

INVESTIGACIÓN

2010



VALIDACIÓN Y ESTUDIO COSTES DE UN MÉTODO FOTOMÉTRICO DE RECUENTO DE PARTÍCULAS EN AIRE COMO ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE LA SEGURIDAD BIOLÓGICA AMBIENTAL DE QUIRÓFANOS Y SALAS LIMPIAS EN LOS HOSPITALES

FUNDACIÓN MAPFRE

www.fundacionmapfre.org

Investigador Principal

Berta Uriel Latorre

Lda. en Medicina y Cirugía
Jefe de Servicio de Medicina Preventiva
Complejo Hospitalario de Orense

Equipo Investigador

Ana María Blanco Rodríguez

Lda. en Ciencias Físicas
Técnico Prevención de Riesgos Laborales
Complejo Hospitalario de Orense

Daniel Seoane Mato

Ldo. en Medicina y Cirugía
Médico Residente Medicina Preventiva
Complejo Hospitalario de Orense

María Jesús Azuara García

Diplomada en Enfermería
Supervisora Servicio Preventivo
Complejo Hospitalario de Orense

Índice

	Página
1. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA	4
2. HIPÓTESIS	4
3. OBJETIVOS	4
4. METODOLOGÍA	4
4.1. Aparatos de medida	5
4.2. Metodología de las mediciones	5
4.3. Análisis estadístico	5
5. RESULTADOS	5
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10

1. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA

Existen en los hospitales determinadas áreas que, bien por el tipo de actividad que en ellas se realiza (quirófanos de cirugía cardíaca, de implantes o trasplantes) bien por el tipo de pacientes que acogen (habitaciones de inmunodeprimidos o grandes quemados) requieren un aire especialmente limpio de hongos y bacterias para evitar infecciones graves en los pacientes.

Independientemente de las instalaciones especiales que requieren de filtrado de aire y sobrepresión relativa respecto a áreas circundantes, una adecuada política de garantía de la seguridad del paciente, requiere realizar controles periódicos que comprueben el adecuado rendimiento de estas instalaciones.

Si bien a nivel legal no entran en la clasificación y normativa de "Salas blancas" o Salas limpias establecidas para las salas de la industria farmacéutica para la preparación de productos estériles ni tiene mucho sentido que se incluyan conceptualmente en este tipo de sala, en los años 90 y coincidiendo con la existencia de brotes o pequeñas epidemias de infecciones por hongos asociados a cirugía se publicaron una serie de guías o recomendaciones de sociedades científicas y comunidades autónomas estableciendo tanto las áreas que deberían ser controladas como la periodicidad, los métodos de muestreo y análisis y los umbrales de bioseguridad.

Hoy, en la mayoría de los hospitales, siguiendo las recomendaciones de las sociedades científicas, se realizan controles mensuales de quirófanos de cirugía cardíaca, trasplantes, traumatología, neurocirugía, oftalmología y habitaciones de neutropénicos en hematología y oncología así como en algunas salas de quemados.

El método recomendado es el muestreo volumétrico con aparatos de cabezal perforado e impacto en placas de cultivo realizándose en líneas generales 4 muestras de 1000 litros cada una por sala, dos de ellas con medio de cultivo específico para bacterias y dos con medio selectivo para hongos. Las placas son procesadas por el servicio de Microbiología y tras una incubación mínima de 5 días, se recuentan las unidades formadoras de colonias por cada 1.000 litros, identificándose ciertos tipos de hongos más patógenos en caso de recuentos positivos.

Cada control mensual de una sala requiere más de 50 minutos de la persona que realiza la medición, igual tiempo de inactividad de la sala, un consumo de tiempo de laboratorio de microbiología nada despreciable y un retraso en la obtención del resultado (la lectura definitiva se realiza a los 5 días de incubación).

La mayoría de los cultivos son afortunadamente negativos pero el tiempo y recursos destinados a obtener estos resultados es, sobre todo en hospitales grandes, muy considerable y su disminución sin disminuir las garantías del control, supondría un ahorro de recursos muy importante.

Recientemente (Enero 2012) se ha publicado una norma UNE 171340 "validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales" que responde mejor a

las características de estas salas hospitalarias que las normas ISO y normas UNE existentes hasta el momento. Con algunas matizaciones y más precisión, esta nueva norma se corresponde bastante con las recomendaciones de sociedades científicas y documentos de consenso existentes antes de su publicación en lo que hace a los controles microbiológicos del aire y controles de parámetros físicos de las instalaciones de ventilación.

2. HIPÓTESIS

La mayoría de los controles rutinarios de las salas especiales que requieren vigilancia ambiental, podrían realizarse con un sistema instantáneo de medición fotométrica de partículas en el rango de tamaño de hongos y bacterias, la realización del cultivo con la correspondiente identificación microbiológica, que actualmente se hace para todas las mediciones, solo se realizaría cuando la medición fotométrica instantánea no correspondiese al nivel de "negativo" con una seguridad del 99 %.

El ahorro esperado en tiempo de control y por lo tanto en personal, tiempo de utilización de las salas y tiempo y recursos de laboratorio de microbiología sería muy importante.

3. OBJETIVOS

El presente estudio trata de responder a la pregunta de si sería posible sustituir el método de medición del cultivo microbiológico por un recuento de partículas fotométrico, mucho más rápido y menos costoso para los controles de bioseguridad rutinarios reservando el cultivo solo para aquellos recuentos que puedan corresponder a cultivos positivos.

Se pretende pues:

- Validar un sistema de recuento fotométrico de partículas en aire para los controles de bioseguridad ambiental utilizando como "Gold estándar" el método de muestreo con impacto en placa y cultivo.
- Establecer la correlación cuantitativa entre ambos métodos de medición.
- Establecer los valores de corte más adecuados para estimar distintos niveles de contaminación microbiana.
- Estimar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo para estos valores.
- Estimar la concordancia de las mediciones aplicando los puntos de corte establecidos.

4. METODOLOGÍA

Se realizaron entre Marzo y Diciembre de 2011 un total 144 muestras pareadas de aire (72 con cada método) 44 pares en 8 quirófanos con sistemas de ventilación de

diseño convencional y 3 niveles de filtración y 28 pares en 9 habitaciones sin instalaciones especiales de ventilación, estas últimas para observar el comportamiento de la medición en situación parecida al de un posible fallo de los sistemas de filtrado y sobrepresión en las salas .

4.1. Aparatos de medida

- A)** DusktTrak aerosol Monitor Modelo 8520
Flujo de aire 1,7 l /min
Filtro de tamaño de partículas 0,1 a 10 μm
Intervalo de mediciones: 1 cada segundo
- B)** MAS-100 Merck. Utiliza el método de impacto de los microorganismos sobre la placa de Petri con medio de cultivo
Flujo de aire 100 litros/minuto

4.2. Metodología de las mediciones

Las mediciones se realizaron simultáneamente con los aparatos ubicados en el centro de la sala.

Con el MAS 100 se impactaron 2 placas con medio de cultivo Poly Vitex Chocolat para bacterias y 2 con Sabouraud + Cloranphenicol + Gentamicina para hongos cada una con 1000 litros de aire. Las unidades de medida fueron el recuento de UFC de bacterias, de hongos y microorganismos totales/1.000 litros después de 5 días de incubación.

Con el contador de partículas se obtuvieron las mediciones correspondientes a 10 minutos de funcionamiento, una medición cada segundo. Las unidades fueron mg/m^3 . Aunque por cada sala se obtuvieron la media, el mínimo y el máximo de cada medición, en todos los análisis se utiliza la determinación máxima, al tratarse del valor más conservador.

4.3. Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de los datos, las variables continuas se muestran como media, desviación típica mediana, media geométrica, mínimo y máximo y las categóricas como frecuencias y porcentajes. Para determinar la normalidad de las variables continuas se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Posteriormente se dividió en 4 subgrupos el número total de colonias en placa (Colonias =0, $0 < \text{colonias} < 10$, $10 \leq \text{colonias} < 100$, $\text{colonias} \geq 100$). Para determinar si existían diferencias significativas entre los 4 subgrupos y las mediciones de contador de partículas se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Para medir el grado de asociación entre las determinaciones del contador de partículas y el número de colonias se calculó el coeficiente de correlación de Spearman.

Finalmente se realizó el cálculo de los puntos de corte óptimos mediante Curvas ROC (Receiver Operating Characteristic) para discriminar los 3 niveles de contaminación: (Colonias=0, $\text{Colonias} \leq 10$, $\text{Colonias} \leq 100$). La determinación de la concordancia entre ambas pruebas se estimó mediante el índice Kappa.

El Nivel de confianza establecido en todos los análisis y para los intervalos fue del 99%.

5. RESULTADOS

De las 144 mediciones realizadas, se observó que las determinaciones en los quirófanos mostraron poca variabilidad, siendo siempre las medianas de los hongos y bacterias igual a 0. Como era de esperar las mediciones en las habitaciones de ambiente no controlado siempre fueron superiores y su variabilidad también fue superior.

Tabla 1. Análisis descriptivo de las mediciones globales y por tipo de sala (quirófano y Habitación). UFC BACT: Unidades formadoras de colonias de bacterias / mil L de aire. UFC HONGOS: Unidades formadoras de colonias de hongos / mil L de aire. TOTAL. UFC: Unidades formadoras de colonias de bacterias y hongos / mil L de aire. PARTÍCULAS: valor máximo del medidor de partículas mg/m^3 .

GLOBAL	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Media geométrica	Desv. típ.
UFC BACT	60,4580	3,0000	0,0000	439,0000	0,0000	99,2967
UFC HONGOS	0,8470	0,0000	0,0000	8,0000	0,0000	1,6755
TOTAL. UFC	61,3060	3,0000	0,0000	439,0000	0,0000	100,0370
PARTÍCULAS	0,0877	0,0223	0,0000	1,0180	0,0000	0,1549
QUIRÓFANOS						
UFC BACT	1,3410	0,0000	0,0000	6,0000	0,0000	1,7110
UFC HONGOS	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
TOTAL. UFC	1,3410	0,0000	0,0000	6,0000	0,0000	1,7110
PARTÍCULAS	0,0162	0,0075	0,0000	0,1350	0,0000	0,0277
HABITACIONES						
UFC BACT	153,3570	128,0000	29,0000	439,0000	118,8850	106,1973
UFC HONGOS	2,1790	2,0000	0,0000	8,0000	0,0000	2,0915
TOTAL. UFC	155,5360	129,5000	30,0000	439,0000	212,3490	106,0337
PARTÍCULAS	0,2002	0,1380	0,0380	1,0180	0,1438	0,2011

Aunque por cada sala se obtuvieron mediciones cada segundo en todos los análisis se utilizó la determinación máxima al tratarse del valor más conservador. Además se comprobó que la determinación máxima del contador de partículas era al mismo tiempo el valor con mayor correlación (0,779 $P < 0.001$). En la figura 1 se describe la matriz de correlación entre las dos medidas.

Además de la elevada correlación entre ambas medidas, se encontró que las mediciones del contador de partículas aumentan significativamente a medida que aumentan las colonias, incluso cuando éstas son segmentadas en 4 subgrupos, según el recuento de microorganismos (Colonias = 0, $0 < \text{colonias} < 10$, $10 \leq \text{colonias} < 100$, colonias ≥ 100) (tabla 2 y figura 2).

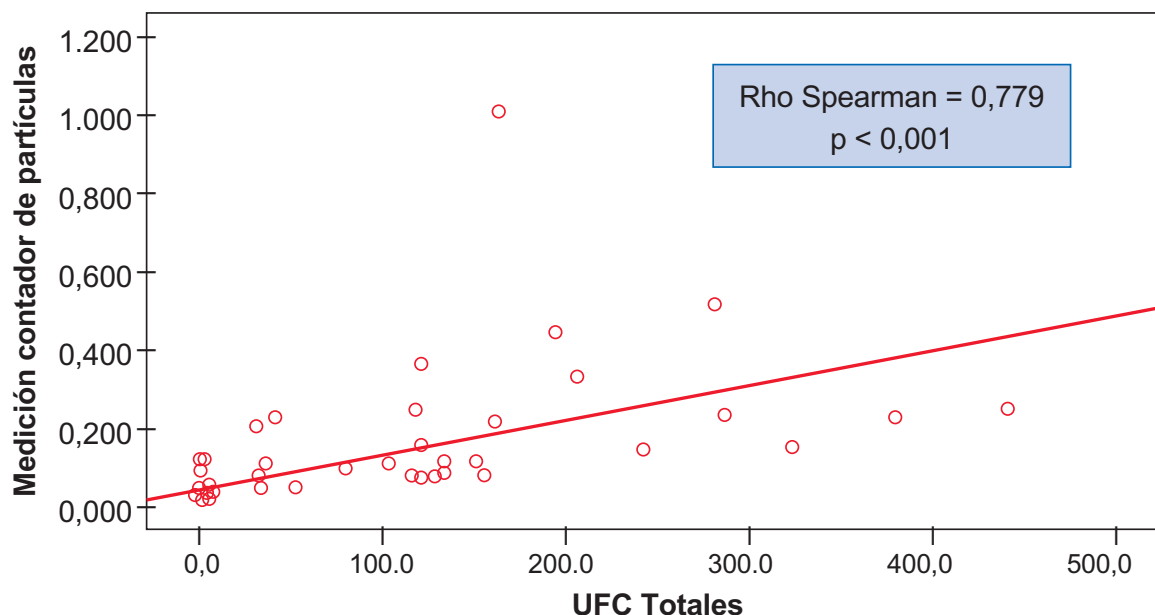


Figura 1. Gráfico de dispersión entre los valores del medidor de partículas y la UFC totales.

Tabla 2. Análisis descriptivo de las mediciones según niveles de contaminación UFC estratificado (Colonias =0, $0 < \text{colonias} < 10$, $10 \leq \text{colonias} < 100$, colonias ≥ 100). p* Prueba de Kruskal-Wallis.

CULTIVOS (UFC) p* < 0,001	N	Mediana	Media	Desviación típica	Intervalo de confianza para la media al 99%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Colonias =0	24	0,0040	0,0151	0,0310	0	0,0329	0,0000	0,1350
$0 < \text{colonias} < 10$	20	0,0110	0,0175	0,0238	0,0022	0,0328	0,0000	0,1070
$10 \leq \text{colonias} < 100$	7	0,0830	0,1050	0,0719	0,0043	0,2057	0,0380	0,2150
colonias ≥ 100	21	0,1460	0,2319	0,2210	0,0947	0,3691	0,0650	1,0180

La determinación de los puntos de corte óptimos mediante curvas ROC para discriminar los tres niveles de contaminación microbiológica (= 0 frente a >0 , ≤ 10 frente a >10 y ≤ 100 frente a >100) fueron 0,015, 0,037 y 0,053 respectivamente (tabla 3 y figuras 3a, 3b, 3c).

Se observó que el área bajo la curva (AUC=0,97) y el índice de concordancia (Kappa=0,88), así como la Sensibilidad y Especificidad era mayor para el subgrupo que discrimina valores ≤ 10 frente a >10 , es decir para el punto de corte 0,037 mg/m³, según este resultado, el método de

medición de partículas podría usarse con bastante seguridad para salas que requieran estándares de bioseguridad ambiental en este rango de UFC.

A pesar de la baja especificidad para el punto de corte 0,015 que discrimina colonias =0 frente a mayores de 0, lo que plantea ciertas reservas para su uso en salas donde el criterio de UFC sea estrictamente 0, cabe destacar que ninguno de 13 falsos negativos obtenidos en nuestras mediciones, superó las 6 UFC de bacterias por mil litros y los hongos fueron siempre negativos.

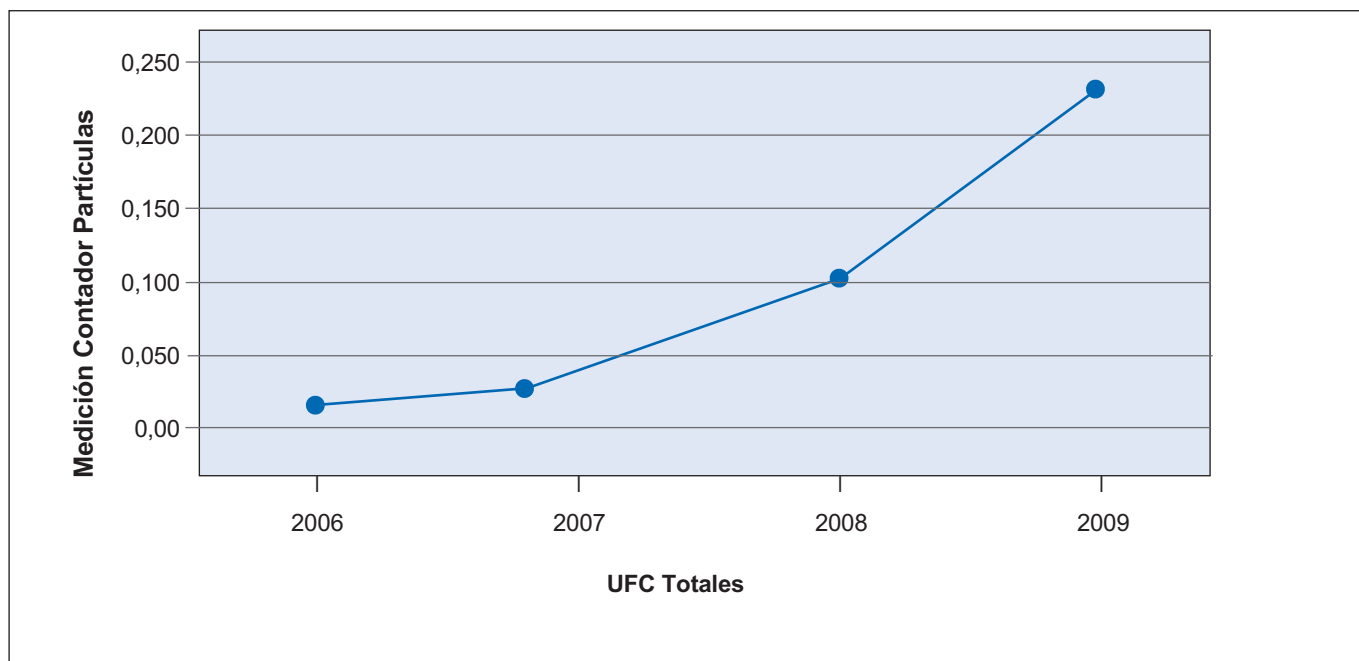


Figura 2 a. Medición de partículas según el nivel de recuento de microorganismos en los cultivos (gráfico de los valores medios).

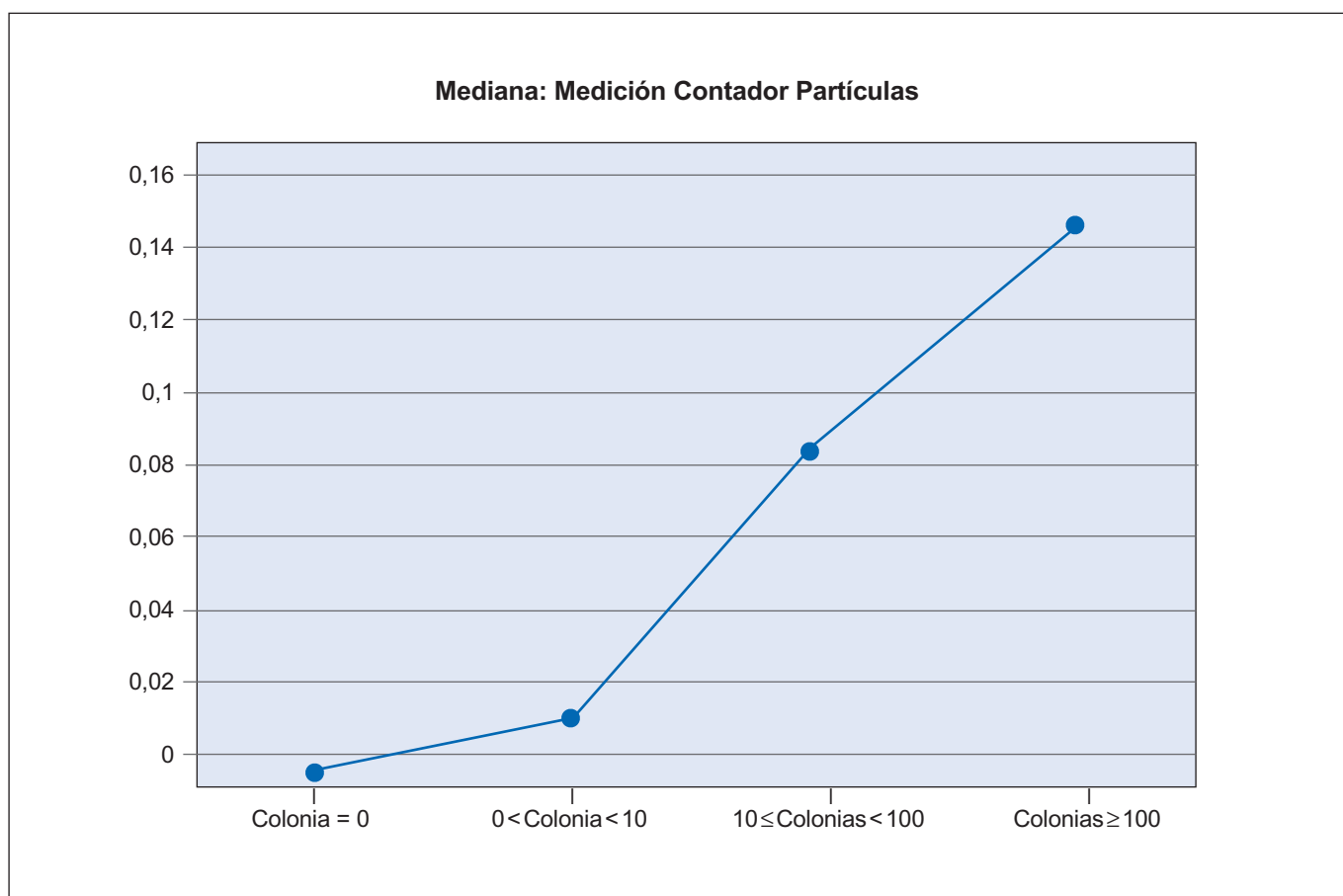


Figura 2 b. Medición de partículas según el nivel de recuento de microorganismos en los cultivos (gráfico de las medianas de los valores)

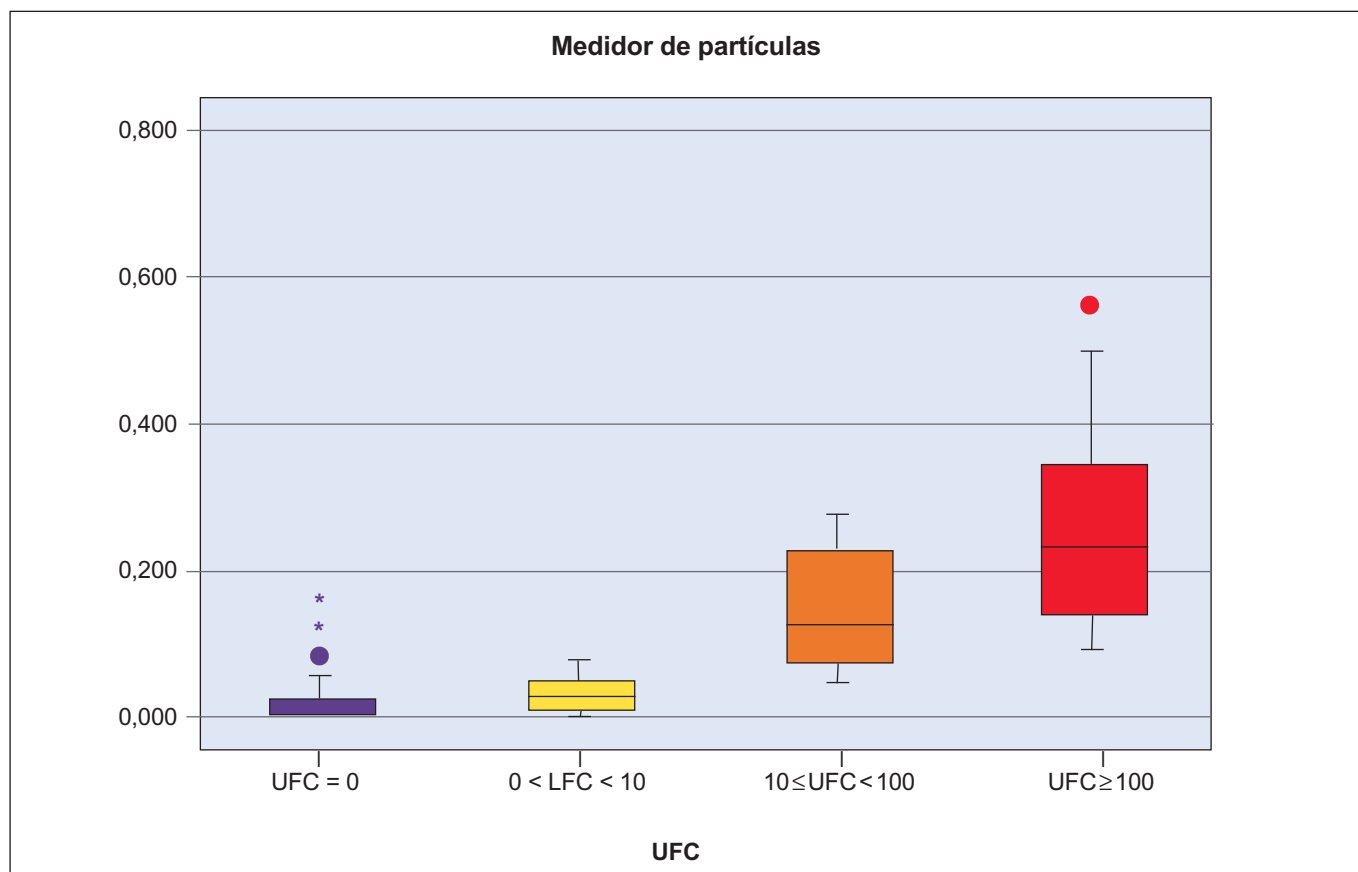


Figura 2 c. Medición de partículas según el nivel de recuento de microorganismos en los cultivos (gráfico de cajas).

Tabla 3. Determinación de los puntos de corte óptimos mediante Curvas ROC, según los valores del medidor de partículas correspondientes a los distintos niveles de contaminación microbiológica ((Colonias =0 frente a >0, Colonias ≤ 10 frente a >10, ≤ 100 frente a >100). Sens=Sensibilidad; ESP=Especificidad; VPP=Valores Predictivos Positivo; VPN=Valores Predictivo Negativo. El índice Kappa fue calculado tras categorizar las 2 variables (UFC total/1000I y medidor de partículas).

CULTIVO UFC total /1000I	Punto corte mg/m ³	Se (IC99%)	Sp (IC99%)	VPP (%)	VPN (%)	KAPPA	P
Colonias = 0	0,015	95,8% (81,35-99,18)	25% (9,55-51,28)	71,88	75	0,51	<0,001
Colonias ≤ 10	0,037	100% (80,34-100)	90,91% (73,88-97,25)	87,50	100	0,88	<0,001
Colonias ≤ 100	0,053	100% (75,99-100)	84,31% (67,4-93,32)	72,41	100	0,75	<0,001

Discusión:

En nuestro estudio encontramos una buena correlación entre las medidas de las UFC y el medidor de partículas. La bibliografía es algo contradictoria en este aspecto, en el estudio de Landrin A.⁽⁹⁾ no se encuentra correlación para partículas pequeñas, mientras que George W.Stocks si la encuentra para partículas a partir de 10µm de tamaño⁽¹⁰⁾. La metodología utilizada en los distintos trabajos no es comparable.

A pesar de los buenos resultados obtenidos en este estudio, hay que ser prudente a la hora de sustituir una metodología por otra puesto que no todas las partículas contienen bacterias ni el recuento total de partículas nos da información cualitativa muchas veces necesaria. Esto tiene especial importancia, por ejemplo en quirófanos donde existe alto riesgo de infección por hongos oportunistas y por lo tanto hay que garantizar la ausencia de este tipo de microorganismo.

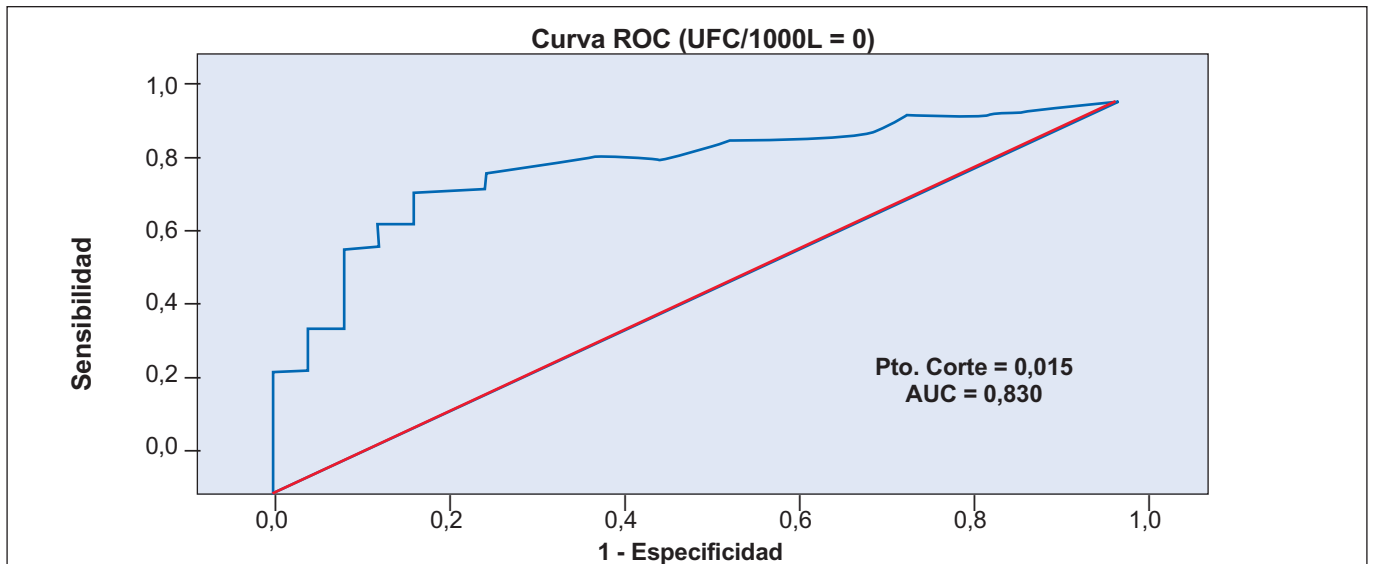


Figura 3a. Curva ROC para niveles de recuentos de UFC =0 frente a recuentos >0.

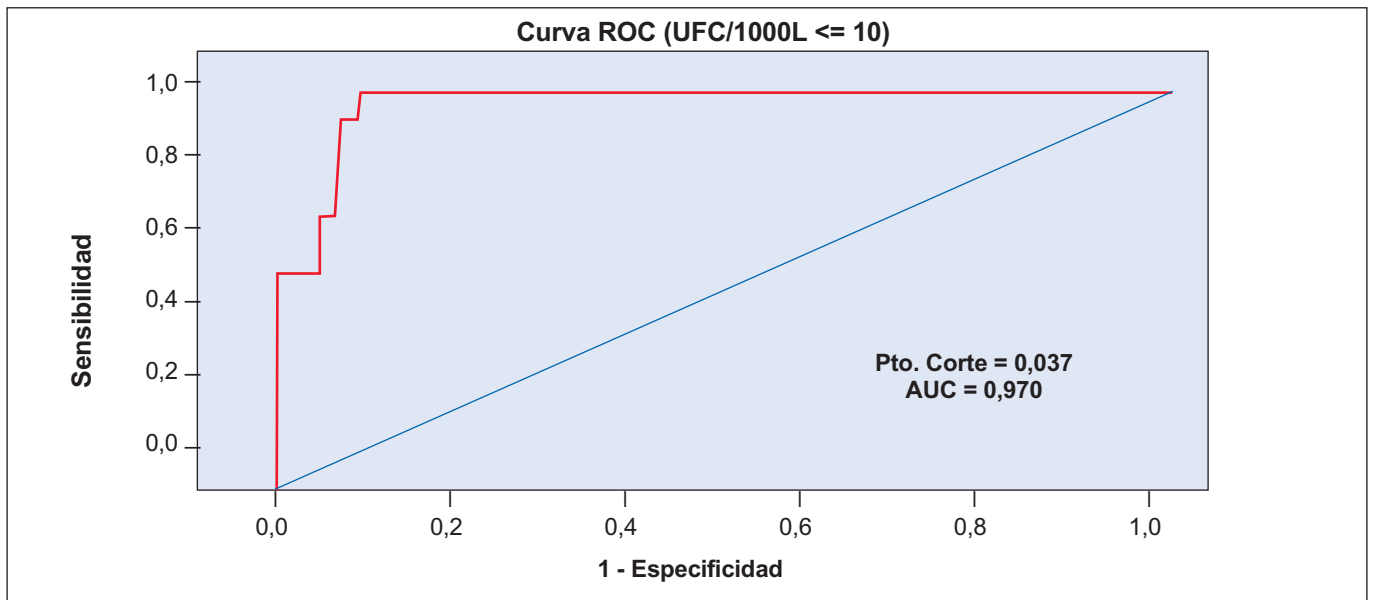


Figura 3b. Curva ROC para niveles de recuentos de UFC <=10 frente a mayores de 10.

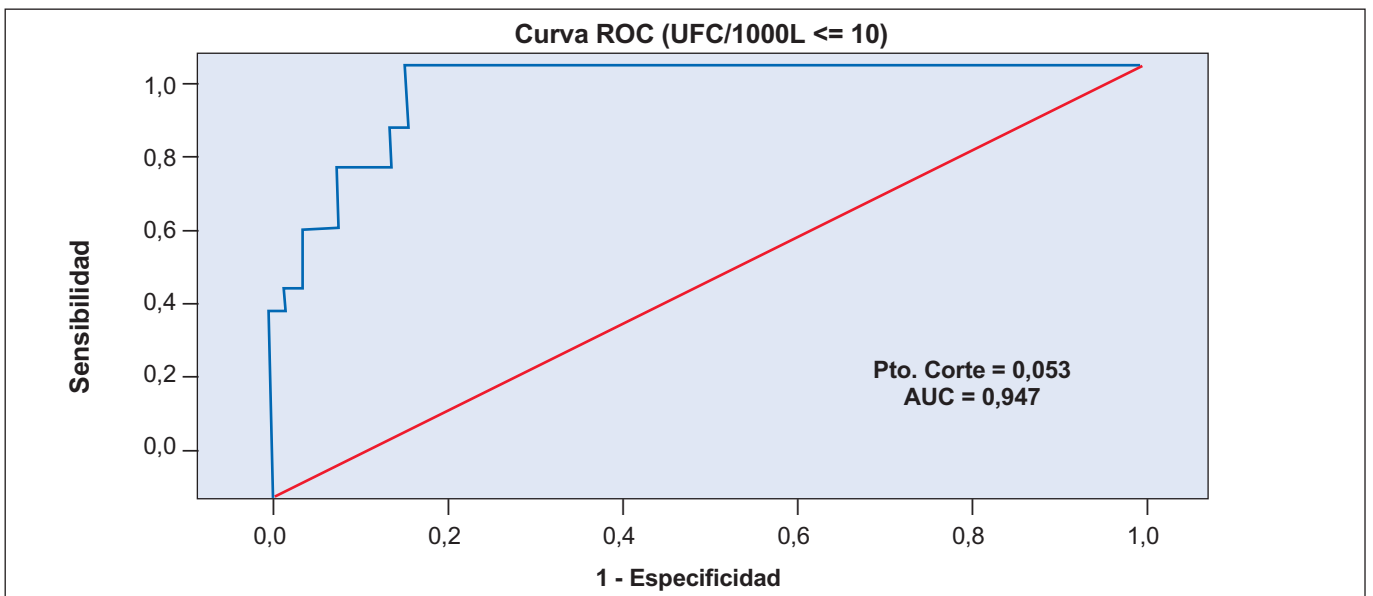


Figura 3 c. Curva ROC para niveles de recuentos de UFC menores o iguales 100 frente a mayores de 100.

De todas formas pensamos que podría ser una buena alternativa para algunos de los controles de bioseguridad en las salas de ambiente controlado en el hospital, así como en todos aquellos quirófanos en los que no se realice cirugía cardíaca y/o trasplantes. En estas salas los controles de bioseguridad mensuales podrían constar de:

- Verificación de los parámetros de funcionamiento de las instalaciones ventilación
- Inspección condiciones higiene
- Medición con contador de partículas

Los cultivos se realizarían de forma rutinaria una vez cada 6 meses, y siempre que el resultado de recuento de partículas superase los 0,015 mg/m³.

No recomendaríamos sustituir el cultivo por la medición de partículas en los controles no rutinarios (puesta en marcha de la instalación, realización de obras o después de averías en el sistema de ventilación,...) ni cuando se precise para la investigación epidemiológica de un brote de infección.

En nuestra muestra si aplicásemos el punto de corte de 0.015 hubiésemos realizado un 75% menos de las mediciones mediante cultivo con un ahorro importante de recursos dedicados a los controles rutinarios.

En cuanto a la exportación de los resultados a otros centros, consideramos prudente validar el sistema de medición previamente a su sustitución, ya que podrían existir variaciones asociadas a los sistema de ventilación, aparatos utilizados, metodología de las mediciones etc.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Iwen PC, Calvin Davis J, Reed EC, Winfield BA, Hinrichs AH. Airborne fungal spore monitoring in a protective environment during hospital construction and correlation with an outbreak of invasive aspergillosis. *Infect Control Hosp Epidemiol*; 15:303-6. 1994.
2. Gosden PE, MacGowan AP, Bannister GC. Importance of air quality and related factors in the prevention of infection in orthopaedic implant surgery. *Journal of Hospital Infection* 39:173-80. 1998.
3. INSALUD Ministerio de Sanidad y Consumo. Circular 6/90. Normas básicas para controlar quirófanos dedicados a patologías de alto riesgo.
4. Instituto Nacional de la Salud. Ministerio de Sanidad y Consumo. Guía práctica para el diseño y mantenimiento de la climatización en quirófanos. Madrid 1996.
5. Grupo de trabajo de la Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene y el INSALUD. Recomendaciones para la verificación de la bioseguridad ambiental respecto a hongos oportunistas. Madrid, 10 de febrero de 1999.
6. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. España. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo: Nota Técnica Prevención 299: Método para el recuento de bacterias y hongos en el aire. Año 1993
7. Norma UNE 171340 validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales. AENOR Enero 2012.
8. Lynne Sehulster, Raymond Y.W. Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) *MMWR Recommendations and Reports* June 6, 2003 / 52(RR10); 1-42
9. Landrin A, Bissery A., Kac G. Monitoring air sampling in operating theatres: can particle counting replace microbiological sampling? *Journal of Hospital Infection* 2005;61: 27-29.
10. Stocks GW et al Predicting bacterial populations bases on airborne particulates: A study performed in nonlaminar flow operating rooms during joint arthroplasty surgery. *American Journal of Infection Control* 2010 ;38,3:199-204.
11. Andersson AE, Bergh I, Karlsson J, Eriksson BI, Nilsson K. Traffic flow in the operating room: An explorative and descriptive study on air quality during orthopedic trauma implant surgery. *Am J Infect Control*. 2012 Jan 28.
12. C. Pasquarella, R. Albertini, P. Dall'aglio, E. Saccani, G.E. Sansebastiano, C. Signorelli Air microbial sampling: the state of the art *Ig Sanita Pubbl*, 64 (2008), pp. 79-120.

Conflicto de intereses

Los autores hemos recibido ayuda económica de FUNDACIÓN MAPFRE para la realización de este proyecto. No hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial o de FUNDACIÓN MAPFRE.