¿Control microbiológico del aire?
... la respuesta es MICROFLOW

