

RECOMENDACIONES PARA LA MONITORIZACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AIRE (BIOSEGURIDAD AMBIENTAL) EN ZONAS HOSPITALARIAS DE RIESGO



Sociedad Andaluza de Medicina Preventiva y Salud Pública

GRUPO DE TRABAJO DE BIOSEGURIDAD AMBIENTAL

Amalia Ramos Cuadra; Facultativo especialista del Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública del Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.
Carmen Díaz Molina; Facultativo especialista del Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública del Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba
Carmen Escassi Pérez; Facultativo especialista del Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública del Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme. Sevilla.
Encarnación Román Casares; Facultativo especialista del Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública del Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme. Sevilla.
Jorge de Diego Salas; Responsable Nacional de Medicina Preventiva del grupo ASISA. Madrid.
M^a Ángeles Lucerna Méndez; Responsable del Servicio de Prevención. Agencia Pública Empresarial Sanitaria Hospital de Poniente Almería
Pilar Gavira Albiach; Enfermera de la Unidad de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Agencia Sanitaria Costa del Sol. Marbella.
Rafael Martínez Nogueras; Director de la Unidad de Gestión Clínica de Medicina Preventiva, Salud Pública y Esterilización del Complejo Hospitalario de Jaén.
Silvia Soler Méndez; Facultativo especialista de la Unidad de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Agencia Sanitaria Costa del Sol. Marbella.
Victor Fuentes Gómez; Responsable de la Unidad de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Agencia Sanitaria Costa del Sol. Marbella (Coordinador)

**RECOMENDACIONES PARA LA MONITORIZACIÓN DE LA CALIDAD
MICROBIOLÓGICA DEL AIRE (BIOSEGURIDAD AMBIENTAL) EN ZONAS
HOSPITALARIAS DE RIESGO**
Sociedad Andaluza de Medicina Preventiva y Salud Pública

Índice de contenidos

A. INTRODUCCION.....	3
B. GLOSARIO DE TERMINOS.....	4
C. NORMATIVA APLICABLE.....	5
D. CLASIFICACION DE LAS AREAS CRÍTICAS Y DE AMBIENTE CONTROLADO EN HOSPITALES.....	8
E. CLASIFICACIÓN DE LAS ÁREAS HOSPITALARIAS EN FUNCIÓN DE RIESGO.....	10
F. VERIFICACIÓN DE LA BIOSEGURIDAD AMBIENTAL. MÉTODOS DE MUESTREO MICROBIOLÓGICO DEL AIRE.....	12
G. PERIODICIDAD Y PUNTOS DE MUESTREO SEGÚN ÁREAS.....	15
H. ESTÁNDARES MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD AMBIENTAL.....	16
I. PROPUESTA DE ESTÁNDARES PARA LA CONTAMINACIÓN FUNGICA.....	17
J. PROPUESTA DE ESTÁNDARES PARA LA CONTAMINACIÓN BACTERIANA.....	19
K. PROPUESTA DE ACTUACIONES ANTE UNA “NO CONFORMIDAD” DE BIOSEGURIDAD AMBIENTAL EN AREAS CONTROLADAS.....	19
M. BIBLIOGRAFÍA.....	22
N. ANEXOS.....	23



RECOMENDACIONES PARA LA MONITORIZACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AIRE (BIOSEGURIDAD AMBIENTAL) EN ZONAS HOSPITALARIAS DE RIESGO

Sociedad Andaluza de Medicina Preventiva y Salud Pública

INTRODUCCION

La contaminación del aire en las áreas de riesgo hospitalarias es un problema potencial derivado de la posibilidad de que los contaminantes sean transportados y eventualmente depositados sobre las superficies, los materiales o las personas que queremos proteger. Las herramientas de que disponemos para evitar las posibles consecuencias de esta contaminación del aire se pueden clasificar en dos grupos: aquellas destinadas a impedir la entrada de los contaminantes en el local a proteger (acondicionamiento y limpieza del aire, gestión de flujos y presiones) y las destinadas a eliminar los contaminantes generados por la actividad desarrollada en el mismo (nº de renovaciones de aire, limpieza/desinfección del área, disciplina del personal, establecimiento de circuitos, etc).

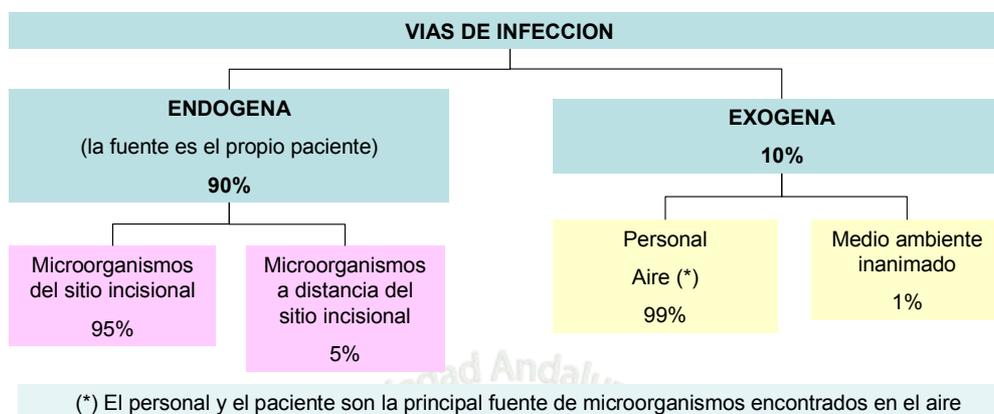
La actividad humana es una de las fuentes potenciales de contaminación ambiental. Un individuo proyecta y libera a la atmósfera entre 1000 y 10000 bacterias por minuto, con grandes variaciones en función de determinadas condiciones (tipo de ropa, higiene de la piel, etc) y de su actividad. Tabla 1.

Tabla 1. Liberación de partículas al medio ambiente según actividad humana.

Nº de partículas $\geq 0,5 \mu\text{m}$ liberadas por minuto	Actividad
100.000	Sin actividad: de pie o sentado
1.000.000	Al moverse de pie o sentado
5.000.000	Marchando a 3,5 km/h
10.000.000	Subiendo escaleras
15-30.000.000	Ejercicio físico intenso
En promedio, una de cada 1000 partículas $\geq 0,5 \mu\text{m}$ transporta una bacteria	

El riesgo de infección ligado al aire interior de los hospitales se asocia a muy diversos factores, entre los que se encuentran la tasa de concentración de partículas infecciosas en el ambiente, un tiempo de exposición a las mismas suficiente, y un nivel de defensas del paciente bajo. Como ejemplo, en la siguiente figura se ilustran las potenciales vías de infección del sitio quirúrgico en relación a la procedencia de los gérmenes causantes.

Fig. 1. Vías de infección del sitio quirúrgico.



Los sistemas de climatización deben funcionar de tal forma que reduzcan la dosis o tasa de biocontaminantes presentes por metro cúbico en el aire, hasta valores inferiores a los que puedan considerarse como posibles infecciosos, así como el tiempo de exposición a los

mismos. Esto se consigue con un adecuado tratamiento del aire y con el control de otros parámetros físicos del entorno. Esta premisa es evidentemente importante cuando nos referimos a determinadas áreas dentro de los centros sanitarios.

El concepto de *ambiente controlado* implica la adopción de una serie de mecanismos que nos permitan garantizar la calidad interior del aire de la sala o zona así considerada y corregir sus desviaciones cuando estas se produzcan.

Por lo tanto, nunca podremos considerar un local como “de ambiente controlado” si carecemos de los medios adecuados para poder ejercer ese control, lo que ocurre en muchas de las instalaciones hospitalarias que fueron proyectadas y ejecutadas con anterioridad a la normativa actualmente vigente.

GLOSARIO DE TERMINOS

- **AENOR**: Asociación española de normalización y acreditación
- **Acción correctiva**: Acción que se emprende cuando los resultados del control indican que se han sobrepasado los niveles de alerta o de acción.
- **AIA**: American institute of architects
- **Áreas de ambiente controlado**: Son salas con las estructuras e instalaciones específicas para controlar la biocontaminación y los parámetros adecuados. Disponen de sistema mecánico de ventilación y de filtración de aire.
- **ASHRAE**: International technical society organized to advance the arts and sciences of heating, ventilation, air-conditioning and refrigeration
- **Biocontaminación**: Es la contaminación de una materia, de un aparato, de un individuo, de una superficie, de un gas o del aire por partículas viables.
- **CDC**: Centers for disease control and prevention, Atlanta (USA)
- **Colonia**: Cuando una célula aislada e inmóvil comienza a crecer sobre un substrato sólido, el resultado del crecimiento al cabo del tiempo es una colonia.
- **Cualificación**: Ejecución de una secuencia de ensayos, incluyendo la verificación de las condiciones de los mismos, para demostrar la validación de la salas.
- **EN**: Norma europea
- **Flora aerobia mesófila**: Conjunto de microorganismos capaces de multiplicarse en aerobiosis y a temperaturas medias, comprendidas entre 25 y 40 °C
- **INSHT**: Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo
- **Niveles de alerta y de acción**: Niveles establecidos para la toma de decisiones y acciones correctivas según los resultados del control.
- **RITE**: Reglamento de instalaciones térmicas en edificios
- **SEMPSPH**: Sociedad española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene Hospitalaria.
- **Situación de no bioseguridad o biocontaminación**: Cuando en una verificación ambiental se alcance el nivel de acción o umbral de bioseguridad.
- **UNE**: Una norma española
- **Unidad Formadora de Colonias (UFC)**: Se denomina a una célula bacteriana viva y aislada que si se encuentra en condiciones de substrato y ambientales adecuadas da lugar a la producción de una colonia en un breve lapso de tiempo
- **Validación**: Confirmación, mediante pruebas tangibles, que las exigencias, para una utilización específica o una aplicación prevista, son satisfactorias.
- **Zona de riesgo de biocontaminación**: Lugar geográficamente definido y delimitado en el cual individuos, productos, materiales o una combinación entre ellos, son particularmente vulnerables a los microorganismos o a partículas viables.



NORMATIVA APLICABLE

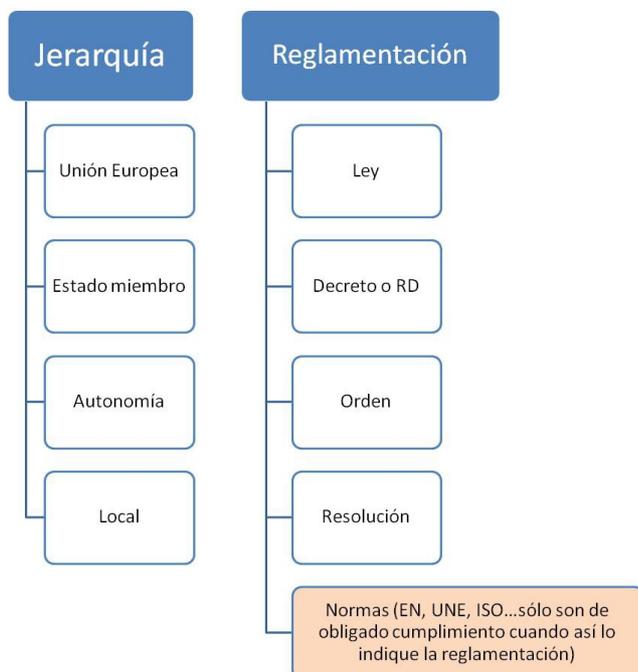
Hasta hace pocos años, la normativa aplicable a los requisitos de bioseguridad ambiental exigible a las zonas de alto riesgo de los hospitales ha sido poco explícita y con importantes lagunas, aunque en los últimos años las fuentes documentales sobre la calidad del aire interior han crecido de una forma importante.

En muchos casos se aplicaban criterios poco definidos basados en la legislación existente para la ventilación de edificios de uso público o en guías desarrolladas específicamente para el diseño de quirófanos como la Guía Práctica para el Diseño y Mantenimiento de la climatización en Quirófanos del INSALUD (1996), así como en recomendaciones de sociedades científicas u organismos nacionales e internacionales como el INSHT, o la ASHRAE, AIA y los CDC americanos.

Posteriormente, fueron publicadas dos importantes guías con la colaboración de la SEMPSPH que supusieron un verdadero hito en el consenso respecto a la bioseguridad en ambientes de riesgo en hospitales, fueron la guía *INSALUD 99 Verificación de Bioseguridad ambiental frente a hongos oportunistas* y la *Guía INSALUD 2000 Vigilancia, Prevención y Control de Infecciones en Hospitales en Obras*.

En nuestro ámbito geográfico, la Junta de Andalucía editó en 2002 el *Manual de prevención y control de Legionelosis, Aspergilosis y Tuberculosis en instituciones sanitarias*, con un propósito de sistematización para disminuir la variabilidad de las medidas de protección aplicadas en determinados ambientes protegidos de nuestros hospitales como es el caso de las habitaciones para pacientes con tuberculosis pulmonar.

Figura 2. Estructura jerárquica reglamentaria.



A nivel reglamentario las Administraciones Públicas asumen y hacen obligatorios determinados contenidos técnicos referentes a este tema a través de normas legales.

En España, el Reglamento de Instalaciones de Calefacción, Climatización y Agua Caliente Sanitaria, fue aprobado por el Real Decreto 1618/1980, de 4 de julio, y posteriormente desarrollado, modificado y complementado por diversas disposiciones. Contribuyó en gran medida a potenciar y fomentar un uso racional de la energía en las instalaciones térmicas no industriales de los edificios.

Este fue seguido por el Reglamento de Instalaciones Térmicas en los Edificios (RITE), aprobado por Real Decreto 1751/1998, de 31 de julio, y estaba destinado a proporcionar de forma segura y eficiente los servicios de calefacción, climatización y producción de agua caliente sanitaria, necesarios para atender los requisitos de bienestar térmico y de higiene en los edificios.

La jerarquía reglamentaria (Fig. 2) que hizo necesario transponer la Directiva 2002/91/CE, de 16 de diciembre, de eficiencia energética de los edificios, junto con la aprobación del Código Técnico de la Edificación por el Real Decreto 314/2006, de 17 de marzo, aconsejaron redactar un nuevo texto que derogaba y sustituía al antiguo RITE, para incorporar, además, la experiencia de su aplicación práctica durante los últimos años.

El nuevo Reglamento de Instalaciones Térmicas en los Edificios (RITE. RD 1027/2007, de 20 de julio), tenía por objeto establecer las exigencias de eficiencia energética y seguridad que deben cumplir las instalaciones térmicas en los edificios destinadas a atender la demanda de bienestar e higiene de las personas, durante su diseño y dimensionado, ejecución, mantenimiento y uso, así como determinar los procedimientos que permitan acreditar su cumplimiento.

El RITE es una normativa de obligado cumplimiento, y a efectos de su aplicación se considerarán como instalaciones térmicas las instalaciones fijas de climatización (calefacción, refrigeración y ventilación) y de producción de agua caliente sanitaria.

El RITE se aplicará a las instalaciones térmicas en los edificios de nueva construcción, y a las instalaciones térmicas en los edificios construidos en lo relativo a su reforma¹, mantenimiento, uso e inspección, con las limitaciones que en el mismo se determinan (Figs.3 y 4).

En tal sentido, se consideran reformas las que estén comprendidas en alguno de los siguientes casos:

1. La incorporación de nuevos subsistemas de climatización o de producción de agua caliente sanitaria o la modificación de los existentes;
2. La sustitución de un generador de calor o frío por otro de diferentes características.
3. La ampliación del número de equipos generadores de calor o de frío;
4. El cambio del tipo de energía utilizada o la incorporación de energías renovables;
5. El cambio de uso previsto del edificio.
6. También se considerará reforma, a efectos de aplicación del RITE, la sustitución o reposición de un generador de calor o frío por otro de similares características, aunque ello no suponga una modificación del proyecto o memoria técnica.

Con independencia de que un cambio efectuado en una instalación térmica sea considerado o no reforma de acuerdo con lo dispuesto en el apartado anterior, todos los productos que se incorporen a la misma deberán cumplir los requisitos relativos a las condiciones de los equipos y materiales de este Reglamento.

¹ Se entiende por reforma de una instalación térmica todo cambio que se efectúe en ella y que suponga una modificación del proyecto o memoria técnica con el que fue ejecutada y registrada.

No será de aplicación el RITE a las instalaciones térmicas de procesos industriales, agrícolas o de otro tipo, en la parte que no esté destinada a atender la demanda de bienestar térmico e higiene de las personas.

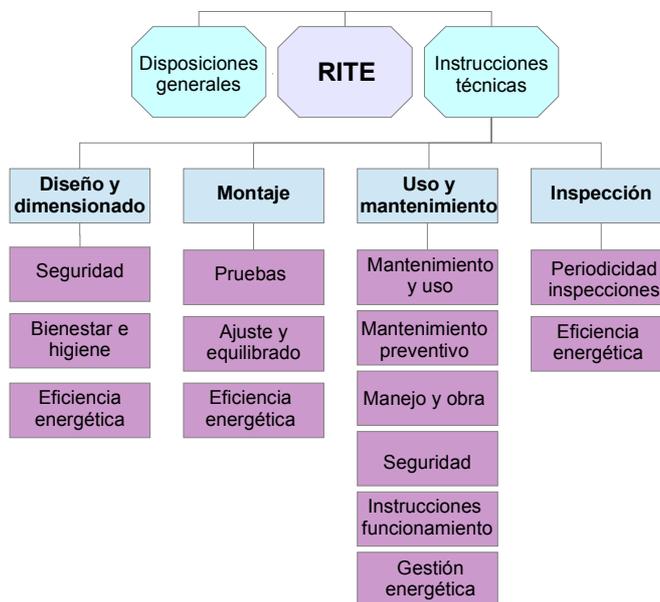
Por lo tanto el RITE es de obligado cumplimiento para la ejecución de instalaciones de nuevo diseño y para aquellas anteriores que sufran alguna de las remodelaciones mencionadas, y para todas en lo referente a su uso y mantenimiento.

En su desarrollo el RITE hace referencia a una serie de Instrucciones Técnicas, que a su vez se basan frecuentemente en normas UNE (y otras) que serán de obligado cumplimiento o no según se indique, siendo en muchos casos sólo recomendaciones de buenas prácticas.

Recientemente se ha publicado el Real Decreto 238/2013, de 5 de abril, por el que se modifican determinados artículos e instrucciones técnicas del Reglamento de Instalaciones Térmicas en los Edificios, donde se incluyen como novedades y que afectan a la calidad ambiental en hospitales, la inclusión de las normas UNE 171330 y UNE 100012, revisión de la red de conductos y la revisión de la calidad ambiental de interiores con frecuencia anual, esta nueva revisión del RITE sustituye a la anterior de 2007.

Como novedad aún más reciente, incorporada en diciembre de 2014, la norma UNE 171330-2:2009, ha sido actualizada a su versión de 2014, incluyendo como aspecto más destacado que nos incumbe, la recomendación de la aplicación de la norma UNE-171340:2012 para la evaluación de la calidad ambiental en el interior de “áreas críticas” en Hospitales y centros sanitarios, más específica que la 171330, por lo que desde ese momento la norma UNE-131340:2012 “Validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales” pasa a ser de obligado cumplimiento.

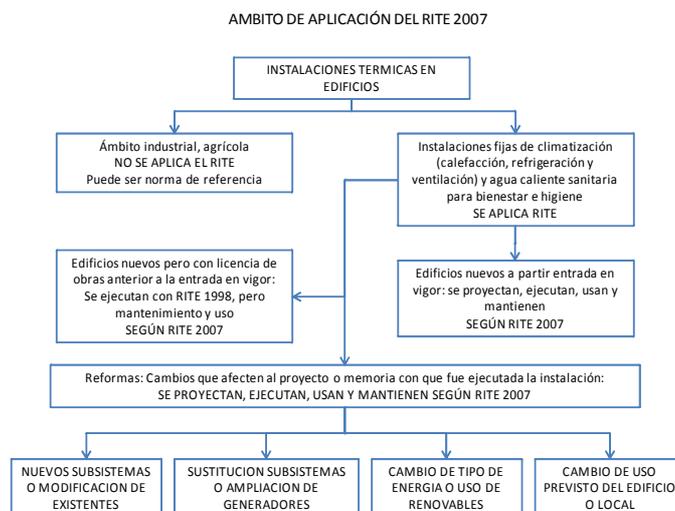
Figura 3. Estructura del RITE



A efectos prácticos, la normativa más interesante relacionada con la bioseguridad ambiental en hospitales se adjunta en el anexo 1.



Figura 4. Ámbito de aplicación del RITE 2007



CLASIFICACION DE LAS AREAS CRÍTICAS Y DE AMBIENTE CONTROLADO EN HOSPITALES

El concepto de “áreas críticas” o “áreas de alto riesgo” semánticamente alude a la descripción de una situación real, basada en las características de los pacientes o de las actividades que en ellas se desarrollan, mientras que el de “ambiente controlado” obedece a un propósito o disposición teórica para hacer lo que se debería en las condiciones ideales mediante la aplicación de conocimientos, técnicas y equipamientos necesarios para prevenir la exposición del personal y pacientes a agentes potencialmente infecciosos o considerados de riesgo biológico en determinadas áreas.

En función de las exigencias con respecto a la presencia de gérmenes en el aire impulsado y en el ambiente, las zonas del hospital pueden clasificarse en dos tipos de locales (según norma UNE 100713:2005). Tabla 2:

1. Local de Clase I:
 - Con exigencias muy elevadas.
 - Tres niveles de filtración (prefiltro F5, filtro F9 y HEPA H13)
2. Local de Clase II:
 - Con exigencias habituales.
 - Dos niveles de filtración (prefiltro F5 y filtro F9).

Tabla 2. Niveles requeridos de filtración según la clasificación de local por la UNE 100713:2005

Nivel de filtración (clase de local)	Clase de filtro (eficiencia)	Norma de referencia	Localización de la etapa de filtración
1ª etapa (I, II)	F5 (40% < 60%)	UNE-EN 779	En la toma de aire exterior, si la longitud del conducto es >10m, si no, en la entrada de aire de la central de tratamiento o después de la eventual sección de mezcla.
2ª etapa (I, II)	F9 (>95%)	UNE-EN 779	Después de la unidad de tratamiento de aire y al comienzo del conducto de impulsión
3ª etapa (I)	H13 (99,95%) (H14, U15, según necesidad)	UNE-EN 1822-1	Lo más cerca posible del local a tratar. En locales clase I, en la propia unidad terminal de impulsión de aire.

Fuente: Ventilación general en hospitales. NTP 859. INSHT.MSPS

En lo referente a quirófanos y a las necesidades de calidad del aire requeridas en su interior, clásicamente se ha utilizado para su clasificación la norma UNE-EN-ISO 14644, sobre salas limpias, estableciéndose tres categorías:

- Quirófanos tipo A : ISO 5-6
- Quirófanos tipo B : ISO 7
- Quirófanos tipo C : ISO 8

Todos ellos considerados locales de clase I con elevadas exigencias de calidad de aire según la NTP859:2010 (INSHT.MSPS), ver tabla 3.

Aunque en la norma UNE 100713:2005 sólo se mencionan los quirófanos de tipo A y B como salas con exigencias de tipo I, la *Guía práctica para el diseño y mantenimiento de la climatización en quirófanos* (INSALUD. 1996), establece claramente la recomendación de que todos los quirófanos, tanto de tipo I como de tipo II, dispongan de tres etapas de filtración. Así se contempla también en la nota: *Ventilación general en hospitales*: NTP:859:INSHT:MSPS.

No obstante, otras fuentes, como la *Guía de buenas prácticas para la seguridad y la sostenibilidad del área quirúrgica*, publicada por el Servei Català de Salut (Departament de Salut. Generalitat de Catalunya. 2012) establece para los quirófanos de tipo C un mínimo de dos etapas de filtración (EU4, EU9). El documento *Bloque quirúrgico: Estándares y recomendaciones* (MSPS. 2009), no contempla este tipo de quirófanos en sus recomendaciones al considerarlos como externos al bloque quirúrgico.

Tabla 3. Clasificación y características técnicas de los quirófanos según UNE 100713:2005.

Tipo Quirófano	UNE 100713	UNE-EN ISO* 14644	Denominación del quirófano	Tipo de intervenciones	Caudal mínimo de aire impulsado	Movimientos por hora (MH)	Temperatura Humedad	Presión (Pascal)
A	Clase I	ISO clase 5-6	Quirófanos de alta tecnología.	Cirugía especial (Trasplantes de órganos, cirugía cardíaca, cirugía vascular y cirugía ortopédica con implantes, neurocirugía, oftalmología LIO)	Todo exterior (O mínimo 2400 m3/hora)	Mínimo 30	18 °C-26 °C 45- 55 % de humedad	Entre + 20 Pa y + 25Pa
B	Clase I	ISO clase 7	Quirófanos convencionales	Cirugía convencional y de urgencias. Resto de operaciones quirúrgicas.	Todo exterior (O mínimo de 1200 m3/hora)	Mínimo 20	22 °C -26 °C 45- 55 % de humedad	
C	Clase I	ISO clase 8	Quirófano de cirugía ambulatoria	Cirugía ambulatoria. Salas de partos.	1200 m3/hora (aire exterior)	Mínimo 15		

Fuente: Ventilación general en hospitales. NTP 859. INSHT.MSPS

*La clasificación en base a la UNE-EN-ISO 14644 se realiza en función de la concentración de partículas en el ambiente

Según la nueva norma UNE 171340-2012 son *salas de ambiente controlado* en hospitales: *aquellas que cuentan con las estructuras e instalaciones específicas para controlar la biocontaminación y los parámetros ambientales adecuados.*

Es por tanto requisito indispensable para su clasificación y validación en referencia a esta normativa, que sean “locales de clase I”, y por ello les es exigible una adecuada limpieza del aire, a través de un diseño con tres niveles de filtración y unos parámetros físicos de rangos definidos y controlables de:

- temperatura
- humedad relativa
- presión diferencial
- caudal de impulsión
- tasa de renovaciones por hora
- tasa de recuperación (cinética de descontaminación)
- volumen de aire exterior

Esta misma norma determina las que debieran ser áreas de ambiente controlado en un hospital:

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> a) Bloque quirúrgico: <ul style="list-style-type: none"> - quirófanos de clase A, B y C - pasillo limpio - esterilización: lado limpio, almacén de material estéril - acceso a vestuarios - sala de descanso - pasillo sucio - antequirófanos - zona de preparación b) Salas de exploración por endoscopia c) Sala de cuidados intensivos (Sólo habitaciones /boxes para pacientes con riesgo de contraer infecciones) | <ul style="list-style-type: none"> d) Cuidados especiales: habitaciones para inmunodeprimidos e) Habitaciones de aislamiento <ul style="list-style-type: none"> - enfermos infecciosos - salas de terapias especiales f) Salas de prematuros g) Farmacia: <ul style="list-style-type: none"> - locales estériles - cabinas de bioseguridad - salas de quimioterapia h) Criobiología, laboratorios FIV i) Bancos de sangre y/o de tejidos (Biobancos) |
|---|---|

Así mismo establece los criterios y parámetros a la hora de validar y cualificar dichas zonas. Describe los métodos de ensayo y las normas de referencia para los mismos:

1. Parámetros ambientales:

Parámetro	Normas de referencia
Temperatura y humedad relativa	UNE 100713
Microbiología	UNE EN ISO 14698-1 y 2
Clasificación salas ambiente controlado	UNE EN ISO 14644-3 y UNE 100713
Ruido	UNE 100713

2. Parámetros de instalación:

Parámetro	Normas de referencia
Presión diferencial	UNE 100713
Validación de colocación de filtros absolutos: <ul style="list-style-type: none"> - mediante contador de partículas, - mediante Test DOP*. 	UNE EN ISO 14644-3 y UNE 100713
Caudales y renovaciones/hora <ul style="list-style-type: none"> - mediante balómetro, - mediante anemómetro de aspas/hélice 	UNE 100713 y UNE 100705
Sentido del flujo del aire entre salas	UNE 100713
Recuperación de la sala	UNE EN ISO 14644-1

*Test DOP: test de contaminación intencionada

CLASIFICACIÓN DE LAS ÁREAS HOSPITALARIAS EN FUNCIÓN DE RIESGO

La norma UNE 171340:2012 clasifica las áreas hospitalarias en función del riesgo y el tipo de ventilación/filtración asociado en:

1. Áreas de muy alto riesgo: Tres niveles de filtración (incluido HEPA) y flujo unidireccional
2. Áreas de alto riesgo: Tres niveles de filtración (incluido HEPA). Establece cuatro diferenciaciones: con flujo mezcla, con flujo mezcla turbulento, salas en sobrepresión y salas en depresión.
3. Áreas de riesgo intermedio: Con requisitos medios de filtración (Sin HEPA terminal).

En la siguiente tabla tratamos de relacionar cada área del hospital con el tipo de local correspondiente (según sus exigencias de climatización) y su clasificación de riesgo.



Tabla 4. Clasificación y características de las áreas hospitalarias según riesgo. Referencias UNE 100713 y UNE 171340

Área hospitalaria	Denominación	Clasificación de la sala UNE 100713	Consideración de riesgo UNE 171340	Especificaciones/Observaciones
Quirófanos	Quirófanos clase A	I	Muy alto y Flujo unidireccional	Transplante de órgano, cirugía cardiaca, cirugía vascular, neurocirugía, cirugía ortopédica con implantes, cirugía oftalmológica LIO y cirugía reparadora en grandes quemados. (Las mallas no tienen consideración de prótesis ya que se implantan en el plano preaponeurótico o en plano preperitoneal).
	Quirófanos clase B	I	Alto y Flujo mezcla	Cirugía convencional y cesárea.
	Quirófanos clase C	I*	Alto y Flujo mezcla turbulento	Según la NTP
	Pasillos, almacén de estéril	I	Alto y Flujo mezcla	Estéril: lado limpio, almacén de estéril
	Resto áreas en bloque quirúrgico	I	Intermedio	Antequirófano, acceso vestuarios, sala de preparación del paciente, etc
Salas de Parto	Paritorio,	I	Intermedio	La norma UNE 100713:2005 clasifica los paritorios como locales de tipo I, en cambio la última UNE 171340:2012 los categoriza como áreas de riesgo intermedio (requisitos medios de filtración).
	Salas de dilatación y anexas	II		
Unidades y Terapias Especiales	Sala de reanimación/despertar fuera del área del quirófano	II	Intermedio	
	Cuidados intensivos (UCI) Box para inmunodeprimidos	II	Intermedio	Salas de tipo I: Sólo en pacientes con alto riesgo de contraer infecciones
	Neonatos y UCI neonatal Box inmunodeprimidos	II	Intermedio	Salas de tipo I: Sólo en pacientes con alto riesgo de contraer infecciones
	Hemodiálisis	II	Intermedio	De nueva clasificación de riesgo
	Salas de quimioterapia	II	Intermedio	De nueva clasificación de riesgo
Salas de Exploraciones Especiales	Sala de Broncoscopia	II	Alto	Sala con presión negativa
	Endoscopia digestiva	II	Alto	Salas en sobrepresión
	Otros procedimientos invasivos (ej: artroscopias, toracoscopias, etc)	I	Alto	Salas en sobrepresión
Urgencias	Salas de urgencia	II	Intermedio	Sala de técnicas
Hospitalización	Unidad especial oncohematología (aislamientos)	I	Muy alto y Flujo unidireccional	Criterios CDC Las habitaciones de hematología se considerarán de alto riesgo según criterio médico
	Habitaciones inmunodeprimidos Aislamiento protector	I	Alto (Salas en sobrepresión)	
	Antesala y habitaciones de infecciosos (Habitaciones de aislamiento)	II	Alto (Salas en depresión)	
	Resto de habitaciones de hospitalización	II	Intermedio	
Diagnóstico por imagen. Radioterapia. Medicina nuclear	Radiología intervencionista, hemodinámica	I	Alto	UNE-EN ISO 14644-1:1000. Salas limpias De nueva clasificación de riesgo
	Radiología convencional	II	Intermedio	
	Sala de exploración y tratamientos	II	Intermedio	Exploraciones no invasivas De nueva clasificación de riesgo
Esterilización	Sala de equipos de esterilización	II	Intermedio	
	Sala de limpieza-descontaminación	II	Intermedio	
	Lado limpio material estéril	I	Alto	Sala donde se clasifica el material ya esterilizado
	Almacén material estéril	I	Intermedio	
Laboratorios	Bioquímica	II	Intermedio	
	Anatomía Patológica	II	Intermedio	
	Laboratorios citostáticos	I	Alto (Salas en depresión)	
Zonas auxiliares	Zonas de envasados y cabinas de preparación medicamentos y alimentación parenteral	I	Alto (Salas en sobrepresión)	
	Criobiología	I	Alto (Salas en sobrepresión)	(Ej: Salas y laboratorios de Reproducción asistida)
	Banco de Sangre	II	Intermedio	De nueva clasificación de riesgo
	Lavandería	II	Intermedio	De nueva clasificación de riesgo

VERIFICACIÓN DE LA BIOSEGURIDAD AMBIENTAL. MÉTODOS DE MUESTREO MICROBIOLÓGICO DEL AIRE.

El objeto del muestreo es determinar la posible presencia de microorganismos en el ambiente interior, cuantificando su número e identificando posibles especies patógenas.

Procedimientos para realizar el muestreo microbiológico del aire

Los fundamentales son los siguientes:

- **Estáticos:** Sedimentación pasiva. Se basa en dejar placas abiertas durante un tiempo determinado, esperando que se depositen sobre ellas los microorganismos suspendidos en el aire. Es el método más elemental y no recomendado en nuestro protocolo.
- **Volumétricos:** Entre ellos, el método de primera elección, recomendado por la Norma UNE 171340, es el método por impacto, donde el dispositivo muestreador hace pasar un volumen de aire determinado a través de una rejilla, impactándolo contra un medio de cultivo. La velocidad de impacto debe ser suficientemente elevada para permitir captar las partículas viables de un tamaño superior a 1 μm y suficientemente baja como para garantizar su viabilidad y evitar su alteración mecánica o ruptura celular. Otros métodos volumétricos menos utilizados son: método Andersen (impacto en cascada), impacto en diferentes caudales, filtración por membrana, burbujeo en caldo (impingers) y centrifugación (Sampler RCS).

La selección del método y dispositivo de muestreo se deberá hacer en función de numerosos factores como las condiciones ambientales (humedad, temperatura), las cualidades ergonómicas del equipo, las características técnicas del mismo, etc. (Anexo 2). También se deben considerar los **agentes de estrés** que introduce cada método y dispositivo de muestreo, y que pueden disminuir la recuperación de colonias (Anexo 3).

En cualquier caso, para llevarlo a cabo se tendrá en cuenta:

- La selección de personal formado y debidamente entrenado para realizarlo
- La clasificación de la sala, el diseño de la climatización, el tipo de filtración y el flujo de aire
- Siempre que sea posible, se tomarán medidas basales de las zonas circundantes del área a controlar, con el fin de valorar los resultados y poder establecer posibles orígenes de la contaminación si se presentara
- Se recomienda realizar muestreo en todos los quirófanos en los que se realice cirugía de alto riesgo. En cualquier caso, la norma UNE 171340 limita esta validación sólo a los locales de clase I (con tres niveles de filtración), donde los resultados tendrían alto grado de fiabilidad.
- Los muestreos en locales de alto riesgo que no cumplan las condiciones técnicas establecidas en la une 100713 y la une 171340 no garantizan una adecuada gestión de la bioseguridad ambiental, por lo que el esfuerzo de las organizaciones debe centrarse en la adaptación estructural de sus instalaciones a la normativa actual.

Cómo realizar la recogida de muestras

1. Métodos no volumétricos: no se recomienda su aplicación para la verificación de la bioseguridad ambiental pues son menos fiables que los métodos volumétricos y no se dispone de estándares que permitan informar de los resultados en unidades de UFC/volumen de aire muestreado. No obstante, se describe la técnica para realizar esta recogida de muestras en el Anexo 4.

2. Métodos volumétricos: son los métodos **recomendados**

- Seguir de manera estricta las recomendaciones del fabricante del dispositivo de muestreo para su uso.

- Se recomienda recoger muestras en el entorno del paciente (mesa quirúrgica, zona crítica de la sala a proteger, etc.). Según la norma UNE 171340, en quirófanos y otras salas de ambiente controlado no es necesario realizar toma en la entrada de aire impulsado; sin embargo si en el programa de bioseguridad diseñado por Medicina Preventiva se incluye la monitorización de otras áreas de riesgo que no dispongan de tres etapas de filtración, se recomienda la recogida de muestras también en las partes altas de la estancia (rejilla de impulsión), lo que permite evaluar la calidad del aire que entra en la sala.
- En determinadas ocasiones puede ser conveniente obtener muestras de otras partes de la estancia, para evaluar puntos grises que pueden producirse en función del tipo de flujo de aire y su distribución, en los que el aire se renueva con dificultad, o si queremos evaluar la entrada de biocontaminantes por puertas y guillotinas.
- Realizar el muestreo con la sala en reposo, sin actividad (se recomienda antes de iniciar la jornada quirúrgica y con el quirófano limpio), excepto para validación en condiciones de uso con actividad, que se aplica tras 2 ó 3 horas de actividad quirúrgica (ésta validación es útil si nos interesa valorar la disciplina en quirófano, el volumen y movimiento de personas, la apertura y cierre de puertas, etc).
- Caudal de muestreo: se obtiene una mayor recuperación con caudales bajos, como 0,5 l/s, por lo que es necesario disminuir caudales en zonas limpias pudiéndose aumentar el volumen seleccionado a muestrear. Con caudales mayores de 0,5 l/s, los recuentos negativos no pueden informarse como “ausencia de flora”, sino que se considera que “el número real de UFC/m³ está por debajo del límite de detección del método empleado”.
- Medios de cultivo, incubación y lectura: Se tratan en el Anexo 5
- Después de cada sesión de muestreo, el cabezal de acumulación del muestreador se procesará en autoclave (proceso de desinfección entre tomas/ esterilización entre sesiones)

A continuación se describe detalladamente la **técnica de muestreo por impacto**, recomendada en Norma UNE 171340 (el muestreador debería cumplir con los requisitos de la Norma UNE-EN-ISO 14698 Partes 1 y 2):

1. Parámetros a determinar:
 - a. Flora aerobia mesófila total
 - b. Flora fúngica
2. Estabilización: la sala debe estar en reposo y sin actividad antes de iniciar el muestreo
3. Controles previos:
 - a. Verificar el calibrado de caudales y volúmenes del muestreador, mínimo anual
 - b. Comprobación de carga de batería antes de cada sesión de muestreo
 - c. Verificar que las placas de cultivo no presenten crecimientos previos, antes del uso
 - d. Preparación de equipo (ajustes):
 - i. verificar el volumen a muestrear seleccionando caudal de 0,5 l/s (esto es, 30 l/min), cuando el muestreador lo permita².
 - e. Opciones:
 - i. muestrear 1000 litros de una vez ó
 - ii. muestrear en dos tomas de 500 litros
 - iii. si se eligen volúmenes menores ha de tenerse en cuenta el factor de conversión para el conteo de UFC y la media de varias tomas.
 - f. Desinfección/esterilización del cabezal: la primera toma se inicia con cabezal estéril; entre tomas se realizará desinfección con alcohol 70°, esperando su evaporación antes del uso; en los intervalos entre tomas, mantener el cabezal cubierto con su tapa; al finalizar la jornada, limpiarlo y enviar a la Central de Esterilización para su procesamiento.

²² Nota: la mayoría de los muestreadores volumétricos disponibles actualmente en centros sanitarios (por ejemplo, el modelo Merck Air Sampler MAS 100), tienen un caudal fijo de 100 l/min \pm 2,5% (velocidad de flujo de aire, equivale a 1.66 l/s), y no es modificable por el usuario.

4. Utilizar placas de tipo Petri ó Rodac (con adaptador para el muestreador volumétrico), con medios de cultivo sólidos. Según algunos autores, las placas Rodac minimizan el efecto rebote contra los bordes que presenta la placa Petri, por lo que pueden ser más sensibles para recoger bacterias y hongos y obtener un mayor conteo de colonias (La UNE 171340: 2012 no se pronuncia al respecto).
5. Preparación del muestreo:
 - a. Comprobar que los equipos de aire acondicionado están funcionando (anotar si el funcionamiento no es correcto).
 - b. Evitar ventanas, guillotinas y puertas abiertas (anotar suciedad o cualquier condición anormal)
 - c. Realizar el muestreo sin presencia humana o, en su caso, la persona que muestrea no debe hablar, ni moverse, ni interferir los flujos de aire.
 - d. Si se dispone de monitor de temperatura, humedad y presión, anotar los valores existentes en el momento del muestreo.
6. Registrar incidencias, si ocurren (interferencias en el flujo de aire, interrupciones, etc.).
7. Operaciones del muestreo:
 - a. Evitar interferencias directas por ventiladores de equipos informáticos o similares.
 - b. Puntos de toma de muestra:
 - i. Quirófanos: sobre la mesa quirúrgica, que es el punto más crítico.
 - ii. Cuando en el programa de control se opte también por la toma de muestras en determinados locales con dos etapas de filtración, se recomienda realizar una toma en el área del paciente y otra cerca de la rejilla de impulsión de aire
 - iii. Sala con campana de flujo laminar (por ejemplo, preparación de citostáticos en farmacia): un punto de muestreo de la sala y otro en la campana
 - iv. Habitaciones de aislamiento: en un punto a nivel de la cama
 - v. Sala limpia de esterilización: en un punto a nivel de estantería
 - c. Tiempo de muestreo: dependerá del caudal o velocidad de flujo de aire seleccionado en el muestreador (por ejemplo, para una velocidad de flujo de aire de 100 l/min \pm 2,5%, el tiempo de muestreo será de 10 minutos, si se realiza de una vez).
 - d. Conservación de muestras y transporte isoterma
 - e. Método de registro (observaciones de resultados): anotar el código de equipo de muestreo, técnico que realiza la medición y fecha en que se realiza.
8. Medios de cultivo, incubación y lectura: Anexo 5
9. Expresión de resultados:
 - a. Estudio cuantitativo (número de colonias): el recuento de colonias que hayan crecido (r) se expresa en unidades formadoras de colonias (UFC), referidas a 1 m³ de aire. El cálculo de este valor se detalla en el Anexo 6. El número de colonias real es superior al observado en placa, por los efectos de rebote y de “paso de largo”, y dependerá del número y tamaño de los orificios del cabezal del equipo muestreador, así como del caudal de muestreo. Por ello, los muestreadores se acompañan de una tabla de conversión para el cálculo del número estimado de UFC.
 - b. Estudio cualitativo (identificación de la flora):
 - i. El de hongos se realizará siempre: para evaluar anomalías en los sistemas de filtrado, apertura de puertas, etc.
 1. Hongos filamentosos oportunistas: *Aspergillus sp.*, *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.*, *Scedosporium*, etc.
 2. Otros hongos: *Penicillium*, *Candida*, otras levaduras, etc
 - ii. El de bacterias es opcional, aunque resulta útil llevarlo a cabo siempre que sea posible, porque permite la identificación de ciertos microorganismos que pueden ser interpretados como indicadores de falta de calidad. Por ejemplo:

1. Bacterias Gram positivas (Por ej: *S. aureus*, *S. epidermidis*,...): por deficiente cumplimiento de las normas por el personal, niveles altos de ocupación y/o renovación de aire insuficiente.
2. Bacterias Gram negativas (Por ej: *Pseudomonas*...): por contaminación por aerosoles, presencia de humedades, etc...
- c. Enviar informes provisionales durante la incubación y un informe definitivo al finalizar la misma. En el informe se destacarán los puntos NO CONFORMES, indicando el recuento de colonias, género de los hongos aislados (cuando se concluya la identificación también se informará la especie) y actuaciones a desarrollar.
- d. Cuando la Unidad de Medicina Preventiva no dispone de laboratorio para análisis de muestras ambientales propio, el circuito de información recomendado es el siguiente:
 - i. La Unidad de Microbiología comunica el resultado a la Unidad de Medicina Preventiva
 - ii. Medicina Preventiva valora el resultado y elabora el informe, proponiendo medidas y acciones a la Dirección del Hospital, al Jefe de Unidad (Por ej: Responsable de Bloque Quirúrgico, etc.) y al Supervisor de Cuidados del Área que ha sido controlada
- e. Medicina Preventiva informará periódicamente a la Comisión de Infecciones.

PERIODICIDAD Y PUNTOS DE MUESTREO SEGÚN ÁREAS.

Tanto las áreas, como la periodicidad y puntos de toma de muestras, estarán contemplados en un plan de muestreo local documentado que aborde al menos las siguientes variables:

1. Objetivos del muestreo
2. Áreas y lugares de muestreo
3. Tipo de muestreo
4. Número y volumen de las muestras
5. Frecuencia del muestreo
6. Condiciones del muestreo: reposo/actividad.
7. Identificación de las áreas y muestras
8. Transporte y conservación de muestras
9. Medios de cultivo
10. Temperaturas y tiempos de cultivo
11. Expresión e interpretación de resultados
12. Factores de corrección si son necesarios

Los controles se deben realizar al menos en las siguientes situaciones:

- Validación previa a la puesta en marcha de una instalación
- Validación tras una reforma mayor
- Validación tras mantenimiento por detección de anomalías
- Validación tras cambio de filtros absolutos
- Validación anual en condiciones de uso ("En reposo, sin actividad")
- Tras la limpieza del sistema de ventilación de aire acondicionado
- Tras temperaturas mantenidas de más de 28°C (A criterio de M Preventiva)
- Tras la detección de humedades en techos/paredes
- Tras aparición de casos de infección nosocomial con posible relación epidemiológica (A criterio de M Preventiva)



Además, se recomienda realizar un muestreo:

- En caso de epidemia de posible origen en área controlada
- En caso de obras en las proximidades de áreas controladas
- Cuando los servicios de Medicina Preventiva lo consideren necesario como parte de un programa de calidad en la bioseguridad hospitalaria con las frecuencias recomendadas siguientes: Tabla 5.

Tabla 5. Frecuencia recomendada de las tomas microbiológicas en áreas de ambiente controlado.

Frecuencia*	Lugar	Puntos de muestreo**
Mínima anual	Validación de condiciones de uso (Parámetros ambientales y de instalación)	Según local
Quincenal	Zonas de aislamiento Onco-Hematológico y Unidades de Quemados	1 punto a nivel de la cama
Mensual	Quirófanos de muy alto riesgo – tipo A: Trasplantes, cardiovascular, prótesis, neurocirugía, oftalmología.	1 punto a nivel de la mesa de operaciones
Trimestral	Quirófanos de alto riesgo – tipo B. Cirugía convencional y de urgencias destinados al resto de intervenciones quirúrgicas y cesáreas.	1 punto a nivel de la mesa de intervenciones
	Salas de hemodinámica y vascular intervencionista.	1 punto a nivel de ubicación del paciente
	Pasillos y almacén de estéril.	1 punto a nivel de estantería estéril
Trimestral	Zona de envasados, preparación de medicamentos y alimentación parenteral, criobiología.	1 punto en la zona de preparación
	Campana de preparación de citostáticos, Otras cabinas de flujo laminar	1 punto bajo la campana de flujo laminar

* La frecuencia de estos controles se debe adecuar a las circunstancias particulares o tipología del bloque quirúrgico o área de ambiente controlado en general y se puede aumentar si hay alteraciones en el sistema de tratamiento del aire o un paro del mismo.

**En áreas de riesgo, cuando no disponen de ambiente controlado con tres etapas de filtración, hay que muestrear también en las salidas de impulsión de aire.

ESTÁNDARES MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD AMBIENTAL. CRITERIOS DE VALORACIÓN DE RESULTADOS.

Hasta la modificación de la norma UNE-171330:2009, actualizada en 2014, no existía ninguna normativa específica de obligado cumplimiento sobre valores límites de biocontaminantes en el ambiente interior controlado en hospitales. En esta actualización se recomienda tomar como referencia para la evaluación de la calidad del aire de áreas de ambiente controlado en hospitales, los contemplados en la norma UNE-171340:2012.

Algunos organismos como la ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) indican la dificultad de establecer criterios numéricos de valoración de biocontaminantes en el ambiente. Entre las limitaciones para determinar valores umbrales o límites de calidad microbiológica del aire se encuentran:

- Las mezclas de los contaminantes ambientales producidos biológicamente están omnipresentes en la naturaleza y pueden modificarse por la actividad humana.
- Las respuestas de los humanos a los bioaerosoles varían desde efectos inocuos hasta enfermedades graves, dependiendo del agente específico y los factores de susceptibilidad de cada persona.
- Las concentraciones medidas de los bioaerosoles cultivables y contables dependen del método de toma de muestra y de la detección y análisis de los distintos componentes del bioaerosol. No es posible recoger y evaluar todos los componentes de los bioaerosoles utilizando un único método de muestreo. Los muestreadores de aire más comúnmente utilizados toman muestras puntuales en períodos cortos de tiempo y estas muestras aisladas pueden no representar la exposición humana
- Unos patógenos inhiben el crecimiento de otros.
- Los microorganismos no se encuentran sólo dispersos al azar, heterogéneamente, sino que además se concentran abundantemente en clusters o microcolonias alrededor de

partículas de materia orgánica o inorgánica (polvo) y rodeados de vacíos, es decir, los bioaerosoles son mezclas complejas de diferentes clases de partículas.

Actualmente, la información relativa a las concentraciones de los bioaerosoles cultivables o contables que han producido irritación o respuestas tóxicas o alérgicas procede, en su mayor parte, de estudios de casos que contienen sólo datos cualitativos de la exposición.

Los datos epidemiológicos que existen son insuficientes para describir las relaciones exposición-respuesta. La mayor parte de los datos de las concentraciones de los bioaerosoles específicos proceden más de medidas indicadoras que de la determinación de los agentes causantes reales y de puntos de acumulación de estos agentes (reservorios) o de las muestras del aire ambiental. Toda esta información son aproximaciones que no representan exactamente la exposición humana a los agentes causantes reales.

En función de las áreas de riesgo evaluadas, y teniendo en cuenta las recomendaciones de la UNE-171340:2012, los servicios de Medicina Preventiva deberían establecer tres niveles definidos para la contaminación microbiológica ambiental:

1. Nivel blanco: Nivel definido fijo para utilizar como objetivo de calidad en las operaciones de rutina en salas de ambiente controlado. Suelen coincidir con los niveles óptimos contemplados en la norma.
2. Nivel de alerta: Nivel establecido por el usuario en el contexto de un ambiente controlado, dando una primera alerta en caso de deriva respecto a las condiciones normales y que cuando se excede, dará lugar a un seguimiento reforzado del proceso.
3. Nivel de acción: Nivel establecido para utilizar en el contexto de un ambiente controlado, que cuando se supera, necesita una intervención inmediata, y comprende la búsqueda de la causa, y de una acción correctiva

PROPUESTA DE ESTÁNDARES PARA LA CONTAMINACIÓN FUNGICA

Niveles de contaminación fúngica. Hongos filamentosos.

En la literatura mundial no existe un consenso sobre el número de UFC/m³ de aire que es normal en el ambiente tanto intra como extrahospitalario.

En España, se realizó un estudio extrahospitalario en la Comunidad de Madrid en el que se analizó la concentración de *Aspergillus* spp. en el aire de esta región. Los resultados indicaron que hay variaciones estacionales. En la primavera se obtuvieron los menores recuentos y en otoño los mayores (mediana 1,3 UFC/m³ vs 12 UFC/m³).

Las condiciones ambientales también influyeron en el recuento de UFC/m³. El intervalo de los recuentos fue entre 0 – 85 UFC/m³. Otros autores apoyan la existencia de variaciones estacionales pero encuentran recuentos medios más elevados, que varían entre 20 – 105 UFC/m³.

Dentro del hospital los datos son igualmente controvertidos. Sin embargo, es necesario distinguir entre áreas normales de hospitalización y otras, donde debe existir algún nivel de protección. Las cifras ofrecidas como normales también varían según las fuentes.

El aire sin filtrar debería contener no más de 5 conidias/m³, aunque otros expertos aceptan entre 10 – 25 UFC/m³. Sin embargo, el aire filtrado por HEPA con una eficiencia mayor del 95% y más de 12 renovaciones por hora debería tener un recuento de 0 UFC/m³.

Al no existir una normativa universalmente aceptada, también hay discrepancias en la literatura en cuanto a si hay que valorar todos los hongos, sólo los filamentosos o sólo *Aspergillus*.

Según la Norma UNE 171340 se deben tener en cuenta hongos de las especies *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* y *Scedosporium*.

La presencia de una sola colonia de este tipo de hongos en el aire de una zona de muy alto o alto riesgo es anormal y puede indicar anomalías en los sistemas de filtrado del aire.

La presencia de hongos filamentosos en el muestreo del aire de una sala “de ambiente controlado” es por tanto una “no conformidad”.

No obstante, la contaminación del aire de zonas de muy alto y alto riesgo por hongos distintos a los mencionados en la norma, debe ser motivo, por lo menos, de la revisión de los parámetros de climatización, ya que también pueden deberse a un mal funcionamiento del sistema (por ejemplo: presencia de *Penicillium* sp en el muestreo).

Grados de evidencia científica (Tabla 6).

Tabla 6. Grados de evidencia científica

Categoría de la evidencia	Descripción
Categoría IA	Evidencia firme apoyada por estudios experimentales, clínicos o epidemiológicos bien diseñados. Siempre se deben instaurar
Categoría IB	Evidencia firme apoyada por estudios experimentales, clínicos o epidemiológicos o una firme evidencia teórica. Se deben instaurar en la mayoría de las ocasiones
Categoría IC	Requerida por leyes estatales o autonómicas o incluidas en un estándar de aplicación nacional o europeo
Categoría II	Evidencia moderada apoyada por estudios clínicos o epidemiológicos o evidencias teóricas. Se deben instaurar en algunos casos
Sin resolver	No se ofrece recomendación ya que no hay consenso o no existe evidencia suficiente

Concentración de UFC de hongos aceptable en el aire protegido.

En un local de clase I (tres etapas de filtración), con ambiente controlado, **el límite de UFC/m³ de aire admisible no debe ser superior a 0 UFC (Tabla 7).**

[Existen varias fuentes ambientales de conidias, como suelo, plantas ornamentales y arreglos florales, detritus vegetal, restos de comida y agua. Pocos estudios han correlacionado la concentración de conidias de *Aspergillus* spp. en el aire y el riesgo de infección o de colonización. Es evidente que en pacientes de alto riesgo, concentraciones tan bajas como 1 UFC/m³ pueden causar infección, por eso se proponen medidas de control ambiental estrictas]. **Grado de evidencia IC.**

Tabla 7. Niveles límites para hongos en ambientes controlados

CLASIFICACIÓN	VALOR	RESULTADO
Cualquier área de ambiente controlado. (Con 3 niveles de filtración) Quirófanos y zonas de muy alto y alto riesgo	0 UFC/m ³	Nivel blanco: 0 UFC/m ³ Nivel definido como objetivo en estas salas. Nivel de acción: Nivel que precisa una intervención inmediata; búsqueda de la causa y acción correctiva: Cualquier valor > 0UFC/m³

En conclusión, las concentraciones de esporas en el aire hospitalario pueden variar significativamente debido a zona geográfica y época del año, grado de actividad en la zona muestreada; fluctuación en la temperatura, humedad o flujo del aire y cambios en la intensidad de la luz, **sin embargo, en áreas controladas, donde el aire suministrado es tratado a través de un triple filtrado con filtro HEPA terminal, el número de UFC/m³ debe disminuir obligatoriamente hasta concentraciones de cero.**

PROPUESTA DE ESTÁNDARES PARA LA CONTAMINACIÓN BACTERIANA

Niveles de contaminación bacteriana: Aerobios mesófilos totales

Si respecto al nivel de contaminación ambiental por hongos para la validación de áreas de ambiente controlado parece existir un amplio consenso, no ocurre lo mismo respecto a los niveles admisibles de bacterias mesófilas en el aire.

La norma UNE 171340 no establece claramente que la contaminación del aire por flora aerobia mesófila deba valorarse para la validación periódica de las salas de ambiente controlado, pero si para poder clasificarlas en ambiente muy limpio, limpio o aceptable. (Tabla 8).

Tabla 8. Clasificación del ambiente en función de los recuentos microbiológicos de flora mesófila.

CLASIFICACIÓN	VALOR	RESULTADO
Quirófanos de Muy Alto Riesgo y Zonas de Muy alto riesgo (ISO 5 e ISO 6, Clase A)	< de 10 UFC/m ³	AMBIENTE MUY LIMPIO
Quirófanos de Alto Riesgo y Zonas de Alto Riesgo (ISO 7, Clase B)	10-100 UFC/m ³	AMBIENTE LIMPIO
Quirófanos y Zonas de Riesgo Intermedio (ISO 8, Clase C)	100-200 UFC/m ³	AMBIENTE ACEPTABLE
Área de ambiente controlado, sin especificar ISO	0 UFC/m ³ Hongos Aspergillus, Rhizopus, Mucor y Scedosporium.	ADMISIBLE

Tabla 8 bis. Propuesta de niveles de calidad operativos

Niveles de calidad	Nivel blanco	Nivel de alerta	Nivel de acción
Quirófanos de Muy Alto Riesgo y Zonas de Muy alto riesgo (ISO 5 e ISO 6, Clase A)	≤ de 10 UFC/m ³ (1-10 UFC)	-	>10 UFC/m ³
Quirófanos de Alto Riesgo y Zonas de Alto Riesgo (ISO 7, Clase B)	≤ de 10 UFC/m ³	Fijare entre 11-100 UFC/m ³	>100 UFC/m ³
Quirófanos y Zonas de Riesgo Intermedio (ISO 8, Clase C)	≤ de 100 UFC/m ³	Fijar entre 101-200 UFC/m ³	>200 UFC/m ³

Esta norma tampoco establece niveles operativos blanco, de alerta o de acción, como recomienda la norma UNE EN ISO 14698-1 “Control de la biocontaminación de salas limpias y ambientes controlados asociados” en función de la clasificación de zonas de riesgo, quedando en manos de cada centro la definición de los mismos. Los datos que aparecen en la tabla 8 bis son sólo a modo de ejemplo.

PROPUESTA DE ACTUACIONES ANTE UNA “NO CONFORMIDAD” DE BIOSEGURIDAD AMBIENTAL EN AREAS CONTROLADAS

1. QUIRÓFANOS

La presencia de hongos en cualquier quirófano obliga a realizar las siguientes intervenciones (Tabla 9):

1. Valorar la pertinencia se suspender la actividad quirúrgica:
 - a. **En los quirófanos de muy alto riesgo (Tipo A: alta tecnología)** la actividad debe suspenderse hasta tener constancia de ausencia de hongos en una nueva muestra tras las acciones correctivas necesarias.

- b. **En los quirófanos convencionales y ambulatorios**, en los que no se realiza cirugía de alto riesgo, la decisión de suspender o no la actividad cuando se sobrepasen los niveles de alerta será valorada por Medicina Preventiva de acuerdo con la Dirección del Área Quirúrgica y la Dirección Médica de cada centro en función de otros parámetros, además del microbiológico (seguridad de pacientes versus gestión de pacientes).
- c. **La presencia de un número de UFC de bacterias mesófilas por encima de los niveles aceptables** en quirófanos obliga a realizar las mismas tareas de mantenimiento que en caso de detección de hongos, pero la suspensión o no de la actividad se realizará en función de otros parámetros, además del microbiológico (Tipo de quirófano, existencia de quirófanos alternativos, características de los pacientes en LEQ, procedimientos no demorables, etc), que deberán ser valorados por Medicina Preventiva de acuerdo con la Dirección del Área Quirúrgica y la Dirección Médica de cada centro.

2. En todos los casos:

- a. Revisar la climatización para detectar posibles causas.
 - i. Tipo, integridad, colmatación de los filtros.
 - ii. Último cambio de filtros.
 - iii. Limpieza de rejillas y de conductos accesibles.
 - iv. Revisión de presiones diferenciales, impulsión/extracción, renovaciones aire/hora, temperatura y humedad relativa, estanqueidad de la sala, etc.
- b. Limpieza terminal del área tras corrección de desviaciones si se detectaron, (superficies horizontales y verticales, incluyendo dispositivos médicos y fungibles), con desinfectante de superficies apropiado.
- c. Revisión de los aspectos higiénicos y de la circulación del personal en el quirófano (apertura de puertas, respeto de circuitos, etc).
- d. Nueva toma de muestras de control.

TABLA 9. Quirófanos con tres niveles de filtración (HEPA terminal)

CRITERIO	CAUSA	SOLUCION	RESPONSABLE
*Crecimiento fúngico o bacteriano por encima del umbral de bioseguridad en la muestra del entorno del paciente	Problemas o fallos en SISTEMA DE VENTILACIÓN	Evaluación, cambio o ajuste de filtros intermedios y/o HEPA	Servicio de Mantenimiento
	REMOCIÓN de esporas fúngicas desde superficies horizontales	Limpieza a fondo (incluyendo rejillas)	Servicio de Limpieza
	Entrada del exterior por DEFECTOS EN HERMETICIDAD	Cierre correcto de Puertas, ventanas o guillotinas. Revisión de fugas y desajustes	Servicio de Mantenimiento
	Deficiencias en la observación de normas de CIRCULACIÓN/DISCIPLINA QUIRURGICA	Cumplimiento de las normas de circulación/disciplina quirúrgica (Comprobación del cumplimiento de los protocolos existentes en circulación del personal e higiene del bloque quirúrgico)	Personal de servicios médicos y quirúrgicos Personal de Medicina Preventiva

*En ambos casos se realizará **nueva verificación de la bioseguridad** tras la aplicación de las medidas de mejora y si indica bioseguridad se reanuda la actividad quirúrgica (en caso de que esta se hubiese suspendido). En estos casos la lectura parcial a los tres días puede ser suficiente para liberar la actividad en el quirófano cuando esta se suspendió por esta causa.

2. OTRAS ÁREAS HOSPITALARIAS CON AMBIENTE CONTROLADO. (Tabla 10).

TABLA 10. Otros locales con ambiente controlado y tres niveles de filtración

CRITERIO	CAUSA	SOLUCION	RESPONSABLE
*Crecimiento fúngico o bacteriano por encima del umbral de bioseguridad en la muestra del entorno del paciente/o en el centro de la sala	Problemas o fallos en SISTEMA DE VENTILACIÓN	Cambio o ajuste filtros intermedios y/o HEPA	Servicio de Mantenimiento
	REMOCIÓN de esporas fúngicas desde superficies horizontales	Limpieza a fondo (incluyendo rejillas)	Servicio de Limpieza
	Entrada del exterior por DEFECTOS EN HERMETICIDAD	Cierre correcto de puertas y ventanas Revisión de fugas y desajustes	Servicio de Mantenimiento
	Deficiencias en la observación de normas de CIRCULACIÓN/DISCIPLINA QUIRURGICA	Cumplimiento de las normas de circulación/disciplina quirúrgica (Comprobación del cumplimiento de los protocolos existentes en circulación del personal e higiene del bloque quirúrgico)	Personal del área Personal de Medicina Preventiva

*En ambos casos se realizará **nueva verificación de la bioseguridad** tras la aplicación de las medidas de mejora.

En las áreas o habitaciones de pacientes en aislamiento protector, ocupadas por pacientes inmunocomprometidos, ante una situación de biocontaminación se trasladará al paciente a otra habitación que cumpla con los requerimientos mínimos, realizándose una nueva verificación tras la aplicación de las medidas de mejora.

En el resto de áreas, ante una situación de biocontaminación, se realizarán las propuestas de mejora de forma inmediata y se valorará la necesidad de clausurar el área, o bien, repetir la verificación una vez llevadas a cabo las recomendaciones, siempre con el consenso de la Dirección de Área afectada, Medicina Preventiva y la Dirección del centro.

BIBLIOGRAFÍA

- *Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities. Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices.* U.S. Department of Health and Human Services Atlanta, GA 30333(2003) Internet. Disponible en: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5210a1.htm> . Consultado 20/06/2013
- *Recomendaciones para la Verificación de la Bioseguridad Ambiental (BSA) respecto a Hongos Oportunistas.* Grupo de trabajo de la Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene y el INSALUD. Madrid, 20 de marzo del 2000. Internet. Disponible en: <http://www.sempsph.com/es/>. Consultado 20/06/2013
- *Recomendaciones para la Vigilancia, Prevención y Control de Infecciones en Hospitales en Obras.* Grupo de Trabajo de la Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene y el INSALUD. Madrid, 21 de marzo del 2000. Internet. Disponible en: <http://www.sempsph.com/es/>. Consultado 20/06/2013
- *Contamination fongique dans les immeubles publics: Effets sur la santé et méthodes d'évaluation.* Santé Canada. 2004. ISBN 0-662-77180-X.
- *Qualité de l'air en bloc opératoire.* Dossier. Salles propres. N° 61. Avril-mai 2009.
- *La Qualité de l'Air au Bloc. Opératoire. Racommandations d'experts.* SSFH. GR-AIR/octobre 2004. Internet. Disponible en: www.sfh.net. Consultado 16/08/2013
- *UNE 100713:2005. Instalaciones de acondicionamiento de aire en hospitales.* AENOR.
- *EN-ISO 14644-1:2000. Salas limpias y locales controlados.*
- *UNE 171340:2012. Validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales.* AENOR.
- *UNE 171330-2:2009. Calidad ambiental en interiores. Parte 2: Procedimientos de inspección de calidad ambiental interior.* AENOR.
- *UNE 171330-2:2014. Calidad ambiental en interiores. Parte 2: Procedimientos de inspección de calidad ambiental interior.* AENOR.
- *NTP859: Ventilación general en hospitales.* Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo.
- *Guía práctica para el diseño y mantenimiento de la climatización en quirófanos.* Subdirección General de Obras, Instalaciones y Suministros. 1997. Instituto Nacional de la Salud. Ministerio de Sanidad y Consumo.
- *Bloque quirúrgico. Estándares y recomendaciones.* Informes, estudios e investigación 2009. Ministerio de Sanidad y Política Social.
- *Guía de buenas prácticas para la seguridad y la sostenibilidad del área quirúrgica*, Servei Català de Salut (Departament de Salut. Generalitat de Catalunya. 2012)
- *Recomendaciones para la minimización de los riesgos microbiológicos asociados a las infraestructuras hospitalarias de Osakidetza.* Coordinación de Programas de Salud Pública. Dirección de Asistencia Sanitaria. Osakidetza / Servicio vasco de salud. ISBN: 978-84-89342-95-8.
- *Armadans-Gil L, et al. Particle counting and microbiological air sampling: Results of the simultaneous use of both procedures in different types of hospital rooms.* *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012. doi:10.1016/j.eimc.2012.01.005
- *Hoelscher and Friedrich: Differences in the correlation between microbiological air sampling and particle counting in operating theatres and hospital cleanrooms.* *BMC Proceedings* 2011 5 (Suppl 6):P303.
- *I. Ruiz-Camps et al. Recomendaciones sobre la prevención de la infección fúngica invasora por hongos filamentosos de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC).* *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28(3):172.e1–172.e21
- *Ruping MJ, Vehreschild JJ, Cornely O.A. Patients at high risk of invasive fungal infections: when and how to treat.* *Drugs.* 2008;68:1941-62.
- *Documentos técnicos de instalaciones en la edificación DTIE 1.06. Instalación de climatización en hospitales.* Pastor Pérez, Paulino. Ed. ATECYR. ISBN: 978-84-95010-31-5. Madrid 2012.
- *NF S90-351 Avril 2013. Établissements de santé - Zones à environnement maîtrisé - Exigences relatives à la maîtrise de la contamination aéroportée.* AFNOR.



ANEXOS

ANEXO 1

UNE significa "Una Norma Española". Una "Norma" es una documentación elaborada por el consenso de un grupo de expertos, con pretensiones de aportar un conocimiento técnico definitivo. Las UNE, por tanto, son un conjunto de normas tecnológicas creadas por los Comités Técnicos de Normalización (CTN), de los que forman parte todas las entidades y agentes implicados e interesados en los trabajos del comité. Por regla general estos comités suelen estar formados por AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación), fabricantes, consumidores y usuarios, administración, laboratorios y centros de investigación. Tras su creación, tienen un período de seis meses de prueba en la que son revisadas públicamente, para después ser redactadas definitivamente por la comisión, bajo las siglas UNE. Son actualizadas periódicamente y deben adaptarse a las normas superiores o de rango europeo (EN) cuando ambas coexistan.

Las normas se numeran siguiendo una clasificación decimal. El código que designa una norma está estructurado de la siguiente manera:

Norma	A	B	C
UNE	100	713	2005

A: Comité Técnico de Normalización del que depende la norma.

B: Número de norma emitida por dicho comité, complementado cuando se trata de una revisión (R), una modificación (M) o un complemento (C).

C: Año de edición de la norma.

En principio las UNE (y otras normas EN, DIN, ISO, NF, etc.) no son de obligada observancia, salvo que la administración competente las haga obligatorias mediante Ley, Decreto, Reglamento, o exija su cumplimiento en los Pliegos de Prescripciones Técnicas de los proyectos de construcción, o en los contratos de suministros. A pesar de esto, en RD 1801/2003, de 26 de Diciembre, sobre seguridad general de los productos, se establece la obligatoriedad de algunas normas UNE EN, en el uso y disposición de algunos equipos y elementos, al no existir otra norma de obligado cumplimiento en las especificaciones técnicas a cumplir. Por otra parte, los particulares pueden exigir su cumplimiento en sus proyectos privados. A pesar de todo lo expuesto, nunca se debe perder de vista que en caso de existir problemas reales por el no cumplimiento de las normas UNE, la última palabra sobre la obligación de su cumplimiento la tendrá el juez.

Normativa relacionada con la bioseguridad ambiental en hospitales (en negrita las de especial relevancia en hospitales)

- REAL DECRETO 1027/2007, de 20 de julio, por el que se aprueba el Reglamento de Instalaciones Térmicas en los Edificios (**RITE**)
- UNE 100705:1991. Climatización. Medición del caudal de aire en rejillas o difusores. Método de compensación de la presión. UNE-EN 13098:2001 Atmósferas en el lugar de trabajo. Directrices para la medición de microorganismos y endotoxinas en suspensión en el aire.
- **UNE-EN ISO 14644-1:2000** Salas limpias y locales anexos. Parte 1: Clasificación de la limpieza del aire. (ISO 14644-1:1999).
- UNE-EN ISO 14644-2:2001 Salas limpias y locales anexos controlados. Parte 2: Especificaciones para los ensayos y el control para verificar el cumplimiento continuo con la Norma ISO 14644-1. (ISO 14644-2:2000).

- **UNE-EN ISO 14644-3:2006** Salas limpias y locales anexos controlados. Parte 3: Métodos de ensayo. (ISO 14644-3:2005).
- **UNE-EN ISO 14644-4:2001** Salas limpias y locales anexos controlados. Parte 4: Diseño, construcción y puesta en servicio. (ISO 14644-4:2001).
- **UNE-EN ISO 14644-5:2005** Salas limpias y locales anexos controlados. Parte 5: Funcionamiento. (ISO 14644-5:2004).
- **UNE-EN ISO 14644-6:2008** Salas limpias y locales anexos controlados. Parte 6: Vocabulario. (ISO 14644-6:2007).
- **UNE-EN ISO 14644-7:2005** Salas limpias y locales anexos controlados. Parte 7: Dispositivos de separación (campanas de aire limpio, cajas de guantes, aisladores, mini entornos). (ISO 14644-7:2004).
- **UNE-EN ISO 14644-8:2007** Salas limpias y locales anexos controlados. Parte 8: Clasificación de la contaminación molecular transportada por el aire. (ISO 14644-8:2006).
- **UNE 100012:2004** Higienización de Sistemas de Climatización
- **UNE-EN ISO 14698-1:2004** Salas limpias y ambientes controlados asociados. Control de la biocontaminación. Parte 1: Principios y métodos generales. (ISO 14698-1:2003).
- **UNE-EN ISO 14698-2:2004** Salas limpias y ambientes controlados asociados. Control de la biocontaminación. Parte 2: Evaluación e interpretación de los datos de biocontaminación. (ISO 14698-2:2003).
- **UNE-EN-13779:2005** Climatización. La ventilación para una calidad aceptable del aire en los locales.
- **UNE 100713:2005** Instalaciones de acondicionamiento de aire en hospitales
- **UNE 171212:2008.** Calidad de aire interior. Buenas prácticas en las operaciones de limpieza.
- **UNE 171330-1:2008.** Calidad ambiental en interiores. Parte 1: Diagnóstico de calidad ambiental interior.
- **UNE 171330-2:2009.** Calidad ambiental en interiores. Parte 2: Procedimientos de inspección de calidad ambiental interior
- **UNE 171330-2:2014.** Calidad ambiental en interiores. Parte 2: Procedimientos de inspección de calidad ambiental interior
- **UNE-EN 1822-1/5:2010.** Filtros absolutos (EPA, HEPA y ULPA).
- **UNE 171340:2012.** Validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales.
- **UNE-EN 15780:2012** Ventilación de edificios. Conductos. Limpieza de sistemas de ventilación.

Existen otras muchas normas concernientes a la ventilación y climatización y, en especial, a sus sistemas e instalaciones, pero como es obvio no serán descritas en este procedimiento.

ANEXO 2

Factores a considerar para la selección del dispositivo de muestreo

- Categoría de equipos: pasivos o activos
- Tipo y tamaño de partículas viables: los microorganismos en el aire se encuentran formando clusters junto a partículas orgánicas o inorgánicas y en microcolonias que aumentan el tamaño de agente biológico
- Sensibilidad de partículas a procedimiento de muestreo
- Concentración esperada de partículas viables
- Flora microbiana autóctona
- Accesibilidad a zonas de riesgo
- Capacidad de detección de bajos niveles de biocontaminación
- Condiciones ambientales de la zona objeto de muestreo (temperatura, humedad, iluminación, etc.)
- Tiempos y duración del muestreo
- Medios de cultivo, material y propiedades del muestreo
- Precisión y eficacia de la toma de muestras
- Perturbaciones del flujo unidireccional
- Caudales/volumenes
- Velocidad de flujo/velocidad de impacto
- Precisión/eficacia de la recogida
- Facilidad de manejo y funcionamiento
- Facilidad de limpieza y desinfección-esterilización
- Incubación y detección de partículas viables y del método de evaluación
- Tipo de información a obtener
- Cualidades ergonómicas del equipo (peso, maniobrabilidad, facilidad de manejo, etc.)
- Cumplimiento de las exigencias de las partes 1,2 de la Norma ISO_EN 14698 y de la Norma UNE_EN 13098.



ANEXO 3

Agentes de estrés biológico que introducen las técnicas de muestreo ambiental

- **Efecto de desecación:** cuando hacemos pasar grandes volúmenes de aire sobre la placa de cultivo se produce un efecto de desecación de éste y de las superficies celulares de los microorganismos, que los harán inviables. El medio deshidratado impide el crecimiento de las unidades formadoras de colonias. Este efecto es más importante cuando evaluamos aire muy limpio, en el que se espera una muy baja presencia de gérmenes y del que por lo tanto, deberemos obtener muestras de mayor volumen.
- **Efecto de “rebote” y “paso de largo”:** cuando el aire pasa a gran velocidad por el cabezal del muestreador se producen turbulencias que pueden conseguir que las partículas viables no lleguen a impactar contra la placa (paso de largo) o salgan rebotadas, sin llegar entonces a sembrarse en el medio de cultivo. Estos efectos se acentúan cuanto mayor es la velocidad y el caudal del muestreo, por ello lo ideal es seleccionar caudales bajos.
- **Factor de corrección (Número más probable):** el muestreo volumétrico por impactación requiere del uso de cabezales perforados en los dispositivos de muestreo. Esto provoca que algunas partículas viables impacten en las zonas no perforadas y que, sin embargo, en la placa puedan depositarse mas de una partícula que haya penetrado por el mismo orificio de entrada, esto puede traducirse en recuentos de UFC inferiores a los que realmente existen en la muestra, y este error es mayor cuanto mayor es la presencia de gérmenes en la misma. Podemos intentar corregir este sesgo aplicando el factor de corrección o tabla del “Número Más Probable” de Feller. (Ver cálculo del número más probable en el anexo 6).

ANEXO 4

Técnica de recogida de muestras en los métodos no volumétricos

(Recomendaciones SEMPSPH-INSALUD, 1999)

- Se recomiendan un mínimo de 6 puntos de muestreo: uno a la entrada de aire y el resto en el entorno del enfermo (mesa quirúrgica, cama del paciente,...), realizando la toma a un metro de altura.
- El muestreo se aplica tras 2 ó 3 horas de actividad quirúrgica, o en cualquier momento del día si es una habitación de hospitalización.
- Dada la variabilidad a la que puede estar sometido este procedimiento de muestreo, se colocarán siempre dos placas en cada punto de muestreo.
- Medios de cultivo, incubación y lectura: Anexo 5
- Valorar los falsos positivos (placas contaminadas de origen), que suelen presentar crecimiento de bacterias en sus bordes.
- En caso de que exista crecimiento en una placa y no en la otra de su par, se repetirá el muestreo completo.

La técnica de muestreo ambiental por sedimentación es una técnica que no permite una estandarización objetiva de los resultados y que está sujeta a una amplia variabilidad metodológica y de evaluación, por lo que se recomienda sólo cuando no es posible realizar el muestreo volumétrico.



ANEXO 5

Medios de cultivo, incubación y lectura

Flora	Medios de cultivo	Tª de incubación	Tiempo incubación	Resultados
Aerobios mesófilos totales	Ejemplos: TSA ó A-LTP	35-37°C ± 1°C	72 horas	Lectura cada 24h (Informe final al tercer día)
Hongos	Ejemplos: - Saboreaud + Dextrosa +cloranfenicol - Agar Rosa de Bengala CAF	OPCIÓN 1 (propuesta en UNE-171340) 1º Estufa a 37°C ± 1°C 2º Tª ambiente (21-25°C)	48 horas + 72 horas*	Lectura cada 24 horas (Informe intermedio al 3º día y final al 5º día*)
		OPCIÓN 2 Incubación en estufa a 25°C ± 1 °C	5 días*	

*Algunos autores indican la incubación para hongos hasta los 7 días.

Medios de cultivos para bacterias.

TSA (Agar-tripticosa-soja)

Composición:

Hidrolizado tripsico de caseína	15,0 g/l
Peptona de soja	5,0 g/l
Cloruro sódico	5,0 g/l
Agar-Agar	15,0 g/l
pH del medio a punto de uso	7,3 +/- 0.2

Medio de cultivo universal, utilizado para el cultivo de una amplia variedad de microorganismos de acuerdo a los requerimientos Armonizados United States Pharmacopoeia (USP), European Pharmacopoeia (EU), and Japanese Pharmacopoeia (JP). Medio estándar para flora aerobia total mesófila

Agar- LPT (TSA base + lecitina+ tween)

Composición:

Digerido pancreático de caseína	5 gr/l
Extracto de lavadura	2.5 gr/l
Dextrosa	10 gr/l
Thioglicolato sódico	1 gr/l
Thiosulfato sódico	6 gr/l
Bisulfito sódico	2,5 g/l
Polisorbato	80 5 gr/l
Lecitina	7 g/l
Púrpura de Bromocresol	0,02 g/l
Agar-agar	15 g/l

Medio de cultivo sólido para recuento de bacterias aeróbicas, con neutralizante para anular la presencia de desinfectantes en el aire y emulsificantes y dispersantes, que neutralizan la desecación de la placa durante el muestreo. Puede recuperar más UFC que otros medios estándar.

Medios de cultivos para hongos.

Agar de Sabouraud con Cloranfenicol (+/- gentamicina)

Composición

Peptona de caseína	5,0 g/l
Peptona de carne	5,0 g/l
D (+) Glucosa	40,0 g/l
Cloranfenicol	0,5 g/l
Agar – agar	15,0 g/l
pH del medio a punto de uso	5,6, aproximadamente

Es un medio de cultivo sólido, específico para efectuar el contaje de hongos y levaduras

Agar Rosa de Bengala CAF:

Peptona	5 g/l
Fosfato potásico	1 g/l
Sulfato magnésico	0,5 g/l
Rosa Bengala	0,05 g/l
Cloranfenicol	0,1 g/l
Agar-agar	15 g/l

Medio para el aislamiento de levaduras y hongos procedentes del medio ambiente. Recupera más que otros medios estándar debido a que los mohos de crecimiento rápido no se extienden, dejando crecer a levaduras y a mohos de crecimiento lento, es también más sensible a la hora de discriminar el umbral "1 ufc/m3".

ANEXO 6

Cálculo del Número Probable Total de unidades formadoras de colonias (Pr)

El Número Probable Total de UFC se obtendrá siguiendo los siguientes métodos:

- Método cuantitativo: el valor del recuento de colonias que hayan crecido (r), expresado en unidades formadoras de colonias (UFC) y referidas a 1 m³ de aire, se multiplicará por un factor de conversión, resultando el número probable total de unidades formadoras de colonias (Pr):

$$Pr = r * \text{factor de conversión}$$

El valor de este factor de conversión dependerá del volumen de aire muestreado, como se detalla en la siguiente tabla:

Factor de conversión (m3)	Volumen de aire muestreado (l)
10	100
5	200
2,5	400
2	500
1	1000

- Cálculo de los resultados cuantitativos basados en la teoría de la probabilidad: el método de corrección estadística se basa en el principio de que a mayor cantidad de microorganismos en cada toma de muestras, aumenta la probabilidad de que hayan penetrado varios de ellos por el mismo orificio del soporte del muestreador (cabezal del muestreador de impacto).

La cifra de recuento de gérmenes (r) se corrige con ayuda de la tabla de corrección estadística de Feller (o tabla del “Número Más Probable”) ó aplicando la fórmula de Feller en la que se basa la tabla:

$$Pr = N * \sum_{x=0}^{r+1} [1/(N-x)]$$

Bien expresado como

$$Pr = N [1/N + 1/(N-1) + 1/(N-2) + 1/(N-r+1)]$$

ó como

$$Pr = N * \ln [(N + 0,5) / (N - r + 0,5)]$$

Donde:

N es el número de orificios de la tapa del colector-muestreador

r es el número de UFC

Pr es el número probable total de UFC

Ejemplo: Los números de orificios suelen ser 200, 300 ó 400. Para el muestreador volumétrico modelo Merck Air Sampler MAS 100 ®, el número de orificios del cabezal es 300 orificios de 0,6 mm de diámetro, por lo que la fórmula quedaría como:

$$Pr = 300 * \ln [(300 + 0,5) / (300 - r + 0,5)]$$

Si el valor del recuento r ha sido de 150 colonias, al aplicar la fórmula de Feller se obtendría un Pr = 207,4. La Tabla de Feller da el valor 207, lo cual es obviamente un resultado de redondeo de cifras.



Ejemplo de tabla de conversión de Feller para orificios del cabezal

Tabla de conversión orificios MAS-100

Tapa de impactación 300 x 0,6

r= Número de unidades formadoras de colonias (UFC) contadas en la placa Petri de 90 mm

Pr= Número probable total de UFC

Positive hole conversion table MAS-100 Merck KGaA, Darmstadt, Germany

r = Number of colony forming units counted on 90 mm Petridish Pr = Probable statistical total

r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr
1	1	51	54	101	116	151	189	201	279	251	394	301	557	351	836
2	2	52	56	102	118	152	191	202	281	252	397	302	561	352	844
3	3	53	57	103	119	153	193	203	283	253	400	303	565	353	853
4	4	54	58	104	120	154	194	204	285	254	402	304	569	354	861
5	5	55	59	105	122	155	196	205	287	255	405	305	573	355	870
6	6	56	60	106	123	156	197	206	289	256	408	306	578	356	879
7	7	57	61	107	124	157	199	207	291	257	411	307	582	357	888
8	8	58	63	108	126	158	201	208	293	258	413	308	586	358	897
9	9	59	64	109	127	159	202	209	295	259	416	309	591	359	907
10	10	60	65	110	128	160	204	210	297	260	419	310	595	360	917
11	11	61	66	111	130	161	206	211	299	261	422	311	599	361	927
12	12	62	67	112	131	162	207	212	301	262	425	312	604	362	937
13	13	63	68	113	133	163	209	213	304	263	428	313	608	363	947
14	14	64	70	114	134	164	211	214	306	264	431	314	613	364	958
15	15	65	71	115	135	165	212	215	308	265	433	315	618	365	969
16	16	66	72	116	137	166	214	216	310	266	436	316	622	366	981
17	17	67	73	117	138	167	216	217	312	267	439	317	627	367	992
18	18	68	74	118	140	168	218	218	314	268	442	318	632	368	1005
19	19	69	76	119	141	169	219	219	317	269	445	319	637	369	1017
20	20	70	77	120	142	170	221	220	319	270	449	320	642	370	1030
21	22	71	78	121	144	171	223	221	321	271	452	321	647	371	1043
22	23	72	79	122	145	172	224	222	323	272	455	322	652	372	1057
23	24	73	80	123	147	173	226	223	325	273	458	323	657	373	1071
24	25	74	82	124	148	174	228	224	328	274	461	324	662	374	1086
25	26	75	83	125	150	175	230	225	330	275	464	325	667	375	1102
26	27	76	84	126	151	176	232	226	332	276	467	326	673	376	1118
27	28	77	85	127	153	177	233	227	335	277	471	327	678	377	1134
28	29	78	87	128	154	178	235	228	337	278	474	328	684	378	1152
29	30	79	88	129	156	179	237	229	339	279	477	329	689	379	1170
30	31	80	89	130	157	180	239	230	342	280	480	330	695	380	1189
31	32	81	90	131	158	181	241	231	344	281	484	331	701	381	1209
32	33	82	92	132	160	182	242	232	346	282	487	332	706	382	1230
33	34	83	93	133	161	183	244	233	349	283	491	333	712	383	1252
34	35	84	94	134	163	184	246	234	351	284	494	334	718	384	1276
35	37	85	95	135	164	185	248	235	353	285	497	335	724	385	1301
36	38	86	97	136	166	186	250	236	356	286	501	336	730	386	1327
37	39	87	98	137	167	187	252	237	358	287	504	337	737	387	1356
38	40	88	99	138	169	188	254	238	361	288	508	338	743	388	1387
39	41	89	101	139	171	189	255	239	363	289	511	339	749	389	1420
40	42	90	102	140	172	190	257	240	366	290	515	340	756	390	1456
41	43	91	103	141	174	191	259	241	368	291	519	341	763	391	1496
42	44	92	104	142	175	192	261	242	371	292	522	342	769	392	1541
43	45	93	106	143	177	193	263	243	373	293	526	343	776	393	1591
44	47	94	107	144	178	194	265	244	376	294	530	344	783	394	1648
45	48	95	108	145	180	195	267	245	378	295	534	345	791	395	1715
46	49	96	110	146	181	196	269	246	381	296	537	346	798	396	1795
47	50	97	111	147	183	197	271	247	384	297	541	347	805	397	1895
48	51	98	112	148	185	198	273	248	386	298	545	348	813	398	2028
49	52	99	114	149	186	199	275	249	389	299	549	349	820	399	2228
50	53	100	115	150	188	200	277	250	391	300	553	350	828	400	2628



ANEXO 7

UTILIZACIÓN DEL MUESTREADOR VOLUMÉTRICO MAS 100® EN UN QUIRÓFANO



Muestreador MAS 100® programado



Muestreador abierto, cabezal y tapa



Higiene de manos



Muestreador y cabezal estéril



Equipo quirúrgico completo



Inicio del procedimiento



Colocación de la placa de Petri



Colocación de la placa de Petri



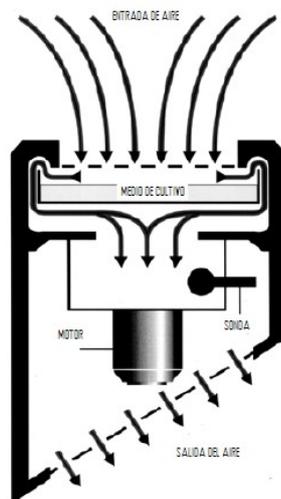
Puesta en marcha



Toma de muestra en área paciente



Toma de muestras en otros puntos (Impulsión, zonas grises, etc)



Estructura interna del muestreador

ANEXO 8. MUESTREO MICROBIOLÓGICO DEL AIRE EN SALAS DE AMBIENTE CONTROLADO

RESUMEN PRACTICO DE LAS RECOMENDACIONES

1. Método y dispositivo de muestreo: volumétrico, por impactación en placa de cultivo mediante Colector-Muestreador volumétrico de impacto (Partes 1 y 2 de la norma UNE-EN-ISO 14698 y UNE-EN 13098).
2. Volumen de muestreo: Opciones:
 - a. Una toma de 1000 l
 - b. Dos tomas de 500 l (alta sensibilidad con menor efecto desecación)
 - c. Varias tomas de 200 l
 - d. Cuanto más limpio sea el ambiente a muestrear, mayor debe ser el volumen de la muestra.
3. Punto de muestreo: con la sala en reposo (lista pero sin actividad)
 - a. En general: en el punto más crítico a proteger de la sala
 - i. En quirófanos o salas de exploraciones especiales: en la zona del paciente.
 - ii. En habitaciones protegidas: a nivel de la cama
 - iii. En salas de trabajo estériles: en la zona de trabajo
 - iv. En campanas de flujo laminar: en el centro de la campana
 - v. En almacén de estéril: en una estantería de altura media
4. Caudal de muestreo:
 - a. Ideal: 0.5 l/s (mayor sensibilidad en ambientes muy limpios)
 - b. Aceptable: 0.5 a 1.5 l/s
 - c. En muestreadores con caudal fijo ajustar los volúmenes ideales a muestrear, no guiarnos sólo por los tiempos
 - d. Hacer constar en el informe el parámetro utilizado
5. Placas para siembra:
 - a. Petri ó
 - b. Rodac: según algunos autores pueden obtener mayores recuentos (mayor sensibilidad de la prueba). No ajustable a todos los muestreadores del mercado.
6. Medios de cultivo:
 - a. Bacterias:
 - i. Agar LTP: más sensible
 - ii. TSA: estándar
 - b. Hongos:
 - i. Rosa Bengala CAF: más sensible
 - ii. Saboureaud-cloramfenicol (+/- gentamicina): estándar
7. T^a y tiempo de incubación:
 - a. Bacterias: 35-37 +/- 1 °C durante tres días
 - b. Hongos: dos opciones
 - i. Según la UNE 171340: dos días a 37 +/- 1 °C y 3-5 días más a T^a ambiente (21 a 25 °C).
 - ii. Cuando la T^a ambiente no sea controlable: estufa a 25 +/- 1 °C durante 5 a 7 días
8. Informe de resultado:
 - a. En UFC/m³ de aire
 - b. Utilizar los factores de conversión y las tablas ó fórmula de Feller para dar el Número Más Probable Total de UFC (NMP).
 - c. En caso de no calcularse el NMP indicar en el informe que se trata de "lectura directa" de UFC.
 - d. Identificar los hongos hasta el nivel mínimo de género. Identificar flora bacteriana patógena y oportunista cuando sea posible.

- e. Cuando se utilicen caudales de muestreo altos (1.5 l o mayores) informar la ausencia de crecimiento de UFC como “Por debajo del límite de detección de la técnica” mejor que como “0 UFC/m³”.
 - f. Incluir en el informe los parámetros de la sala (al menos Temperatura y Humedad Relativa) y del muestreo (muestreador, caudal, volumen, tipo de placa y medios y tiempos de incubación)
9. Periodicidad del muestreo:
- a. Validación previa a la puesta en marcha.
 - b. Validación post-reforma.
 - c. Validación post-mantenimiento por detección de anomalías.
 - d. Validación tras cambio de filtros absolutos.
 - e. En caso de epidemia de posible origen en área controlada (Criterio M. Preventiva)
 - f. En caso de temperaturas elevadas mantenidas (Criterio M. Preventiva)
 - g. En caso de detección de humedades (manchas en paredes o techos)
 - h. En caso de obras en las proximidades de áreas controladas
 - i. Tras resultados microbiológicos por encima del resultado de clase correspondiente
 - j. Cuando los Servicios de Medicina Preventiva, consideren necesario como parte de un programa de calidad en la bioseguridad Hospitalaria con las siguientes frecuencias:
 - i. En zonas controladas de aislamiento protector Onco-Hematológico: cada 15 días.
 - ii. En Quirófanos y Áreas de muy alto riesgo: cada 30 días.
 - iii. En Quirófanos y Áreas de alto riesgo: cada trimestre
 - iv. Preparación de citostáticos (campana): cada trimestre
 - v. Otras áreas seleccionadas: cada trimestre
 - k. Límites microbiológicos de clase
 - i. Para hongos:
 - 1. En todas las áreas controladas: 0 UFC/m³
 - ii. Para bacterias:
 - 1. En Quirófanos y Áreas de muy alto riesgo (ISO 6): 10 UFC/m³
 - 2. En el resto de Quirófanos y Áreas de alto riesgo (ISO 7): 100 UFC/m³
 - 3. En áreas de riesgo intermedio (ISO 8): 200 UFC/m³
 - l. Actuación en caso de resultados fuera de rango:
 - i. En quirófanos y áreas de muy alto riesgo: suspensión de la actividad, búsqueda y corrección de anomalías y nueva toma de muestras.
 - ii. En el resto de áreas controladas: valorar la suspensión/continuidad de la actividad, búsqueda y corrección de anomalías y nueva toma de muestras.

ANEXO 9 (I)

ZONAS DEL HOSPITAL Y PARAMETROS AMBIENTALES I. Propuesta de valores de elaboración propia contemplada en el DTIE 1.06. 2012.

ZONA	VALORES DE PARAMETROS AMBIENTALES								
	Tª (°C)	HR (%)	Ventilación (m³/(h*m²)) excepto RPH	Clase de sala	Sobre/Depresión (Pa)	Biocontaminación (ufc/m³)	Ruido (dBA)		
HOSPITALIZACION									
Habitaciones hospitalización general	24-26	45-55	10	NO APLICA	NO APLICA	SEGÚN UNE 171330	40		
Salas de espera				ISO 8	S>2.5	<200			
Pasillos					D>6				
Habitaciones de neonatos					D>6				
Habitaciones de infecciosos				ISO 7	S>6	<100			
Exclusa de infecciosos					S>6				
Pasillo de infecciosos			S>6						
Habitación para inmunodeprimidos			30	ISO 7	S>6	<100			
Exclusa de entorno protegido					S>6				
OBSTETRICIA									
Paritorios	22-26	45-55	15-20 RPH 1200 m³/h aire exterior	ISO 8	S>6	<200	40		
Dilatación y postparto			15						
AREAS CRITICAS									
Quirófanos de alto riesgo	(18) 22-26	45-55	15-20 RPH 1200 m³/h aire exterior	ISO 6	S>20	<10	40 (30 en sala de despertar)		
Quirófanos convencionales	22-26			ISO 7	S>10	<100			
Pre y Postoperatorio (despertar)	22-26			ISO 8	S>10	<200			
Unidad de cuidados intensivos (UCI)	24-26		30	ISO 7	S>2.5	<100			
UCI de neonatos						<100			
Urgencias, sala de curas				ISO 8	<200				
Pasillos					NO APLICA	NO APLICA		SEGÚN UNE 171330	
SALAS DE DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO									
Diagnóstico por imagen con requisitos de sala limpia (artroscopia, toracosopia, etc)	24-26		45-55 (puede variar en unidad de quemados)	30	ISO 7	S>2.5		<100	40
Diagnóstico por imagen con requisitos convencionales		10		ISO 8	<200				
Unidades de tratamiento especiales (quemados, trasplantes, etc)		30		ISO 7	S>6	<100			
LABORATORIOS									
Fecundación in vitro	Según RITE y RD 486		20 RPH	ISO 7	S>6	<100	40		
Laboratorio de células madre				NO APLICA	D>2.5	NO APLICA			
Laboratorio general									
Laboratorio bioquímica									
Laboratorio AP									
Laboratorio microbiología									

Tª (°C): temperatura en grados centígrados, HR: humedad relativa, RPH: renovaciones por hora, D: depresión, S: sobrepresión. dBA: decibelios.

Fuente: En Documentos técnicos de instalaciones en la edificación DTIE 1.06. Instalación de climatización en hospitales. Pastor Pérez, Paulino. Ed. ATECYR. Madrid 2012. Con la autorización del autor.

ANEXO 9 (II)

ZONAS DEL HOSPITAL Y PARAMETROS AMBIENTALES II. Propuesta de valores de elaboración propia contemplada en el DTIE 1.06. 2012.

ZONA	VALORES DE PARAMETROS AMBIENTALES						
	Tª (°C)	HR (%)	Ventilación (m ³ / (h*m ²)) excepto RPH	Clase de sala	Sobre/Depresión (Pa)	Biocontaminación (ufc/m ³)	Ruido (dBA)
SERVICIOS AMBULATORIOS							
Hospital de día	24-26	45-55	10	NO APLICA	NO APLICA	SEGÚN UNE 171330	40
Consultas externas							
UNIDADES MEDICAS DE APOYO							
Esterilización (almacén estéril)	24-26	45-55	30	ISO 8	D>2.5	<200	40
Farmacia (estériles)				ISO 7	S>2.5	<100	
Alimentación parenteral				ISO 7	S>2.5	<100	
Cocinas	NO APLICA	NO APLICA	10	NO APLICA	D	NO APLICA	
Mortuorios	24-26	45-55	30	ISO 8	D>2.5	NO APLICA	
Lavandería almacén de limpio				ISO 8	S>2.5	<200	
Lavandería sucio	NO APLICA	NO APLICA	10	NO APLICA	D	NO APLICA	
AREAS ADMINISTRATIVAS							
Áreas administrativas	SEGÚN RITE Y RD 486			NO APLICA	NO APLICA	SEGUN UNE 171330	40

Tª (°C): temperatura en grados centígrados, HR: humedad relativa, RPH: renovaciones por hora, D: depresión, S: sobrepresión. dBA: decibelios

Fuente: En Documentos técnicos de instalaciones en la edificación DTIE 1.06. Instalación de climatización en hospitales. Pastor Pérez, Paulino. Ed. ATECYR. Madrid 2012. Con la autorización del autor.

