



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Revisión

Control microbiológico ambiental

Carmen Ezpeleta-Baquedano^{a,*}, Jose Luis Barrios-Andrés^b
y Alberto Delgado-Iribarren García-Campero^c

^a Servicio de Microbiología Clínica, Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona, España

^b Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de Álava, Vitoria, España

^c Unidad de Microbiología, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Alcorcón, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 3 de marzo de 2012

Aceptado el 7 de marzo de 2012

On-line el 24 de abril de 2012

Palabras clave:

Contaminación ambiental

Infección cruzada

Desinfección

Keywords:

Environmental contamination

Cross infection

Disinfection

R E S U M E N

El medio ambiente hospitalario raramente está implicado en la transmisión de infecciones salvo en pacientes inmunodeprimidos. Algunos autores no recomiendan los cultivos ambientales porque son caros y laboriosos y no deben utilizarse como sustitutos de controles de calidad y prácticas adecuadas en los procesos de desinfección y mantenimiento de instalaciones.

No se recomiendan cultivos de vigilancia sistemáticos salvo en situaciones en que las muestras tengan importancia epidemiológica y los resultados puedan aplicarse para adoptar medidas de control de infección. La incidencia de infecciones nosocomiales puede minimizarse mediante un adecuado mantenimiento de dispositivos como la desinfección de endoscopios, la calidad del agua de diálisis o los sistemas de ventilación de quirófanos y unidades de aislamiento protector. En este artículo se revisan las indicaciones y los procedimientos de los cultivos de vigilancia para prevenir infecciones en unidades de inmunodeprimidos y quirófanos, diálisis y unidades de desinfección de endoscopios y brotes de infección nosocomial.

© 2012 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Article on SEIMC Procedure No.42: Environmental microbiological monitoring

A B S T R A C T

The inanimate hospital environment is rarely implicated in infection transmission, except among vulnerable patients. Some authors argue against the use of environmental surveillance cultures because the tests can be expensive and time consuming, and because they should not be used instead of quality control and good practices in disinfection and maintenance procedures.

Routine environmental sampling is not usually advised, except in situations where sampling is directed by epidemiologic principles, and results can be applied to adopt infection control measures. The incidence of health-care associated infections can be minimised by appropriate maintenance of medical equipment such as endoscope cleaning and disinfection, adherence to water-quality standards for haemodialysis, and to ventilation standards for specialised care environments such as isolation units, or operating rooms. This paper reviews the current knowledge on surveillance cultures in these settings in order to prevent iatrogenic infections in operating and isolation rooms, haemodialysis and endoscope reprocessing units, and cultures related to nosocomial infection outbreaks.

© 2012 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El medio ambiente hospitalario contiene numerosos microorganismos, pero solo en algunos casos se ha demostrado una relación causa efecto entre la presencia de microorganismos en el medio

ambiente y el desarrollo de infección. El control microbiológico ambiental sistemático no está recomendado. La mera presencia de microorganismos en el cultivo de una superficie u objeto inanimado no es suficiente para considerarlo la causa de un brote^{1,2}. En esta revisión se incluyen los cultivos de vigilancia de quirófanos y unidades de inmunodeprimidos, unidades de diálisis, endoscopios y cultivos ambientales relacionados con el estudio de brotes de infección nosocomial. No se incluye *Legionella* porque este tema ha sido objeto de otra revisión en esta revista.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: cezpeleb@navarra.es (C. Ezpeleta-Baquedano).

Control microbiológico del aire: quirófanos y unidades de inmunodeprimidos

Consideraciones clínicas

Los pacientes inmunodeprimidos, particularmente los pacientes con neutropenia profunda y prolongada, tienen riesgo de contraer infecciones invasivas por hongos filamentosos. Estas infecciones se adquieren por vía inhalatoria si en el aire que respiran hay esporas de hongos. Los hongos filamentosos están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Cuando hay obras en el hospital o en áreas próximas, el riesgo de infección aumenta porque se incrementa el número de esporas en suspensión. El género *Aspergillus* —particularmente *Aspergillus fumigatus*— es el que mayor número de infecciones causa, seguido de *Aspergillus flavus*. Los hongos filamentosos distintos de *Aspergillus* o mucorales, como *Fusarium* y *Scedosporium*, suponen hasta el 10% de las infecciones fúngicas invasivas en los trasplantes de médula ósea y hasta el 19% en los trasplantes de órgano sólido. Para asegurar que las unidades de pacientes neutropénicos están libres de hongos se recomienda realizar cultivos de aire de manera periódica para garantizar el buen mantenimiento y uso de las instalaciones, especialmente cuando haya obras próximas^{3,4}. En los quirófanos se pueden producir infecciones del lugar quirúrgico por hongos filamentosos si el aire del quirófano tiene esporas que pueden acceder al campo quirúrgico durante la intervención. Por este motivo el aire del quirófano debe ser filtrado. En general en los quirófanos hay 3 niveles de filtración. Según la eficiencia de filtración —y por tanto según la pureza del aire— hay varios tipos de quirófanos, cada uno de ellos recomendado para un tipo de cirugía. Los cultivos de aire no se deben utilizar como un sustitutivo de controles físicos de los sistemas de ventilación. Por otra parte, no existe un consenso sobre el número de mediciones y la forma de hacer los cultivos, y tampoco se ha demostrado una correlación entre los niveles detectados y la presencia de infecciones⁵.

Recogida de la muestra

Para la toma de muestras se recomienda el método volumétrico por impacto y aspiración, con un volumen de 1.000 l de aire en cada toma. El sistema aspira e impulsa un caudal de aire de 100 l/min a través de un cabezal perforado con numerosos orificios que impactan sobre la superficie de una placa de cultivo. No se recomienda el cultivo por sedimentación. Cada vez que se vaya a tomar una muestra, previamente hay que desinfectar el cabezal del aparato por donde se aspira el aire, o bien esterilizarlo si se dispone de suficientes cabezales de repuesto. La placa con medio de cultivo se coloca por debajo del cabezal de aspiración. Para el muestreo habitual de quirófano se realizan 2 tomas de muestras para recuento de hongos: una con el quirófano vacío y otra durante la actividad quirúrgica. La muestra que se toma con el quirófano vacío sirve para valorar la climatización y la estructura. La muestra que se toma durante la actividad quirúrgica sirve para valorar además la circulación del personal en el quirófano, la limpieza de los aparatos del quirófano o contaminaciones provenientes del entorno. Cuando se quiere descartar que la fuente de contaminación del aire del quirófano sean los aparatos con ventilador que están funcionando dentro del quirófano, se puede realizar una toma de muestra del propio ventilador mediante una torunda impregnada en medio de cultivo líquido.

Frecuencia del muestreo

En nuestro país varias comunidades autónomas han elaborado recomendaciones^{6,7}. En los quirófanos la frecuencia de muestreo para recuento de hongos depende del tipo de quirófano. En los

quirófanos de clase A de cirugía especial se recomienda una toma mensual; en los quirófanos de clase B de cirugía convencional se recomienda una menor frecuencia (cada 3 o 6 meses), y en los de clase C no se recomienda realizar controles sistemáticos. En las unidades de trasplante de médula ósea se recomienda realizar un muestreo para hongos al menos cada 6 meses. Además de los cultivos de muestreo convencional está indicado el muestreo ambiental del quirófano/unidad de inmunodeprimidos para hongos antes de poner en marcha la instalación, cuando haya obras en la proximidad, cuando se haya encontrado algún caso de infección con sospecha de tener su origen en el quirófano/unidad de inmunodeprimidos, o cuando en los controles rutinarios se haya encontrado la presencia de hongos. En estas situaciones se determinará la frecuencia del muestreo en cada caso, teniendo en cuenta los posibles factores que incidan en la contaminación.

Transporte y conservación de la muestra

La placa con medio de cultivo que está colocada en el aparato muestreador debe retirarse de este, teniendo cuidado de no contaminarla. Se le coloca la tapa y se sella con papel film para evitar contaminaciones en su traslado. Las muestras se envían al Servicio de Microbiología bien identificadas, indicando en el volante de petición el quirófano donde se ha realizado la toma de muestras y si es con quirófano vacío o durante la actividad quirúrgica.

Procesamiento de la muestra

En cuanto se reciben las muestras en el Servicio de Microbiología, se incuban en estufa convencional. Se realizan lecturas diarias de las placas para detectar crecimiento lo antes posible. Hay que tener cuidado al mover las placas que tengan crecimiento para evitar siembras secundarias y no alterar el recuento de colonias. En cada lectura se realiza el recuento de colonias e identificación, siguiendo los métodos habituales. Conviene realizar una identificación presuntiva rápida mediante la visualización del aspecto de las colonias a la lupa y la observación microscópica con azul de lactofenol.

Selección de medios de cultivo y condiciones de incubación

Para el cultivo de hongos filamentosos se recomienda un medio selectivo como la placa de Sabouraud con cloranfenicol y gentamicina. Se incuba a 30 o 37 °C durante 7 días en estufa convencional con lectura diaria. La temperatura óptima de crecimiento de la mayoría de los hongos ambientales oportunistas es de 30 °C. Si existe indicación epidemiológica de investigar una especie fúngica termotolerante, como *Aspergillus fumigatus*, es conveniente utilizar la incubación a 37 °C para inhibir el crecimiento de otros hongos ambientales.

Valoración e información de los resultados

Los valores admisibles para hongos filamentosos son 0 unidades formadoras de colonias (ufc)/m³. Al no existir una normativa aceptada universalmente, hay discrepancias en la literatura en cuanto a si hay que valorar todos los hongos filamentosos o solo *Aspergillus*. Si el resultado es negativo, se realizan informes provisionales durante la incubación y el informe definitivo a los 7 días. Si se obtiene un resultado positivo es importante efectuar un informe provisional rápido tras realizar las técnicas rápidas de identificación previamente descritas, indicando el recuento de colonias y el género del hongo, independientemente de que se demore la identificación del hongo a nivel de especie.

Control microbiológico en las unidades de diálisis

El agua que se emplea para la hemodiálisis es un elemento fundamental del proceso, pues se pone en contacto con la sangre a través de la membrana semipermeable del dializador y permite el intercambio de sustancias de forma bidireccional. Se trata de una solución electrolítica isotónica preparada a partir de agua purificada y concentrados electrolíticos o sales no disueltas con una composición electrolítica similar al plasma, denominado líquido de diálisis (LD), cuya calidad y pureza es crítica para una adecuada hemodiálisis. Actualmente se habla de LD ultrapuro cuando se obtiene a partir de agua altamente purificada o ultra pura, a la cual se aplican unos controles microbiológicos más estrictos. En esta revisión se abordarán exclusivamente los aspectos relacionados con la contaminación microbiológica, pero el control del proceso incluye otros aspectos de igual importancia que se analizan en otros laboratorios. Así, hay que determinar unos niveles máximos admisibles de endotoxinas, inferiores a 0,25 UE/ml. Las endotoxinas se titulan mediante una prueba basada en la activación de un lisado de amebocitos *Limulus*.

Recogida de la muestra

Se deben tomar muestras de diferentes puntos, y su periodicidad varía según las circunstancias⁸. En una primera fase de validación, después de su instalación o de una reparación importante, los controles microbiológicos del agua purificada o altamente purificada se realizan semanalmente durante los dos primeros meses, y si todo es correcto se pasa a la fase de mantenimiento, en la cual se ha de llevar a cabo al menos una vez al mes. Los controles del nivel de endotoxinas han de realizarse mensualmente en ambos periodos. Las tomas de los puertos de toma de agua de los monitores se deben realizar al comienzo de la sesión de diálisis. Cada centro debe establecer un protocolo consensuado que establezca la periodicidad, metodología, control de calidad y responsabilidades de estos controles. El muestreo para cultivos microbiológicos en el periodo de validación debe incluir el agua de aporte; el agua descalcificada; el agua tratada a la salida de la ósmosis, y en el punto más próximo al final del anillo de distribución. Además, en un mínimo del 20% de los monitores de la toma de agua, a la entrada al dializador y del drenaje. En el periodo de mantenimiento no es necesario tomar muestras en la zona de pretratamiento. Para el estudio de endotoxinas se requieren muestras del agua tratada a la salida de la ósmosis; en el punto más próximo al final del anillo de distribución, y al menos en el 10% de los monitores de la toma de agua. Estos son los requisitos mínimos, pero puede haber guías locales más exigentes en cuanto al muestreo y su periodicidad.

El punto de muestreo no debe limpiarse con desinfectantes del tipo hipoclorito u otros ácidos, y es admisible el empleo de alcohol al 70%, permitiendo después su evaporación. También se recomienda el uso de guantes estériles, y si se emplean instrumentos para abrir la válvula de seguridad, han de haberse esterilizado previamente. En cada punto de muestreo se debe dejar correr el chorro durante al menos 1 min hasta que drene una cantidad fija de agua. La muestra ha de recogerse en un contenedor estéril, con la sistemática habitual de la toma de muestras para microbiología. Para determinar la carga bacteriana del agua o LD ultrapuro, es necesario que se recoja un volumen de agua superior a un litro.

Transporte y conservación de la muestra

Es fundamental la celeridad en el procesamiento de las muestras para obtener resultados exactos y fiables. Si por circunstancias excepcionales se demora, la muestra se ha de mantener refrigerada, hasta un máximo de 24 h.

Procesamiento de la muestra

La mayor parte de los microorganismos cultivados en el agua de diálisis son bacilos gramnegativos no fermentadores. Es un grupo heterogéneo que incluye especies simbiotes, saprofitas y patógenas, aunque no es frecuente su aislamiento en el laboratorio clínico salvo en pacientes con factores de riesgo. El recuento del número de colonias puede realizarse de 3 formas, dependiendo del modo en que se procese la muestra. Lo más frecuente es la siembra en superficie, con asa calibrada o, para mayor exactitud, con micropipeta, siendo necesario sembrar al menos 0,1 ml. También se puede incorporar a un medio de agar licuado (dilución en masa o dilución en agar). Por último está la filtración a través de membrana, aunque requiere una mayor complejidad en el procesamiento, pero es necesario emplear este último método para el estudio del agua ultrapura. El número de bacterias viables se define y contabiliza como ufc. Se cuenta el número de colonias visibles en la placa de agar, y los resultados se expresan en función del volumen de líquido inoculado.

Selección de medios de cultivo y condiciones de incubación

Los dos medios recomendados son el TSA (Tryptic Soy Agar, Difco) y el medio R2A (de Reasoner, R2A, Oxoid), que es muy superior en cuanto a su capacidad de detectar microorganismos del agua. R2A es un medio pobre en nutrientes, e incubado a temperatura ambiente durante 14 días detecta mayor número de ufc que los medios más ricos incubados en cualquier condición de temperatura o de tiempo. Actualmente se recomienda el empleo de placas de agar de TSA con una incubación de 48 h a una temperatura de 37 °C y de R2A con una incubación de 5-10 días a una temperatura de 20-25 °C (temperatura ambiente) en aerobiosis. No se recomienda realizar la identificación de los microorganismos recuperados en el cultivo, y tan solo se llevará a cabo en casos de sospecha de infección por esta vía. La Real Farmacopea Española (RFE) no establece límites de contaminación específicos para hongos, pero sí que debe utilizarse un medio de cultivo para hongos. El más empleado es el medio de Sabouraud, y la temperatura de incubación es de 20 a 25 °C^{9,10}.

Criterios para la interpretación de los resultados

Como nivel máximo admisible, el agua purificada que se emplea para diluir el concentrado de diálisis debe contener menos de 100 ufc/ml. Se considera que los resultados son aceptables si ninguna de las muestras ofrece un recuento 10 veces superior al máximo fijado (> 1.000 ufc/ml) o cuando tan solo una o 2 muestras superan las 100 ufc/ml^{9,10}. El contenido de endotoxinas en el agua purificada para hemodiálisis no debe exceder las 0,25 UE/ml. Si para aumentar la calidad del agua de diálisis se emplea la denominada «agua ultra pura», el nivel máximo establecido es de menos 0,1 ufc/ml (10 ufc/100 ml) y menos de 0,03 UE/ml de endotoxinas, determinado por filtración con membrana con al menos 200 ml de agua altamente purificada. Se acepta de forma arbitraria un recuento máximo tolerable de hongos 10 veces inferior al de las bacterias. Generalmente el LD presenta recuentos mayores que el agua de diálisis, ya que por ejemplo el concentrado de bicarbonato se coloniza con facilidad. El control bacteriológico de los concentrados para diálisis es complejo y no está estandarizado, pues los microorganismos que se aíslan son difícilmente cultivables y requieren medios pobres en nutrientes con bicarbonato o cloruro sódico.

Información de los resultados

Información cuantitativa, expresando el número de bacterias viables en función del volumen de agua o LD procesado.

Control microbiológico de endoscopios

Consideraciones clínicas

Los endoscopios pueden transmitir infecciones si no son sometidos a procesos de desinfección o esterilización adecuados entre paciente y paciente. Los microorganismos más frecuentemente implicados en infecciones exógenas transmitidas a través de endoscopios son bacilos gramnegativos y micobacterias, aunque también hay casos de transmisión de virus de hepatitis B y C. La transmisión de infecciones se ha documentado después de la desinfección tanto manual como automática. Uno de los factores que influye en el acantonamiento de microorganismos en los endoscopios es su capacidad de formar biofilm. Atendiendo a la clasificación de Spaulding, los endoscopios digestivos y respiratorios se consideran dispositivos semicríticos puesto que penetran en cavidades no estériles. Estos dispositivos deben de ser sometidos a desinfección de alto nivel entre paciente y paciente, y el último aclarado debe realizarse con agua estéril o alcohol de 70° y posterior secado para evitar que en un ambiente húmedo se produzca el crecimiento de microorganismos como *Pseudomonas* spp. Sin embargo, los endoscopios que penetran en cavidades estériles, como los artroscopios, se consideran dispositivos críticos y deben ser sometidos a procesos de esterilización entre paciente y paciente, al igual que las pinzas de biopsia. Los procesos de esterilización disponen de sus propios controles tanto físicos como químicos y bacteriológicos que hacen innecesario un control microbiológico posterior. El objetivo de los controles microbiológicos es asegurar la correcta realización de todo el proceso de desinfección.

Recogida de la muestra

Hay que definir varios aspectos: el momento de toma de muestra, la frecuencia del muestreo, los puntos de toma de muestra y el método de recogida.

La muestra puede tomarse después del proceso de desinfección o tras la desinfección y almacenado para valorar si hay contaminación durante el almacenado, ya que si no se realiza el último aclarado con agua estéril o alcohol de 70° y no se seca bien el endoscopio, microorganismos como *Pseudomonas* pueden multiplicarse durante el almacenado. Por este motivo se recomienda la toma de muestras al menos 12 h después de almacenado el endoscopio tras la desinfección. La European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE-ESGENA) recomienda realizar controles al menos cada 3 meses^{11,12}. No hay que realizar cultivos de todos los endoscopios cada vez que se hace un control, sino una muestra de cada uno de los tipos de endoscopios asegurando la rotación del muestreo para que a final de año se hayan tomado muestras de cada uno de los endoscopios al menos una vez. Además, se deben realizar cultivos siempre que se sospeche de la existencia de un brote relacionado con el procedimiento^{13,14}. Puntos de toma de muestra: todos los canales del endoscopio, las superficies externas del endoscopio, la botella de agua conectada al endoscopio y el agua de aclarado final.

Método de toma de muestra

Canales del endoscopio. Para el control habitual hay que instilar 5-50 ml de suero salino al 0,9% estéril a través de cada uno de los canales del endoscopio y recogerlo posteriormente en un recipiente estéril. También se puede realizar mediante un cepillo estéril que se introduce en el canal y que luego se mezcla con suero estéril. Algunos canales, como el elevador del duodenoscopio, tienen una luz muy pequeña y debe tomarse la muestra con cantidades más pequeñas (por ejemplo, 5 ml de salino).

Superficies externas. La toma de muestras se realiza con una torunda estéril humedecida en suero salino estéril. Se recomienda

tomar muestras del extremo distal, puntos de apertura de canales y puente elevador de duodenoscopios.

Botella de agua. Tomar 2 muestras de 100 ml a través del conector habitual entre la botella y el endoscopio con una jeringa estéril.

Agua de aclarado final. Tomar 2 muestras de 100 ml con una jeringa estéril. Si se utilizan *desinfectadoras automáticas* hay que tomar muestras representativas de todo el proceso siguiendo las recomendaciones del fabricante. Al menos hay que tomar 2 muestras de 100 ml con una jeringa estéril del agua de aclarado final.

Transporte y conservación de las muestras

Se enviarán en recipientes estériles cerrados y etiquetados indicando el punto de toma de muestra y el número del endoscopio. El procesamiento debe ser rápido, porque es un cultivo cuantitativo; en caso contrario, se altera el recuento. Si se va a retrasar el procesamiento, hay que conservar las muestras a 4°C.

Procesamiento de la muestra

Las muestras se procesan para realizar recuento e identificación.

Muestra líquida de los canales del endoscopio. Recuento cuantitativo o semicuantitativo e identificación de aerobios y cultivo para micobacterias.

Recuento de aerobios. Cultivo cuantitativo de 1 ml en una placa de agar sangre incubando 48 h a 30°C. Puede concentrarse filtrando otros 10 ml de la muestra e incubando el filtro en una placa de TSA 48 h a 30°C o centrifugando la muestra y sembrando 1 ml del sedimento. Para cultivo de micobacterias hay que inocular el resto de la muestra en un medio específico, como Middelbrock 7H10 agar, e incubarlo a 37°C 21 días.

Torunda de superficie externa. Se agita la torunda en 10 ml de doble caldo TSB (Trypticase Soy Broth). Se agita en un vórtex y se incuba 48 h a 30°C. A las 48 h se hacen pases a placas de agar sangre y Mc Conckey.

Muestras de agua de aclarado y de botella conectada. Se realiza recuento e identificación de aerobios y cultivo para micobacterias. El recuento de aerobios, mediante filtración a través de un filtro con poro de 0,45 µ de un volumen de 10 ml y 100 ml; se siembra en agar R2A y se incuba 5 días a 30°C. Para micobacterias, se siembra en Middelbrock 7H10 agar y se incuba 37°C 21 días.

Selección de medios de cultivo y condiciones de incubación

En el caso de endoscopia gastrointestinal hay que utilizar medios para buscar microorganismos de flora oral y entérica como enterobacterias, estreptococos, enterococos y bacilo no fermentador. En el caso de los broncoscopios además hay que buscar micobacterias. En las lavadoras automáticas y agua hay que buscar BNF y micobacterias atípicas.

Criterios para la interpretación de los resultados

Para la interpretación de los resultados hay que tener en cuenta el tipo de microorganismo y el recuento. Si se aísla *S. epidermidis* o corinebacterias y el recuento es bajo, hay que pensar en contaminación al tomar la muestra, y se aconseja repetir la toma de muestras. Si se aíslan enterobacterias o enterococos en varios endoscopios con recuento medio y son de la misma unidad de endoscopios, hay que sospechar un fallo en la limpieza o desinfección, y se aconseja revisar el procedimiento de limpieza y desinfección y tomar nuevamente muestras. Si hay enterobacterias o enterococos en un solo endoscopio con un recuento elevado, puede haber un problema mecánico en el endoscopio; se recomienda no utilizarlo con pacientes, volverlo a desinfectar y realizar un nuevo control microbiológico, y si no se soluciona el problema, debe revisarlo el

fabricante. El hallazgo de *Pseudomonas* en el cultivo de una procesadora automática de duodenoscopios debe ser motivo de alerta rápida. Ha de retirarse del uso con pacientes hasta que se encuentre la fuente y se desinfecte. La presencia de micobacterias atípicas es indicadora de contaminación del agua o de la desinfectadora. Hay que tomar medidas en ambos casos. La ESGE-ESGENA establece los siguientes límites: líquido canales <20 ufc/canal; agua <10/100 ufc/ml; torunda superficie externa: tipo de microorganismo. No se realiza recuento¹⁵.

Información de los resultados

En el informe de resultados debe indicarse claramente la procedencia de la muestra, el número de serie del endoscopio, el recuento de colonias y la identificación del microorganismo.

Control microbiológico en relación con brotes de infección nosocomial

Consideraciones clínicas

Cualquier superficie o medio hospitalario son susceptibles de estar colonizados por microorganismos potencialmente patógenos, y ello hace que se puedan transmitir generalmente a través de las manos del personal sanitario a otras superficies, tanto animadas como inanimadas. En otras ocasiones pueden producirse brotes por medio de soluciones o fármacos contaminados. Aunque cualquier superficie puede ser el origen de un posible brote, no están justificados los cultivos ambientales de control o en ausencia de situaciones anómalas. Sí están indicados, en cambio, cuando haya una evidencia epidemiológica que sugiera que el personal o el entorno sanitario están relacionados con la transmisión de un patógeno nosocomial^{16,17}.

Recogida de la muestra

Los reservorios en los que se encuentran microorganismos potencialmente implicados en brotes nosocomiales son variados, pero de cara a orientar este punto se dividirán en tres tipos.

Superficies inanimadas o sólidas. Este tipo de superficies es muy amplio, pero cabe destacar interruptores de la luz, teclados y ratón de ordenador, fonendoscopios, mandos de grifería, ropas del personal, etc.¹⁶. Se recomiendan 2 métodos de toma de muestra, dependiendo de si la superficie es irregular o plana. Para las superficies irregulares utilizaremos un hisopo estéril humedecido con medio BHI. Tras humedecerlo, introduciremos el hisopo en la superficie a estudiar y lo rotamos varias veces. Tras esto, se corta la cabeza del hisopo con tijeras estériles para que caiga dentro del tubo de caldo BHI. Para las superficies planas —como estanterías, ropa, interruptores o poyatas— se pueden emplear varios métodos, como las esponjas, los trapos húmedos o las cintas adhesivas, pero el más comúnmente utilizado, por su sencillez, es el de las placas de contacto o placas RODAC (Replicate Organism Direct Agar Contact), que contienen medio de cultivo hasta obtener una superficie convexa que sobresale del borde de la misma. La recogida de la muestra debe realizarse preferiblemente antes de la limpieza diaria de la superficie a estudiar, ya que el efecto mecánico de arrastre podría dificultar el estudio. La toma se realiza colocando la superficie convexa de la placa sobre la superficie a estudiar, presionando levemente en línea recta durante un par de segundos por el lado opuesto teniendo mucho cuidado de no romper el agar. Una vez tomada la muestra, se cierran las placas, se identifica y se sellan.

Muestras del personal sanitario, básicamente las fosas nasales y las manos del personal sanitario. Para los cultivos de manos se emplean 2 métodos. El primero es por inmersión de las manos en bolsas estériles de polietileno. Estas bolsas han de contener 50 ml de

caldo BHI y se introducen las manos en dichas bolsas durante 1 min. Pasado este tiempo, se retiran las manos y las bolsas se cierran herméticamente. El segundo método consiste en la impresión de los dedos de la persona a estudiar en placas de agar. Se presionan las placas levemente con cada yema de los dedos, realizando posteriormente un movimiento de vaivén hacia delante a medida que se presiona hasta producir un pequeño corte en el agar con las uñas. Si se sospecha que el brote pudiera estar originado por microorganismos cuyo reservorio se encuentra habitualmente en las fosas nasales, deben tomarse muestras al personal sanitario que esté relacionado epidemiológicamente. Para ello, se introduce un hisopo en la parte anterior de cada orificio nasal y se rota varias veces.

Soluciones líquidas que se aplican al paciente, como soluciones intravenosas, jabones, antisépticos, etc. Si es posible, se recogen un mínimo de 100 ml en un recipiente estéril. Si se sospecha que el origen del brote es el envase que contiene la solución, decantar entre 10 y 50 ml de medio BHI en el recipiente, cubrir la boca con una tapa estéril y agitar vigorosamente durante 1 minuto. En el caso de los hemoderivados, se recogerán aseptícamente 20 ml de sangre de las bolsas sospechosas con una jeringa y se inocularán 4 ml de sangre en cada uno de 4 frascos de hemocultivo. Finalmente, se preparará una tinción de Gram con la sangre sobrante en la jeringa¹⁷⁻¹⁹.

Transporte y conservación de la muestra

No serán necesarias condiciones especiales de transporte y conservación, a excepción de las muestras de fosas nasales. En estas muestras se empleará un hisopo con medio de transporte y se podrán conservar a temperatura ambiente hasta 24 h o en nevera entre 2 y 8 °C si se demorase la siembra²⁰.

Procesamiento de la muestra

Tras su registro en el SIL, las muestras recogidas en placas RODAC o por impresión de los dedos en agar se incuban directamente. El caldo de las bolsas de inmersión se siembra en placas a la llegada al laboratorio. Unos 0,5 ml del caldo BHI se inoculan en las placas de cultivo. Se mueven rotatoriamente las placas para distribuir el líquido y después se secan en una cabina de seguridad biológica. Se incuban las placas invertidas y las bolsas hasta el día siguiente, volviendo nuevamente a sembrar el caldo de la misma manera. Las muestras recogidas con hisopo son procesadas de manera que los caldos con medio BHI se agitan en vortex durante 30 s. A continuación, se procesan de la misma manera que los caldos de las bolsas de inmersión. Los desinfectantes y antisépticos se siembran directamente en el agar. Se realizan varias diluciones del producto, con y sin neutralizadores específicos. Los productos sanguíneos siguen el procesamiento habitual del hemocultivo. Los contenedores con BHI ya inoculados se agitan en vortex y se sigue el mismo procesamiento que con el caldo de las bolsas¹⁸.

Selección de los medios de cultivo y condiciones de incubación

Hay placas RODAC con diversos medios de cultivo, y se recomiendan las de agar nutritivo no selectivo tipo TSA. Los medios en los que hay que sembrar el caldo BHI dependen del microorganismo que se esté tratando de recuperar. También son muy útiles los medios de cultivo cromogénicos, ya que permiten distinguir y aislar el microorganismo que se busca dentro de un cultivo mixto²⁰. Las placas RODAC se incuban a 32,5 ± 2,5 °C durante 24 h, tras lo cual se hace una primera lectura; si no hay crecimiento, se reincuban otras 24 h y se hace la lectura final. El resto de las placas de cultivo y los caldos nutritivos se incuban durante 24 h a 35 °C en aerobiosis, siguiendo el mismo proceso de lectura que con las placas RODAC. Los frascos de hemocultivos se incuban siguiendo la rutina habitual de estas muestras¹⁸.

Crterios para la interpretaci3n de resultados

Al comienzo del estudio hay que definir el microorganismo causante del brote. Cualquier cantidad de microorganismos de la misma especie aislados en los cultivos estudiados por tener un nexo epidemiol3gico, debe valorarse. En los cultivos realizados al personal sanitario, el hecho de aislar el mismo microorganismo implicado en el brote no establece la direcci3n de transmisi3n, ni implica al trabajador como fuente del mismo¹⁷. En el caso de las bolsas de sangre, los microorganismos aislados se comparan con los de los hemocultivos obtenidos por venopunci3n de los pacientes que presentaron la reacci3n transfusional. Un cultivo negativo hace muy improbable que la sangre se encontrase muy contaminada en el momento de la transfusi3n. Un cultivo positivo no da la certeza de que una infecci3n haya sido la causante del cuadro transfusional, ya que el microorganismo aislado puede haber jugado un papel de mero contaminante, ni tampoco define el origen de la contaminaci3n²¹.

Informaci3n de los resultados

Dado que en muchas ocasiones ser3 necesario llegar hasta la tipificaci3n molecular de los microorganismos aislados, es conveniente elaborar informes provisionales que ayuden en la toma de medidas por parte del equipo de control de infecci3n. Inicialmente se informa de la presencia o ausencia en una determinada muestra ambiental del microorganismo en cuesti3n. A continuaci3n, tras la realizaci3n de las pruebas bioqu3micas de identificaci3n, del antibiograma y de la comparaci3n de estos datos con los del microorganismo implicado en el brote hospitalario, se informa de la presencia o no de un microorganismo con caracter3sticas similares a las del causante del brote pendiente del resultado de las pruebas de tipificaci3n. Tras la realizaci3n de las pruebas de tipificaci3n se emite el informe definitivo y se describe la cepa como: id3ntica, muy relacionada, moderadamente relacionada o no relacionada¹⁷.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe ning3n conflicto de intereses.

Bibliograf3a

1. Sehulster LM, Chinn RYW, Arduino MJ, Carpenter J, Donlan R, Ashford D, et al. Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations from CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Chicago, IL: American Society for Healthcare Engineering/American Hospital Association; 2004.
2. Hota B. Contamination, disinfection and cross colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection. *Clin Infect Dis.* 2004;39:1182–9.
3. Recommendations of CDC, the Infectious Disease Society of America, and the American Society of Blood and Marrow Transplantation Guidelines for preventing opportunistic infections among hematopoietic stem cell transplant recipients. *MMWR.* 2000;49(RR10):1–128.
4. Tomblin M, Chiller T, Einsele H, Gress R, Sepkowitz K, Storek J, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplantation recipients: a global perspective. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;15:1143–238.
5. Haran S, Pittet D. Environmental controls in operating theatres. *J Hosp Infect.* 2002;51:79–84.
6. Pelaez Ros B, Andrade Lobato R, Rodriguez Caravaca G, Gonzalez Solana I. Prevenci3n y control de las infecciones de origen ambiental. Prevenci3n y control de la infecci3n nosocomial. Gu3a de buenas pr3cticas. Comunidad de Madrid: Consejer3a de Sanidad; 2007.
7. Carrandi B, De la Fuente K, Ezpeleta C, Ibarburu JL, Peiro E, Santos JM. Recomendaciones para la minimizaci3n de los riesgos microbiol3gicos asociados a las infraestructuras hospitalarias de Osakidetza. 2.ª ed. Vitoria-Gasteiz: Coordinaci3n de programas de salud publica. Osakidetza; 2009.
8. Gu3as de gesti3n de calidad del l3quido de di3lisis, marzo 2006 [consultado 8 Sep 2011]. Disponible en: www.senefro.org
9. European Pharmacopoeia 3rd Edition, Supplement 2001: Monograph 1997: 1167 corrected 2000. Haemodialysis solutions, concentrated, water for diluting [consultado 22 Sep 2011]. Disponible en: www.pheur.org
10. European Pharmacopoeia 3rd Edition, Supplement 2001: Monograph 2000: 0128. Solutions for haemodialysis [consultado 22 Sep 2011]. Disponible en: www.pheur.org
11. Beilenhoff U, Neumann CS, Biering H, Blum R, Schmidt V, Rey JF, and the ESGE Guidelines Committee. ESGE-ESGENA guideline for process validation and routine testing for reprocessing endoscopes in washer-disinfectors, according to the European Standard pr EN ISO 15883 parts 1,4 and 5. *Endoscopy.* 2007;39:85–94.
12. Beilenhoff U, Neumann CS, Rey JF, Biering H, Blue R, Schmidt V, and the ESGE Guidelines Committee. ESGE-ESGENA guideline for quality assurance in reprocessing: Microbiological surveillance testing in Endoscopy. *Endoscopy.* 2007;39:175–81.
13. Culver DA, Gordon SM, Mehta AC. Infection control in the bronchoscopy suite. A review of outbreaks and guidelines for prevention. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:1050–6.
14. Everts R, Holland D. Should we be doing endoscope surveillance cultures? *NZMJ.* 2002;115:1158.
15. GESA. Gastroenterological Society of Australia. Infection control in Endoscopy. Microbiological testing of gastrointestinal and respiratory endoscopes and automated flexible endoscope reprocessors [consultado 16 Ago 2011]. Disponible en: www.gesa.org.au/pdf/./Micro_Biology_Guidelines_Feb2008.pdf
16. Centers for Disease Control Prevention Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. 2003:88–140.
17. Diekema DJ, Pfaller MA. Infection control epidemiology and clinical microbiology. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, editores. *Manual of Clinical Microbiology.* 9th ed. Washington DC: ASM Press; 2007. p. 118–28.
18. Bond WW, Sehuester L. Microbiological Assay of Environmental and Medical-Device surfaces. En: Lynne SG, Isenberg HD, editores. *Clinical Microbiology Procedures Handbook.* 2.ª ed. Washington DC: ASM Press; 2004.
19. Larson EL, Strom MS, Evans CH. Analysis of three variables in sampling solutions used to assay bacteria of hands: type of solution, use of antiseptic neutralizers, and solution temperature. *J Clin Microbiol.* 1980;11:355–60.
20. Elicer M, Dominguez MA, Ezpeleta C, Padilla B, Ramirez de Arellano E, Martinez-Martinez L. Cultivos de vigilancia epidemiol3gica de bacterias resistentes a los antimicrobianos de inter3s nosocomial. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26:220–9.
21. Williams PP. Culture of Blood Bank Products. En: Lynne SG, Isenberg HD, editores. *Clinical Microbiology Procedures Handbook.* 2nd ed. Washington DC: ASM Press; 2004.