

Calidad del aire interior. Contaminantes biológicos (II). Tipos de muestreo

Indoor air quality. Biological contaminants (II): Sample collection methods
Qualité d'air intérieur. Contaminants biologiques (II): Types d'échantillonnage

Autor:

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT)

Elaborado por:

María de la O Culver González
CENTRO NACIONAL DE
NUEVAS TECNOLOGÍAS (INSHT)

Esta NTP es continuación de la NTP 1.064 y ofrece una descripción de las técnicas de muestreo a emplear para la determinación de contaminantes biológicos en el marco de la investigación de problemas asociados a la calidad del aire interior, así como de las características principales de los equipos de muestreo más utilizados para tal fin.

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.

1. MUESTREO DEL AIRE POR IMPACTACIÓN

De los muestreadores que se encuentran disponibles para el muestreo de bioaerosoles, aquellos que basan su funcionamiento en el método de impactación son los más empleados para captar contaminantes biológicos.

El parámetro que representa principalmente la eficacia de captación de un impactador es el diámetro de corte (d_{50}), que se corresponde con el diámetro aerodinámico de la partícula (d_a) para el cual la eficacia de captación será del 50%, asumiéndose que, en el caso de partículas con d_a superior al d_{50} , la eficacia de captación será del 100%. Esto significa que, a la hora de seleccionar el impactador adecuado, es necesario considerar su d_{50} , el cual no debería ser superior al d_a del contaminante biológico que se pretende determinar.

Otros parámetros que determinan la eficacia de captación de un impactador, afectando al d_{50} son:

- El caudal de muestreo, Q: el empleo de caudales elevados requiere tiempos de muestreo muy cortos para evitar la desecación de los microorganismos.
- La distancia entre la entrada de aire y la superficie de impactación, S: debe ser lo suficientemente pequeña para permitir un flujo de aire homogéneo y evitar el rebote de las partículas, siendo el valor recomendado para impactadores con orificios circulares ≥ 1 mm, y para impactadores con orificios rectangulares $> 1,5$ mm.
- La cantidad de medio de cultivo utilizada: estudios realizados en algunos impactadores sugieren que, cuanto mayor es ésta, menor es el valor de S y d_{50} , y mayor es la eficiencia de captación, reduciéndose, además, el enmascaramiento de las colonias.
- El número de orificios: influyen en el rendimiento del impactador a causa del flujo cruzado originado por orificios adyacentes, originando cambios, p.ej., en la mecánica de flujo en la zona de impactación y en la localización de los puntos de impactación.
- La longitud de los orificios de entrada de aire, W: influye en el perfil de la velocidad del aire, considerándose adecuado si es igual o superior al diámetro del orificio.
- El número de Reynolds, Re: se requiere un valor entre

500 y 3.000 para que el flujo de aire a través de los orificios sea lo más homogéneo posible y la deposición uniforme.

En la tabla 1 se muestran algunas características de diversos impactadores, según los diferentes estudios realizados.

En estos muestreadores de impactación, los contaminantes biológicos son captados o retenidos en placas o tiras con medio de cultivo sólido o semisólido, en un medio líquido o en portaobjetos de vidrio para su posterior análisis microscópico. La impactación en placa para microorganismos viables y cultivables presenta la ventaja de que estos pueden ser captados directamente en el medio de cultivo para su subsiguiente incubación y conteo de las colonias que se han formado sin necesidad de un procesamiento posterior al muestreo, a diferencia de lo que ocurre con el impingement o muestreo en medio líquido. No obstante, el empleo de un medio líquido para la captación preserva mejor la viabilidad de los microorganismos, siendo mayor la eficiencia de captación.

Muestreadores de impactación en placa de agar

Impactador multiorificio

Se trata de muestreadores de un solo nivel en los que la entrada de aire está constituida por múltiples orificios circulares. La mayoría puede colocarse en posición horizontal o en vertical y operan a un caudal elevado que permite el análisis de ambientes con bajo nivel de contaminación, o de aquellos donde se requiera el muestreo de grandes volúmenes de aire durante cortos periodos de tiempo. Además, suelen ser portátiles.

Existen diversos tipos de impactadores multiorificio, describiéndose a continuación las características de algunos de los más utilizados, así como la eficiencia de captación que muestran según estudios realizados: BioCulture, Microbiological Air Sampler (MAS-100), Microflow, Millipore Air Tester (M Air T), Sterilizable Microbial Atrium (SMA) o Surface Air System (SAS).

El muestreador BioCulture aspira aire a través de un cabezal con 380 orificios con forma de cono expandido,

TIPO DE MUESTREADOR	EJEMPLOS	Q (l/min)	Nº DE ORIFICIOS	W o D ^A (mm)	S (mm)	D ₅₀ (µm)
Impactador multiorificio	BioCulture	120	380	1,25 (ext.) 2,3 (int.)	1,7	7
	MAS-100	100	400	0,7	2,8	1,7
	M Air T	140	1.000	0,46	5,84	2,3
	Microflow	30 - 120	378	1,1 (ext.) 2,5 (int.)	1,89	>10 - 8,8
	SAS Super 90	90	219	0,8	n.d.	2 - 4
	SAS Super 180	180	400	0,8	2,16	≈ 2
	Duo SAS Super 360	360	219	1	n.d.	≈ 1
	SMA	28,3 - 141,5	12	6,3	5	>10 - 4,8
Impactador en cascada	Andersen 1 etapa	28,3	400	0,25	1,5 ^B	0,65
	Andersen 2 etapas	28,3	200	1: 1,5 2: 0,4	1,5 ^B	1: 8,0 2: 0,95
	Andersen 6 etapas	28,3	400	1: 1,18 2: 0,914 3: 0,711 4: 0,533 5: 0,343 6: 0,254	1,5 ^B	1: 7,0 2: 4,7 3: 3,3 4: 2,1 5: 1,1 6: 0,65
Impactador en rendija	Casella MK-II	30-700	1	0,35	2	0,67
	Mattson-Garvin Air Sampler	28	1	0,152	2,5	0,53
Trampa de esporas	Burkard	10	1	2	n.d.	5,2
	Allergenco MK-3	15	1	1,1	n.d.	≈ 2
	Air-O-Cell	10	1	1,1	1	2,3 - 2,5
	Allergenco-D	10	1	1,1	0,89	≈ 1,7
	Micro-5	5	1	2,1	<<1	0,8
Borboteador o impinger	AGI-4, AGI-30	12,5	-	-	-	0,3
	BioSampler	12,6	-	-	-	0,3
Muestreador centrífugo	RCS High Flow	100	n.d.	n.d.	n.d.	1,2
	Ciclón Coriolis µ/δ	100-300	1	n.d.	-	< 1
	Muestreador ciclónico NIOSH de una etapa	2 - 4	1	1,99	-	1,5
	Muestreador ciclónico NIOSH de dos etapas	2 3,5	1	n.d.	-	2,6, 1,6 1,8, 1,0

A: D hace referencia a la anchura del orificio
 B: valor máximo recomendado
 n.d.: no disponible

Tabla 1. Parámetros físicos estudiados de diversos impactadores

con un diámetro externo de 1,25 mm y un diámetro interno de 2,3 mm, operando a un caudal de 120 l/min. Presenta un d_{50} elevado, de 7 µm, mostrando una baja eficiencia de captación para partículas de $d_a \leq 5,2$ µm, siendo ésta <10% para partículas con $d_a \leq 1$ µm.

El muestreador MAS-100 consta de un cabezal con 400 orificios de 0,7 mm de diámetro y su caudal de aspiración es de 100 l/min. Su d_{50} es de 1,7 µm y muestra una eficiencia de captación cercana al 90% para partículas con d_a de 2,5 - 3 µm, mientras que, para partículas con $d_a < 1$ µm, ésta se reduce a $\leq 30\%$.

El muestreador Microflow presenta un cabezal con 380 orificios (para placas de 90 mm) o 219 (para placas de 60 mm), los cuales tienen forma de cono expandido con un diámetro externo de 1,1 mm y un diámetro interno de 2,5 mm. Opera a un caudal de 30 a 120 l/min, habiendo mostrado una eficiencia de captación mayor con éste último, ya que se reduce el d_{50} de 10 a 8,8 µm. No obstante, ésta es muy baja a la hora de captar partículas de $d_a < 3$ µm, pudiendo llegar a ser inferior al 10%.

El muestreador M Air T consta de un cabezal con una rejilla microperforada con 1.000 orificios de 0,46 mm de diámetro y emplea secuencialmente dos caudales diferentes, uno de 140 l/min para los primeros 500 litros de aire muestreado y, a continuación, uno de 180 l/min al que cambia automáticamente, durando el ciclo completo aproximadamente unos 6 minutos. Su eficiencia de captación supera el 60% para partículas con $d_a \geq 3$ µm, pero se ha observado una disminución considerable cuando opera a un caudal de 180 l/min, y parece ser debida a la desecación del agar durante la primera etapa de 140 l/min. Para partículas con $d_a \leq 1$ µm, muestra una eficiencia de captación muy pequeña, de aproximadamente el 5%.

El muestreador SMA tiene un cabezal con 12 orificios de 6,3 mm de diámetro y opera a un caudal de 28,3 - 141,5 l/min. Al igual que ocurre con Microflow, la eficiencia de captación aumenta con el caudal más elevado, ya que muestra una disminución del d_{50} de >10 a 4,8 µm. Presenta una eficiencia de captación en torno al 50% para

partículas con d_a de 5 μm , siendo <10% en el caso de partículas con $d_a \leq 1 \mu\text{m}$.

El muestreador SAS presenta uno o dos cabezales con 219 o 401 orificios de unos 0,8 – 1 mm de diámetro. Existen diversos modelos, como el SAS Super 90, el SAS Super 180 y el DUO SAS Super 360 que operan, respectivamente, a unos caudales de 90 l/min, 180 l/min y 360 l/min. El muestreador DUO SAS Super 360 consta de dos cabezales, cada uno de los cuales funciona con un caudal de 180 l/min. Esto permite la realización de duplicados simultáneamente, así como el muestreo de dos tipos distintos de microorganismos. No obstante, estudios realizados han mostrado una desviación de los resultados obtenidos con los dos cabezales, probablemente debida a una distribución desigual del flujo de aire, no consiguiéndose el mismo caudal en ambos. La mayor eficiencia de captación la muestra el muestreador SAS Super 180, siendo >80% para partículas con $d_a \geq 3 \mu\text{m}$, aunque es <10% para partículas con $d_a \leq 1 \mu\text{m}$.

Lo anteriormente indicado permitió concluir en los estudios realizados que este tipo de muestreadores tienden a infravalorar la concentración de partículas de pequeño tamaño, como bacterias individuales, pudiendo resultar más adecuados para partículas más grandes como agregados microbianos o esporas fúngicas de mayor tamaño.

Impactador en cascada: Muestreador Andersen

Se trata de un muestreador multiorificio en cascada que separa automáticamente las partículas en fracciones según su tamaño. Existen modelos de 2 y 6 niveles, que constan de cabezales perforados de 200 y 400 orificios, respectivamente, cuyo diámetro disminuye progresivamente en sentido descendente, y operan a un caudal de 28,3 l/min. Suele utilizarse como muestreador de referencia para valorar la eficacia de otros muestreadores.

También existe la versión de una etapa, adaptada de la última fase del muestreador Andersen de 6 etapas.

Impactador en rendija

En este tipo de muestreadores, el aire pasa a través de una rendija y las partículas impactan en una placa de 15 x 150 mm situada sobre una base rotativa que gira a una velocidad previamente seleccionada. De esta manera, los microorganismos son separados espacialmente y se efectúa un análisis basado en el tiempo.

Existen diversos tipos de impactadores en rendija, como el muestreador Casella MK- II que opera a un caudal de 30 – 700 l/min y tiene un d_{50} de 0,67 μm , mostrando una eficacia de captación elevada para partículas con $d_a > 1 \mu\text{m}$. Otro ejemplo lo constituye el muestreador Mattson-Garvin Air Sampler, que opera a un caudal de 28 l/min y presenta un d_{50} de 0,53 μm .

Muestreadores de impactación en portaobjetos o láminas

En este tipo de muestreadores, se acelera un volumen de aire conocido (normalmente de 50 a 150 litros en ambientes no pulverulentos) a través de un orificio o hendidura estrecha, produciéndose la impactación de las partículas en una superficie impregnada con una sustancia adhesiva. El análisis se realiza empleando técnicas de microscopía.

Se emplean láminas o portaobjetos de vidrio con una sustancia adhesiva transparente (p.ej. aceite de silicona o adhesivos a base de vaselina). La naturaleza adhesiva

del medio evita la pérdida de partículas durante el proceso de tinción y reduce el riesgo de pérdida de la muestra por vibraciones durante la manipulación y el transporte. La sustancia adhesiva a emplear debe permitir que la superficie se mantenga lo más húmeda posible para minimizar el rebote de las partículas. Además, debe ser capaz de resistir condiciones climáticas adversas y ser compatible con tinciones y montajes del portaobjetos. Los colorantes más empleados son el naranja de acridina y el azul de lactofenol.

Trampa de esporas Burkard

Es el muestreador estándar para la captación de polen y esporas en el aire exterior. El aire es succionado a 10 l/min hacia el interior de una cámara a través de una hendidura de 2 x 14 mm orientada en la dirección del viento gracias a una veleta de viento que, además, la protege de las inclemencias del tiempo. La corriente de aire impacta sobre la superficie de un tambor que gira a 2 mm/h en el sentido de las agujas del reloj, y las partículas quedan adheridas en una cinta de plástico transparente impregnada con una sustancia adhesiva y colocada alrededor del tambor.

Su principal ventaja es que permite el monitoreo continuo durante 7 días, pudiendo, además, adaptarse para muestreos de 24 horas y para muestreos en aire interior retirando la veleta. Presenta una eficiencia de captación elevada, principalmente para partículas de tamaño inferior a 10 μm .

Trampa de esporas Allergenco MK-3

Se trata de un muestreador portátil en el que el aire es aspirado a 15 l/min a través de un orificio rectangular de 1,1 x 14,5 mm, y es dirigido a un portaobjetos impregnado con una sustancia adhesiva. Tiene un temporizador que se puede programar para captar una muestra durante 10 minutos cada hora, tras la cual el portaobjetos cambia de posición, lo cual permite la captación de muestras secuenciales en un mismo portaobjetos. Puede operar hasta 24 horas.

Impactador en portaobjetos desechable: Air-O-Cell, Allergenco-D, Micro-5.

Estos muestreadores presentan unas dimensiones reducidas, por lo que pueden emplearse en espacios estrechos como cavidades de paredes para investigar la presencia de moho oculto, o en el interior de los conductos del sistema HVAC. Permiten tiempos de muestreo muy cortos, de hasta 10 min.

El muestreador Air-O-Cell presenta un orificio de entrada rectangular de 1,1 x 14,4 mm y opera a un caudal de 15 l/min., siendo el tiempo de muestreo normalmente de 5 a 10 min. La entrada es cónica con las esquinas afiladas, lo cual hace que puedan crearse turbulencias de aire en la zona de impactación y no se depositen las partículas de manera uniforme.

En cuanto al muestreador Allergenco-D, el orificio de entrada también es rectangular, con unas dimensiones de 1,1 x 14,5 y emplea un caudal de 15 l/min. El tiempo de muestreo recomendado es de 1 a 10 minutos. Al igual que el anterior, la entrada es cónica, pero presenta una sección recta de 4 mm, lo cual, según estudios realizados, permite que el flujo de aire sea más homogéneo y la captación de partículas pequeñas más eficiente ya que, además, se reduce la S y el d_{50} .

Por otro lado, el muestreador Micro-5 presenta un orificio de entrada circular de 2,1 mm de diámetro y opera a un caudal de 5 l/min, siendo el tiempo de muestreo recomendado de 1 a 10 min. Si bien presentan un diámetro de corte reducido, de 0,8 μm , la S es muy pequeña, siendo el ratio S/W $\ll 1$, lo cual no es recomendable, ya que una distancia demasiado corta potencia el rebote de las partículas, haciendo que la deposición de las mismas en el portaobjetos no resulte homogénea.

Muestreadores de impactación en medio líquido. Borboteo o impigement

En estos equipos, el aire es aspirado a través de una entrada curvada que simula el tracto respiratorio superior y las partículas impactan en un volumen conocido de líquido de captación, empleándose normalmente agua desmineralizada, tampón fosfato salino o agua peptonada. A fin de preservar la viabilidad de los microorganismos, se le añaden aditivos como proteínas, antiespumantes y anticongelantes.

Se trata de uno de los equipos de muestreo más versátiles, ya que el líquido de captación puede analizarse empleando diversas técnicas, como cultivo, microscopía, así como ensayos para determinar componentes, productos, o metabolitos microbianos.

Los borboteadores más empleados son AGI-30 y AGI-4, que operan a un caudal de 12,5 l/min y tienen un diámetro de corte de 0,3 μm . En el interior del vaso contienen una boquilla de aceleración situada, respectivamente, a 30 mm y 4 mm del fondo del mismo. Esta boquilla consiste en un tubo capilar curvado y ha sido diseñada para reducir el daño a las células cuando el aire se dispersa a través del líquido de captación y las partículas son atrapadas en él. No obstante, el movimiento de "burbujeo" generado por el flujo de aire incrementa la posibilidad de que las partículas captadas, principalmente las más pequeñas (con un diámetro inferior a 1 μm), vuelvan a aerosolizarse, lo cual daría lugar a una infravaloración de su concentración. Esto es más acusado en el caso del AGI-4, ya que una distancia de 4 mm genera un mayor estrés físico en los microorganismos, con el consiguiente aumento de la posibilidad de rebote y aerosolización. Además, hay que tener en cuenta que las soluciones acuosas no captan eficientemente los microorganismos menos hidrosolubles (p.ej. *Bacillus*). Estas soluciones se evaporan fácilmente, no recomendándose efectuar el muestreo durante más de 30 minutos. No obstante, presenta una elevada eficacia de captación para partículas de 0,3 a 5,0 μm de diámetro y, en comparación con las técnicas de impactación en placa de agar o en tiras con medio de cultivo, preserva mejor la viabilidad de los microorganismos debido a que se reduce el riesgo de desecación al emplear un medio líquido para efectuar su captación. Además, los borboteadores pueden emplearse para captar elevadas concentraciones de contaminantes, ya que pueden diluirse para su posterior análisis.

Otro ejemplo es el BioSampler, cuya diferencia fundamental con respecto a los anteriores radica en que en el interior del vaso contiene tres boquillas orientadas en ángulo hacia la pared del muestreador y el aire es aspirado a través de cada una de ellas a un caudal de 4,2 l/min, siendo el caudal total de 12,6 l/min. El aire es impulsado tangencialmente y las partículas impactan en las paredes, siendo arrastradas por el líquido de captación, en el que se produce un movimiento de remolino. Por tanto, la captación de partículas tiene lugar por las fuerzas combinadas de impactación tangencial y centrifugación.

El movimiento de remolino genera pocas burbujas, reduciéndose la probabilidad de rebote de las partículas y de su reconversión en aerosoles. Además, permite el empleo de líquidos no evaporativos (p.ej. glicerol, aceite mineral) y, por tanto, tiempos de muestreo más largos (hasta 8 horas), manteniendo una eficacia física de captación relativamente constante.

Centrifugación

Muestreador RCS (Reuter Centrifugal Sampler)

Se trata de un muestreador portátil en el que la fuerza centrífuga generada por un rotor de aspa origina la impactación de los microorganismos en el medio de cultivo contenido en una tira de plástico.

Dentro de estos equipos, cabe destacar el RCS High Flow, que opera a un caudal de 100 l/min. Ha mostrado una eficiencia de captación $\geq 75\%$ para partículas con $d_p > 2$, mientras que, en el caso de partículas de 1 μm , ésta se reduce al 40%.

Ciclón

En estos equipos, el aire es introducido tangencialmente en el interior del equipo y va descendiendo efectuando un movimiento de remolino por la acción de la fuerza centrífuga, haciendo que las partículas más grandes impacten las paredes del ciclón y las más pequeñas se depositen en el fondo del tubo.

Existen dos tipos, de pared húmeda y de pared seca, que captan, respectivamente, muestras líquidas y secas, las cuales pueden ser analizadas empleando diversas técnicas, de igual manera que los borboteadores.

En comparación con los borboteadores AGI y, al igual que ocurre con BioSampler, el movimiento efectuado genera un menor estrés a los microorganismos, reduciéndose el rebote de las partículas y aumentando, por tanto, la eficiencia de captación. De esta manera, se pueden captar grandes concentraciones durante periodos de tiempo más largos. Además, suelen ser equipos portátiles y, en algunos casos, permiten el muestreo personal.

Un ejemplo de ciclón de pared húmeda es el Coriolis. Este muestreador consta de una cámara con forma de cono invertido donde se produce la captación de contaminantes empleando los mismos líquidos de captación que los borboteadores.

Existen diversos modelos, como Coriolis μ y Coriolis δ , empleándose este último para el muestreo en aire exterior. Operan a un caudal de 100 – 300 l/min y el tiempo de muestreo suele ser de 1 a 10 min, aunque, en el caso de Coriolis δ , éste puede extenderse hasta 6 horas si se renueva el líquido de captación.

Estos muestreadores muestran una eficacia de captación relativamente elevada para partículas pequeñas, dado su bajo d_{50} ($< 1 \mu\text{m}$), aunque ésta es inferior a la de BioSampler. No obstante, estudios realizados muestran que su mayor eficacia de captación la consiguen a la hora de muestrear partículas más grandes, llegando a ser del 100% en el caso de partículas con d_a de 4.4 μm , y del 109% para las de d_a de 16 μm .

Por otro lado, entre los ciclones de pared seca, cabe destacar los muestreadores NIOSH. Se trata de muestreadores personales que emplean para la captación de partículas tubos de microcentrifuga Eppendorf de 1,5 ml, y disponen de un filtro de respaldo para captar partículas más pequeñas, como, por ejemplo, fragmentos fúngicos.

Existen dos modelos, de una y dos etapas. En el caso

del ciclón de una etapa, el caudal empleado es de 2 a 4 l/min y su d_{50} es de 1,5 μm , presentando una elevada eficiencia de captación para partículas de hasta 16 μm de d_a .

En cuanto al muestreador ciclónico de dos etapas, éste opera a dos caudales distintos, de 2 l/min y de 3,5 l/min., y utiliza dos tubos de microcentrífuga Eppendorf de 1,5 ml. El d_a de las partículas captadas depende del caudal utilizado:

- 2 l/min: en la primera etapa se captan partículas de $d_a > 2,6 \mu\text{m}$, mientras que, en la segunda, se recogen aquellas con d_a entre 1,6 y 2,6 μm . El filtro de respaldo capta partículas de $d_a \leq 1,6 \mu\text{m}$.
- 3,5 l/min: en la primera etapa se captan partículas de $d_a > 1,8 \mu\text{m}$, mientras que, en la segunda, se recogen aquellas con d_a entre 1 y 1,8 μm . El filtro de respaldo capta partículas de $d_a \leq 1 \mu\text{m}$.

Estudios realizados muestran que el ciclón de dos etapas presenta una elevada eficiencia de captación para partículas de $d_a \leq 3,5 \mu\text{m}$ a ambos caudales, mientras que, para partículas más grandes, el equipo capta con mayor eficiencia cuando emplea el caudal más alto.

2. MUESTREO DEL AIRE POR FILTRACIÓN

Mediante esta técnica, las partículas son captadas en filtros de un tamaño de poro determinado por diversos mecanismos como la impactación, la interceptación o la difusión, así como por fuerzas eléctricas o gravitacionales. La eficacia de captación depende del tipo de filtro, de su tamaño de poro (normalmente entre 0,01 y 10 μm), y del caudal empleado para el muestreo.

Se emplea para la captación de microorganismos totales (viables y no viables) y otros contaminantes biológicos, permitiendo tiempos de muestreo largos, así como el muestreo personal. La muestra obtenida puede analizarse empleando diversas técnicas, incluyendo el cultivo de los microorganismos captados.

Suelen presentar una mayor eficacia de captación para un mayor rango de tamaños de partículas en comparación con los impactadores, siempre que se empleen con los filtros adecuados.

Los filtros pueden estar fabricados con materiales muy diversos, como politetrafluoroetileno (PTFE), ésteres mixtos de celulosa (MCE), policarbonato, cloruro de polivinilo (PVC), gelatina, o fibra de vidrio. La selección del filtro va a depender, fundamentalmente, del contaminante de interés y de la técnica de análisis que se va a emplear.

Por ejemplo, los filtros de fibra de vidrio y de PVC son higroscópicos, por lo que pueden emplearse para realizar análisis gravimétricos. Los filtros de MCE y de policarbonato pueden hacerse transparentes con acetona y aceite de inmersión, respectivamente, y ser analizados al microscopio óptico, mientras que las membranas de policarbonato de color negro y los filtros de PTFE pueden observarse con el microscopio de epifluorescencia. Además, los filtros de policarbonato y de PTFE se lavan fácilmente, por lo que también son adecuados para su análisis con el microscopio electrónico de transmisión y el microscopio electrónico de barrido. Por último, el análisis de diversos componentes y metabolitos microbianos puede llevarse a cabo empleando filtros de policarbonato, PTFE, MCE y filtros de fibra de vidrio, y el cultivo de microorganismos puede realizarse con filtros de policarbonato y gelatina, siendo éste último, en principio, más adecuado, ya que preserva mejor la viabilidad de los microorganismos, aunque resulta frágil y se seca con facilidad, de manera que no puede emplearse para tiempos de muestreo largos.

Muestreador Button

Consta de un cuerpo de aluminio, siendo la superficie de entrada curvada con numerosos orificios de 381 μm de diámetro. El caudal empleado es de 4 l/min, y se utiliza con filtros de 25 mm.

Permite el muestreo de la fracción inhalable, presentando baja sensibilidad a la velocidad y a la dirección del viento, pudiendo captar partículas grandes, al mismo tiempo que reduce la captación de partículas de $d_a > 100 \mu\text{m}$. Además, con este muestreador se consigue una mayor uniformidad en la captación y en el depósito de partículas.

Muestreador IOM

Consta de un cuerpo de plástico conductor o de acero inoxidable y la entrada de aire se produce a través de un orificio circular de 15 mm de diámetro. Opera a un caudal de 2 l/min y se emplea con filtros de 25 mm.

Permite el muestreo de la fracción inhalable, pudiendo emplearse también para el muestreo de la fracción respirable mediante la incorporación de un disco de una espuma plástica porosa, como la espuma de poliuretano.

Muestreador de cassette de 37 mm

Consiste en un cassette de tres piezas, cerrado o abierto, fabricado en poliestireno y con un orificio de entrada de aire de 4 mm de diámetro. Suele operar a un caudal de 1 a 5 l/min, y se emplea con filtros de 37 mm. Su eficacia de captación se reduce considerablemente en condiciones de elevada humedad, así como a la hora de captar partículas de tamaño superior a 30 μm . Presenta también otros inconvenientes, como pérdidas en las paredes internas y deposición no uniforme en el filtro de captación.

3. MUESTREO DE SUPERFICIES

Este método resulta apropiado para confirmar la presencia de microorganismos, permitiendo detectar el foco de contaminación y el grado de extensión de la misma cuando la inspección visual resulta ambigua (p.ej. en el caso de que se observen manchas o decoloraciones y se desconozca si son debidas a moho). También puede ser empleado para comprobar la eficacia de un procedimiento de limpieza o de desinfección de superficies.

No se trata de un método cuantitativo (salvo el muestreo con placas de contacto), pero es útil para identificar géneros o especies de microorganismos. Por otro lado, debido a la gran variabilidad de los resultados obtenidos y a la escasa correlación mostrada con las mediciones del aire, este tipo de muestreo no puede utilizarse como único método para evaluar el riesgo de exposición, siendo una herramienta complementaria para la evaluación ambiental.

Muestreo con torunda

Se utiliza para el muestreo en materiales lisos, y consiste en el empleo de una torunda de algodón estéril que debe humedecerse en un líquido estéril en caso de que la superficie esté seca, no siendo esto necesario cuando ésta se encuentra húmeda. Se aplica la torunda con un ligero movimiento de vaivén en varias direcciones en una área determinada (normalmente de 100 cm^2) y delimitada por una plantilla. A continuación, se introduce la torunda en un tubo con un líquido estéril apropiado, pudiendo éste ser el mismo tipo de líquido que el empleado para

humedecerla. El análisis se realiza por cultivo mediante siembra del contenido con la torunda, ya sea directamente, o tras diluir el mismo.

Muestreo con esponja

El empleo de esponjas estériles resulta útil para el muestreo de superficies grandes y/o irregulares. Se frota la esponja (la cual puede hidratarse de la misma manera que la torunda) sobre un área determinada de la superficie a muestrear y el contenido es extraído y diluido antes de su análisis, que se realiza por cultivo.

Muestreo con placa de contacto

Este método se emplea en superficies lisas y consiste en la aplicación, mediante una ligera presión, de una placa de contacto (normalmente una placa RODAC) con un medio de cultivo ligeramente en exceso, siendo ésta a continuación incubada para la posterior identificación y recuento de las colonias.

La ventaja que presentan estos tres métodos es que permiten la determinación relativa de la concentración de microorganismos, expresándose ésta en ufc/cm² (unidades formadoras de colonias por centímetro cuadrado de superficie), aunque los resultados obtenidos no son precisos.

Muestreo con cinta adhesiva

Este método también requiere que la superficie sea lisa y se lleva a cabo presionando ligeramente una cinta impregnada con una sustancia adhesiva sobre la superficie a muestrear y efectuando la identificación de las partículas atrapadas con un microscopio. A diferencia de los anteriores, no puede emplearse para determinar concentraciones de microorganismos y, además, no suele permitir la caracterización a nivel de especie.

4. MUESTREO DE MATERIALES

Este método se emplea para el análisis de porciones de material (p.ej. papel pintado, revestimiento de conductos del sistema HVAC, moquetas), de polvo depositado o de agua, con el fin de determinar si presentan contaminantes biológicos que puedan constituir la causa del problema que se está investigando.

Materiales distintos de polvo o agua

Los materiales pueden encontrarse completamente limpios, mostrar alguna decoloración, o presentar un crecimiento microbiano visible, pudiendo ser requerido su análisis para identificar la contaminación presente. La muestra debe tener un tamaño lo suficientemente pequeño como para poder ser transportada y analizada fácilmente. No obstante, si, por ejemplo, presenta diferentes tonos de decoloración, el tamaño debe ser tal que permita representar el daño del material, o deberían cogerse diversas muestras que puedan proporcionar una representación completa del contaminante o de los contaminantes biológicos presentes en el área dañada. El análisis efectuado confirmará la presencia o ausencia de contaminación, permitiendo, en su caso, la identificación del contaminante.

Polvo depositado

El muestreo y análisis de polvo es un método adecuado para la determinación de diversos contaminantes biológicos, tales como: esporas, fragmentos, alérgenos y metabolitos fúngicos (micotoxinas, β -1,3 glucanos), endotoxinas bacterianas, ácaros, fragmentos de insectos, o descamaciones de animales. Se encuentra menos influenciado por la variación temporal a corto plazo en las concentraciones de contaminantes, y permite la aplicación de diversos análisis a las muestras. No obstante, la interpretación de los resultados obtenidos resulta compleja, ya que la diversidad de contaminación presente va a depender principalmente del movimiento de las personas y del nivel de limpieza.

La muestra se puede coger directamente mediante el empleo de una cuchara o una espátula, o puede efectuarse la captación de polvo con un aspirador convencional provisto de un filtro HEPA (*del inglés, High Efficiency Particulate Air*), o mediante cassettes con filtro de 37 mm o 25 mm acoplados a una bomba de aspiración, siendo normalmente el caudal empleado de 20 a 25 l/min cuando se utilizan los de 37 mm, y de 10 a 20 l/min cuando se utilizan los de 25 mm. Se delimita el área a muestrear y se aspira a una velocidad determinada (por ejemplo, 1 m² cada 1 – 2 min.) en una dirección y, después, en dirección perpendicular a la anterior.

Una vez obtenida la muestra, se procede a la extracción de los contaminantes empleando un medio adecuado y se analiza el líquido resultante mediante la técnica de análisis que resulte más apropiada. Los resultados se suelen expresar en términos de concentración del contaminante de interés por gramo de polvo.

Agua

Este método consiste en introducir un volumen determinado de agua en un recipiente estéril y proceder a su análisis, ya sea mediante cultivo, como por técnicas microscópicas o ensayos, y se emplea para el muestreo de bacterias como *Legionella pneumophila* o de protozoos en el agua de las torres de refrigeración (u otras instalaciones de riesgo), y de otros elementos del sistema HVAC.

5. MUESTREO DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES MICROBIANOS

Aunque algunos pueden detectarse olfativamente, los COVM se encuentran a bajas concentraciones en el aire interior, de manera que su determinación resulta difícil, incluso empleando métodos con una resolución muy elevada. Además, no suele ser común su realización en este tipo de ambientes.

En caso de que resulte conveniente la determinación de este tipo de contaminantes, uno de los métodos recomendados es la captación en un sorbente como carbón activo, seguida de una desorción térmica (para lo cual se emplea calor y un flujo de un gas inerte como el helio), en combinación con una cromatografía de gases acoplada a una espectrometría de masas (GC/MS).

BIBLIOGRAFÍA

Se relaciona en la NTP 1.064.