

NTP 610: Agentes biológicos: equipos de muestreo (II)

Agents Biologiques. Équipes de prélèvement (II)
Biological Agents. Bioaerosols Samplers (II)

Las NTP son guías de buenas prácticas. Sus indicaciones no son obligatorias salvo que estén recogidas en una disposición normativa vigente. A efectos de valorar la pertinencia de las recomendaciones contenidas en una NTP concreta es conveniente tener en cuenta su fecha de edición.

Redactora:

Ana Hernández Calleja
Lda. en Ciencias Biológicas

CENTRO NACIONAL DE CONDICIONES DE TRABAJO

En esta nota técnica, continuación de la NTP 609, se describen los aspectos fundamentales de los métodos de toma de muestras señalando, para cada tipo de muestreador, el agente biológico para el que está indicado, el tipo de análisis y las ventajas y limitaciones del método.

Aspectos básicos en la selección del muestreador

La elección de un muestreador de bioaerosoles depende del agente biológico objeto de interés, de la información que se desee obtener, de la concentración previsible de bioaerosol y del diámetro aerodinámico de las partículas. Otros aspectos que pueden condicionar la elección del equipo de toma de muestras son las condiciones ambientales y determinados factores ligados al equipo.

Entre las primeras destacan la forma, tamaño y densidad de la partícula; la velocidad del aire, su dirección y turbulencia; la carga eléctrica del aerosol y la temperatura, humedad y presión del aire. Entre los factores instrumentales citaremos la variabilidad existente intra e inter muestreadores; la velocidad de aspiración y variación de flujo que presente el equipo; las características del soporte de captación; la posición del muestreador y la orientación de la entrada de aire; el sesgo que puede suponer el dispositivo de entrada del aire que condiciona la eficacia de captación de las partículas; la densidad de superficie de partículas captadas o la forma en que las muestras son transportadas al laboratorio.

No existe un método estandarizado de muestreo de bioaerosoles; algunos muestreadores que pueden ser apropiados para algunas situaciones lo son en menor medida para otras. Por lo tanto, la mejor forma de elegir un muestreador es conocer sus características de funcionamiento y escoger en consecuencia. No se debe olvidar, por su importancia en la elección del equipo muestreador, el análisis al que se van a someter las muestras. El estudio teórico de la situación puede dar como resultado la necesidad de medir un determinado componente del bioaerosol que puede caracterizar perfectamente la exposición; la disponibilidad del equipo de muestreo idóneo y/o de la técnica analítica apropiada pueden marcar las limitaciones de la medición y, en consecuencia, de la evaluación.

Aunque no exista un único muestreador de bioaerosoles que se ajuste a todas las aplicaciones, algunos investigadores han especulado sobre las características que debería tener un muestreador ideal. De forma resumida, este muestreador ideal debería ser lo más eficaz posible en la captación de bioaerosoles y permitir todos los ensayos analíticos requeridos. En el cuadro 1 se listan esas características que, por otra parte, se pueden hacer extensibles a cualquier muestreador de aerosoles.

La información que los fabricantes de los equipos proporcionan a los usuarios facilita la elección del equipo más apropiado para cada aplicación. Esa información será útil también para desarrollar métodos de ensayo estandarizados y facilitar la rápida identificación de los equipos que pueden ser utilizados en sustitución de los designados como equipos de referencia. Algunas de esas especificaciones se pueden resumir en las siguientes:

- Descripción del equipo, principio de funcionamiento, esquemas, dimensiones, peso, etc.
- Aplicaciones recomendadas, limitaciones de uso (sesgo, posibles interferencias, etc.).
- Condiciones de uso en interiores y/o exteriores (temperatura, presión, humedad, radiación solar, velocidad del aire, etc.).
- Métodos de calibración del equipo.
- Datos sobre los diámetros de corte, eficacias de captación.
- Recomendaciones sobre las características de los soportes de captación (medios de cultivo, líquidos, tamaño de placas, filtros, etc.).
- Recomendaciones sobre la manipulación de las muestras, antes, durante y tras la captación.
- Información sobre los análisis compatibles con las muestras.
- Datos sobre los límites inferior y superior de detección, área de la superficie de captación, densidad superficial de partícula recomendada, tiempos de muestreo aconsejables, etc.
- Recomendaciones sobre el mantenimiento del equipo.

Recomendaciones para la elección de un método de medición

La Norma UNE-EN 13098 de mayo de 2000, en su anexo A, incluye las recomendaciones básicas para la selección de un método de medición de agentes biológicos. En la tabla 1, extraída de dicha norma, se muestran algunas de las ventajas y limitaciones de los métodos de medición más representativos.

En la figura 1 se muestra un diagrama para la elección del equipo de muestreo más idóneo. En el diagrama se hace un recorrido completo por las distintas opciones que pueden necesitar del muestreo y, en función de las respuestas, se sugiere un muestreador adecuado.

TABLA 1

Ventajas y limitaciones de los métodos de muestreo de microorganismos y productos microbianos (UNE 13098)

Método de muestreo		Método analítico	Entidad microbiana	Ventajas	Limitaciones	Atmósferas
Instrumento	Sustrato					
PARTE A: MICROORGANISMOS						
Muestreador con filtro para la fracción inhalable. Portafiltros normalizados de aerosoles para baja velocidad del aire y tamaño de partícula < 30 µm.	Filtro de policarbonato (de 0,4 µm a 0,6 µm)	Microscopía de fluorescencia	Microorganismos	<ul style="list-style-type: none"> Permite la estimación de exposición para efectos tóxicos y alérgicos. Es posible el muestreo personal. No hay un límite en la práctica para la duración del muestreo. Es posible el muestreo de la fracción inhalable. Pueden contarse los microorganismos en un bioaerosol complejo. 	<ul style="list-style-type: none"> No se tiñen las esporas de algunos hongos. En algunos agregados grandes puede ser difícil el conteo de microorganismos. Clasificación deficiente de los microorganismos. Laborioso. 	<ul style="list-style-type: none"> Atmósferas de trabajo con fuentes evidentes de microorganismos. Es menos útil en atmósferas de concentración baja.
		Microscopía electrónica de barrido	Esporas de hongos y actinomicetos	<ul style="list-style-type: none"> Permite la estimación de exposición para efectos tóxicos y alérgicos. Es posible el muestreo personal. No hay un límite en la práctica para la duración del muestreo. Es posible el muestreo de la fracción inhalable. Pueden contarse las esporas de hongos y actinomicetos, así como las esporas en los agregados. Es posible una clasificación. 	<ul style="list-style-type: none"> Puede ser difícil identificar las esporas en un bioaerosol complejo. La clasificación de los microorganismos es limitada. Laborioso. La instrumentación es costosa. 	
		Cultivo	Agregados cultivables de los microorganismos	<ul style="list-style-type: none"> Es posible el muestreo personal. Es posible la identificación de especies cultivables. Nivel de detección bajo. En cierto grado, los agregados se dispersan. Es posible el muestreo de la fracción inhalable. 	<ul style="list-style-type: none"> La estimación de la exposición para efectos tóxicos y alérgicos es limitada. Método poco representativo como sustituto de los no basados en el cultivo. Pueden morir las células bacterianas vegetativas. Poca precisión. Laborioso. 	

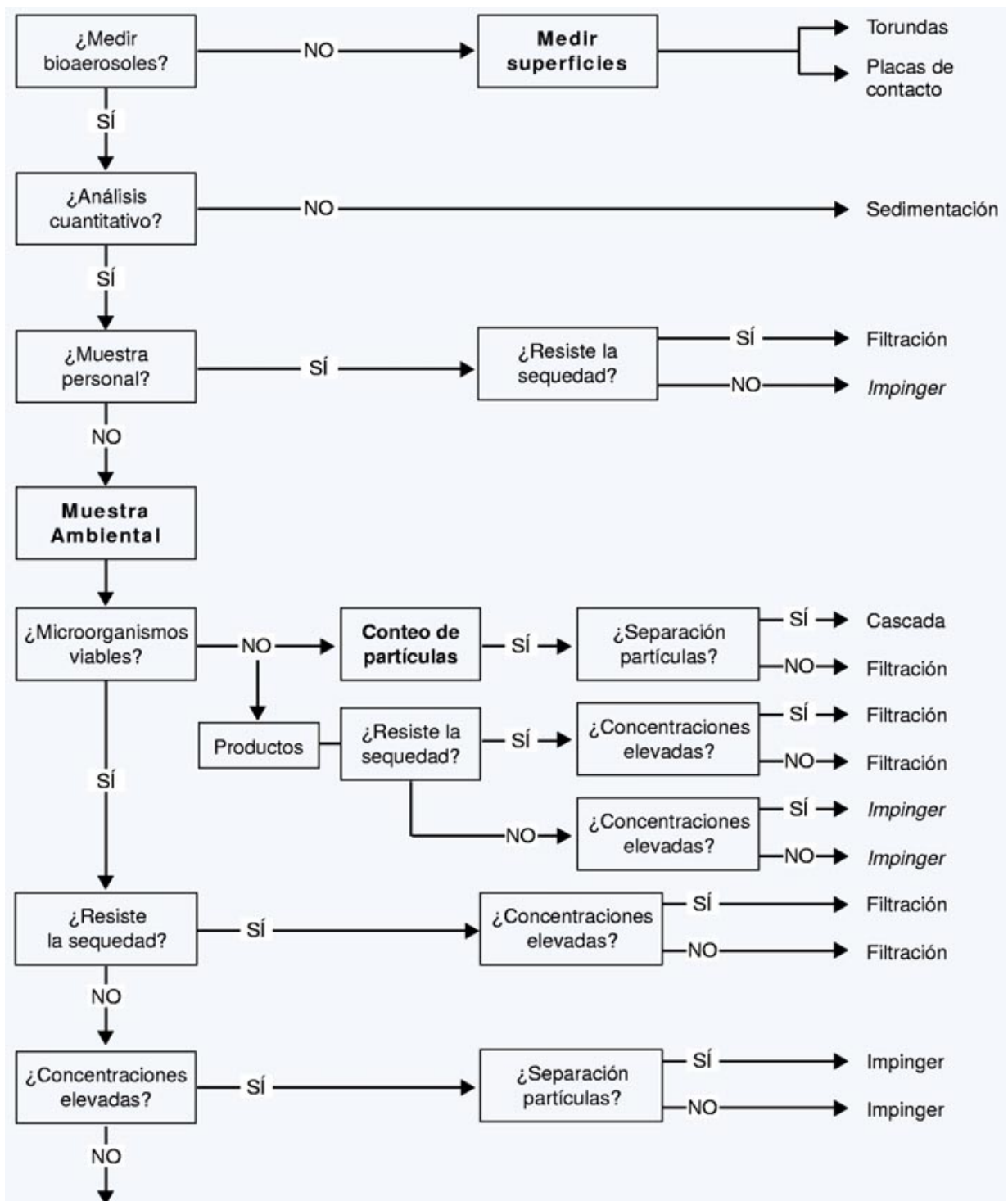
	Filtro de éster de celulosa (0,8 •m)	Microscopía óptica	Microorganismos, especialmente esporas de hongos	<ul style="list-style-type: none"> • Permite la estimación de la exposición para efectos tóxicos y alérgicos y el conteo de los microorganismos en los agregados. • Es posible el muestreo personal y una clasificación. • No hay un límite en la práctica para la duración del muestreo. • Es posible el muestreo de la fracción inhalable. 	<ul style="list-style-type: none"> • Puede ser difícil identificar los microorganismos en un bioaerosol complejo, especialmente los más pequeños. • La clasificación de los microorganismos es limitada. • Laborioso. 	<ul style="list-style-type: none"> • Atmósferas de trabajo con fuentes evidentes de microorganismos. • Es menos útil en atmósferas de concentración baja.
	Filtro de gelatina (3 •m)	Cultivo	Agregados cultivables de los microorganismos	<ul style="list-style-type: none"> • Es posible el muestreo personal. • Es posible la identificación de especies cultivables. • Nivel de detección bajo. • En cierto grado, los agregados se dispersan. • Es posible el muestreo de la fracción inhalable. 	<ul style="list-style-type: none"> • La estimación de la exposición para efectos tóxicos y alérgicos es limitada. • Método poco representativo como sustituto de los no basados en el cultivo. • Pueden morir las células bacterianas vegetativas. • Poca precisión. • Laborioso. 	<ul style="list-style-type: none"> • Recomendado para las atmósferas con esporas provenientes de hongos. • La identificación de la especie es importante para la fuente. • Identificación en atmósferas interiores.
Impactador	Placas de agar con distintos medios	Cultivo	Agregados cultivables de los microorganismos	<ul style="list-style-type: none"> • Es posible la identificación de especies cultivables. • Algunos aparatos permiten el muestreo personal. • Nivel de detección bajo. • Los aparatos multietapas dan información de la distribución por tamaños de partícula del aerosol microbiano. 	<ul style="list-style-type: none"> • La estimación de la exposición para efectos tóxicos y alérgicos es limitada. • Método poco representativo como sustituto de los no basados en el cultivo • Aparatos principalmente estáticos. • Duración del muestreo muy corta. • Los agregados se cuentan como una colonia. • Sólo puede utilizarse un medio de cultivo cada vez. • Algunos aparatos son poco eficaces para la captación de los microorganismos pequeños. • Laborioso y de poca precisión. 	<ul style="list-style-type: none"> • Atmósferas de trabajo con concentración relativamente baja. • La identificación de la especie es importante para la fuente. • Identificación en atmósferas interiores.
				<ul style="list-style-type: none"> • Es posible la identificación de especies cultivables. • Algunos aparatos permiten el muestreo personal. • Nivel de detección bajo. • Los aparatos 	<ul style="list-style-type: none"> • La estimación de la exposición para efectos tóxicos y alérgicos es limitada. • Método poco representativo como sustituto de los no basados en el cultivo. • Duración del muestreo muy corta. • En algunos instrumentos no se puede medir el 	<ul style="list-style-type: none"> • Atmósferas de trabajo con concentración relativamente baja. • La identificación de

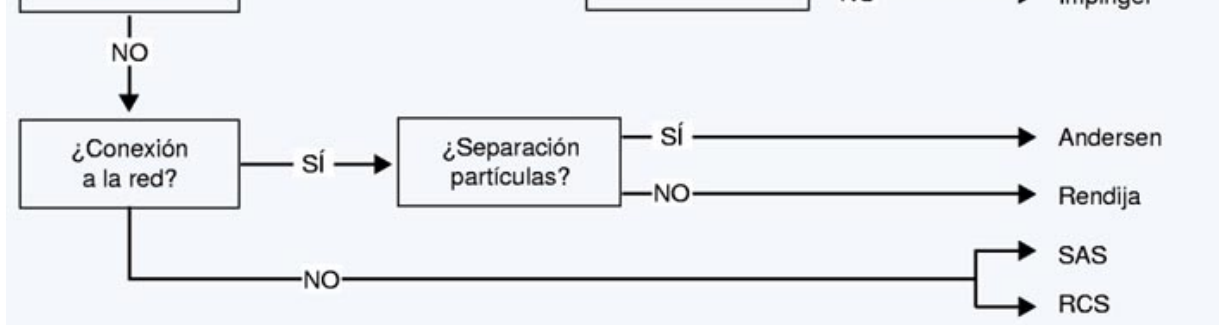
Muestreador centrifugo	Tiras de agar con distintos medios	Cultivo	Agregados cultivables de los microorganismos	<p>multietapas dan información de la distribución por tamaños de partícula del aerosol microbiano.</p> <ul style="list-style-type: none"> Aparato portátil Nivel sonoro bajo. 	<p>caudal del aire.</p> <ul style="list-style-type: none"> Los agregados se cuentan como una colonia. Sólo puede utilizarse un medio de cultivo cada vez. Algunos aparatos son poco eficaces para la captación de los microorganismos pequeños. Poca precisión. Laborioso. 	<p>la especies importante para la fuente.</p> <ul style="list-style-type: none"> Identificación en atmósferas interiores.
Borboteador	Disolución captadora: NaCl al 0,9% en agua, betaina, peptona	Cultivo	Agregados cultivables de los microorganismos	<ul style="list-style-type: none"> Identificación de especies cultivables. Algunos aparatos permiten el muestreo personal. En cierto grado, los agregados se dispersan. Las muestras pueden cultivarse en distintos medios. Muestreo de larga duración comparado con los impactadores. 	<ul style="list-style-type: none"> La estimación de la exposición para efectos tóxicos y alérgicos es limitada. Método poco representativo como sustituto de los no basados en el cultivo. Aparatos principalmente estáticos. Muestreo corto comparado con el muestreo con filtros. Los agregados se cuentan como una colonia. En la aspiración hay alguna pérdida de las partículas grandes. Poca precisión. Laborioso. 	<ul style="list-style-type: none"> La mayoría de las atmósferas de trabajo. La observación de una especie es importante para la fuente. Identificación en atmósferas interiores.
	Peptona al 1 %	Citometría de flujo	Microorganismos	<ul style="list-style-type: none"> Permite la estimación de la exposición para efectos tóxicos y alérgicos. Análisis rápido. 	<ul style="list-style-type: none"> Tinción de partículas no microbianas. No se tiñen las esporas de algunos hongos. La clasificación de los microorganismos es deficiente. Duración del muestreo corta. Método experimental. 	<ul style="list-style-type: none"> Porquerizas.
PARTE B: PRODUCTOS MICROBIANOS						
Muestreador con filtro para la fracción inhalable Portafiltros normalizados	Tipos de filtros: Fibra de vidrio Politetrafluoretileno Policloruro de vinilo Policarbonato Éster de celulosa	LAL (1)	Endotoxinas	<ul style="list-style-type: none"> Permite la estimación de la exposición para efectos tóxicos. Es posible el muestreo personal. Es posible el muestreo de la fracción inhalable. Sensibilidad alta. Rápido. 	<ul style="list-style-type: none"> Interferencias de otros componentes. Mide la actividad biológica en lugar de la masa de endotoxinas. 	<ul style="list-style-type: none"> La mayoría de las atmósferas de
	Tipos de filtros:	LAL (1)	Glucanos	<ul style="list-style-type: none"> Es posible el muestreo personal. Es posible el muestreo de la fracción inhalable. Rápido. 		
		ELISA (2)	Antígenos microbianos			

de aerosoles para baja velocidad del aire y tamaño de partícula < 30 •m	Fibra de vidrio Politetrafluoretileno Policarbonato	PCR (3)	Marcadores moleculares	<ul style="list-style-type: none"> • Es posible el muestreo personal. • Es posible el muestreo de la fracción inhalable. • Se pueden detectar microorganismos específicos. 	Método experimental.	trabajo.
	Tipos de filtros: Fibra de vidrio Éster de celulosa	CG-EM (4)	Ácidos grasos 3-hidroxi-Ergosterol Ácido murámico	<ul style="list-style-type: none"> • Es posible el muestreo personal. • Es posible el muestreo de la fracción inhalable. • Pueden detectarse endotoxinas insolubles. 	Método experimental. Baja sensibilidad comparada con el LAL. Laborioso. Instrumentación costosa.	

- (1) Ensayo del lisado del amebocito del Limulus.
(2) Ensayo inmunoenzimado (ELISA)
(3) Reacción en cadena de la polimerasa.
(4) Cromatografía de gases - Espectrometría de masas.

FIGURA 1
Diagrama de selección de muestreadotes





CUADRO 1
Características de un muestreador de bioaerosoles

- Conducir el aire hacia el equipo a una velocidad uniforme y provocar las mínimas pérdidas posibles en el dispositivo de entrada del aire.
- Mantener el caudal de aire dentro de unos márgenes razonables teniendo en cuenta las posibles variaciones en el suministro eléctrico, carga de las baterías o las pérdidas de carga en el equipo.
- Permitir el uso de diversos soportes de captación (placas de cultivos de tamaño estándar, porta objetos, filtros de distintos tipos, diámetros y tamaño de poro, etc.).
- Permitir la colocación y extracción de los soportes de captación de forma sencilla.
- Proteger el soporte de captación de posibles contaminaciones.
- Minimizar las fugas de aire que pueden causar errores en la medición o permitir que aire no pase sobre el medio de captación.
- Expulsar el aire aspirado a suficiente distancia de la entrada para evitar el posible reingreso del aire ya muestreado.
- Captar un amplio rango de tamaños de partículas con una eficacia consistente; o tener una elevada eficacia de captación para tamaño de partícula deseado, mientras que excluye otras fracciones o las capta con menor eficacia.
- Captar las distintas fracciones de tamaño de partícula con eficacias similares a las existentes en el tracto respiratorio humano.
- Mantener la integridad física, química y biológica del material captado.
- Permitir el análisis de las muestras mediante el uso de diferentes técnicas analíticas.
- Ser resistente y fácil de limpiar y desinfectar.
- Ser de fácil manejo, portátil, fiable y económico.

Bibliografía

1. UNE-EN 13098 de mayo de 2001, Atmósferas en el lugar de trabajo. Directrices para la medición de microorganismos y endotoxinas suspendidas en el aire.
2. UNE-EN 1232-1997, Atmósferas en el lugar de trabajo. Bombas para el muestreo personal de los agentes químicos. Requisitos y métodos de ensayo.
3. UNE-EN 12919-2000, Atmósferas en el lugar de trabajo. Bombas para el muestreo de los agentes químicos con un caudal volumétrico superior a 5 l/min. Requisitos y métodos de ensayo.
4. AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS (ACGIH)
Bioaerosols. Assessment and control
ACGIH, Cincinnati, OH, USA, 1999.
5. AMERICAN INDUSTRIAL HYGIENE ASSOCIATION
Field guide for the determination of biological contaminants instalación environmental samples
AIHA, Fairfax, VA, USA, 1996.
6. XUNTA DE GALICIA
Riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos: su evaluación y control.
Xunta de Galicia, Centro de Seguridad e Higiene en el Trabajo Pontevedra, 2001.
7. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO
Higiene Industrial.
INSHT, Madrid, 2002.
8. GRIFFITHS, W. D. and DE COSENO, G. A. L.
The assessment of bioaerosols: a critical review.
J. Aerosol. Sci. 25 (8) págs.: 1425 - 1458, 1994.
9. HENNINGSON, E. W. and AHLBERG, M. S.
Evaluation of microbiological aerosol samplers: a review.
J. Aerosol. Sci. 25 (8) págs.: 1459 - 1492, 1994.
10. CROOK, B.
Review: Methods of monitoring for process micro-organisms instalación biotechnology.
Am. Occup. Hyg. 40 (3) págs.: 245 - 260, 1996.
11. MACHER, J. M.
Bioaerosols samplers.
Appl. Occup. Environ. Hyg. 12 (11) págs.: 723 - 729, 1997.
12. MACHER, J. M.
Evaluation of bioaerosol sampler performance.
Appl. Occup. Environ. Hyg. 12 (11) págs.: 730 - 736, 1997.
13. EDUARD, W. and HEEDERIK, D..
Methods for quantitative assessment of airborne levels of noninfectious microorganisms instalación highly contaminated work environments.
Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 59 (2) págs.: 113 - 127, 1998.