

Gonzalo Pascual Alvarez (gpascual@inia.es)

Jefe del Servicio de Seguridad Biológica; Centro de Investigación en Sanidad Animal, INIA.
Director del Centro de Referencia de la FAO en Gestión del Riesgo Biológico en el Laboratorio

Francisco Javier Llorente Hernanz (franciscojavier.llorente@valtria.com)

Jefe de Proyectos en Valtria Engineering, S.A.

Mario Hernández Ricote (mario.hernandez@camfil.com)

Responsable del Sector Hospitalario en Camfil

Filtración HEPA para patógenos transmisibles por aerosol (SARS-CoV-2) en áreas críticas hospitalarias

La limitación de la carga biológica en el aire en forma de bioaerosoles en áreas hospitalarias singulares donde se ubican y tratan pacientes infectocontagiosos portadores de agentes biológicos aerotransportables, resulta crítica. La interposición de filtros HEPA como barreras biológicas de alta eficacia es el mecanismo de barrera estático para su control. Para garantizar un estatus óptimo en el mantenimiento de la aerobioseguridad, resulta fundamental su cualificación o comisionamiento tanto de inicio de actividad como de forma periódica, así como la evidencia verificable de los procesos de descontaminación previos a su retirada.

Bioaerosoles

William Firth Wells, entre 1934 y 1955, estudiando la forma de transmisión del agente biológico patógeno aerotransportable, *mycobacterium tuberculosis*, productor de la tuberculosis, estableció de manera generalista, dos tamaños de gotas dentro del mecanismo físico de la transmisión. Dividió las emisiones de gotitas respiratorias en gotitas "grandes" y "pequeñas".

En referencia al tamaño menor, los denominados núcleos de Wells o núcleos de gotitas, permanecen suspendidos en el aire durante largos espacios de tiempo manteniendo su condición infecciosa.

Trabajos recientes han demostrado que las emisiones de complejos goticulares generados en actos relacionados con las vías respiratorias inferiores, medias y superiores y que son implícitos a la vida y propios del ser humano, están formadas por gotas mucosales con trayectorias de emisión de corto alcance de tipo semi-balístico de tipo aislado y por nubes de régimen turbulento multifase en alta humedad relativa y temperatura media, que agrupan gotas de diferentes tamaños. Son los denominados aerosoles.

Constituye un error establecer una frontera de 5 μm entre gotas y aerosoles.

En USA, Los Center for Disease Control and prevention, CDC, en 1990 confundieron el tamaño de un patógeno, que puede penetrar en los pulmones llegando a los alvéolos (5 μm) e infectar (US EPA, 2020), con el patógeno que cae al suelo en 1-2 m (100 μm). En 2007 reconocieron el error (CDC, 2007), no así la OMS que ha mantenido la confusión hasta el año 2020 (WHO, 2020a).

El término bioaerosol se utiliza para describir partículas entre los 0.001 μm – 100 μm . Ya que solo una pequeña fracción son esféricas, las partículas irregulares se presentan con un diámetro equivalente. Actualmente, se encuentra claramente determinado que las goticulas balísticas se encuentran en tamaños entre las 100 μm a 1000 μm (Chen et al., 2020) cayendo al suelo a distancias entre 1 y 2 metros (Wells, 1934; Xie et al., 2007), mientras que un aerosol presenta un tamaño inferior a las 100 μm (Wells, 1934; Prather, 2020b).

Física del bioaerosol

Según la ley de Stokes, los bioaerosoles compuestos por partículas de 100 μm , presentan una vida media en suspensión de segundos, mientras que partículas con diámetros aerodinámicos de 10 μm , 3-1 μm y 0,5 μm , su vida media se corresponde con minutos, horas y días, respectivamente.

Además, las condiciones físicas y termohigrométricas ambientales en el punto donde se genera un aerosol, van a permitir su mantenimiento en suspensión en mayor o menor medida, evitando su rápida desecación.

Un parámetro adicional que profundiza en la potencia de las infecciones aerotransmitidas, se centra en las condiciones de viabilidad del virus en la atmósfera.

En 2011 y 2012, Yang et al., concluyen que la viabilidad del virus en un aerosol como medio de transporte se ve potenciado por el tanto por ciento de humedad relativa presente. Taylor and Tasi en 2018 concluyeron que humedades relativas inferiores al 40% posibilitan un incremento de la facilidad de supervivencia y por lo tanto de transmisibilidad por tres razones fundamentales:

- La desecación de las goticulas de gran tamaño.
- La resistencia a la desecación de determinados patógenos (Goffau et al. 2009; Stone et al. 2016) cuya supervivencia y viabilidad se incrementa en condiciones de baja humedad relativa.
- La debilitación de las barreras de las membranas mucosas y del sistema inmune (Kudo et al. 2019).

Sharfman et al., en 2016 y mediante fotografía de alta velocidad, demostraron procesos de fragmentación de distribución goticular en diferentes tamaños. Por otro lado, Asadi et al. (2019) descubrieron una alta variabilidad de individuos frente a la generación de número y tamaños de gotas al hablar.

En 2020, Anfinrud et al. (2020), verificaban esta situación y recientemente Bourouiba, centrándose en los factores de protección de las mascarillas autofiltrantes frente a SARS-COV-2, pudiendo alcanzar distancias de 7-8 m mediante un estornudo. Basado en estos principios, Morawska y Cao (2020) destacaron que partículas virales contenidas en estas nubes pueden mantenerse y trasladarse a distancias de hasta 10 metros desde la fuente de emisión.

Ventilación

En ambiente interior, el riesgo de infección es 20 veces mayor que al aire libre (Nishiura et al., 2020; Qian et al., 2020), por lo que la ventilación natural o forzada se convierte en un factor extraordinariamente importante para el control de la transmisión.

Pero de nuevo el tamaño de las gotas vehiculares de los patógenos aerotransmisibles es fundamental.

La ventilación por dilución y los diferenciales de presión atmosférica no interfieren de forma significativa en la transmisión aérea de las gotículas balísticas que caen con rapidez por gravedad y quedan retenidas en las superficies con mayor o menor afinidad. Pero sí es determinante en la propagación de los aerosoles, incluidas las gotículas de grandes dimensiones (100 µm) que reducen su tamaño en su proceso natural de desecación por evaporación, para convertirse en núcleos goticulares (Siegel et al. 2007).

Además, los sistemas de ventilación no eliminan la rápida caída de las gotículas grandes, pero crean flujos direccionales que permiten la movilización de los aerosoles.

Por otro lado es conocido dentro de los estudios para una correcta ventilación de interiores que el aire exhalado está normalmente más caliente que el aire ambiente, y se eleva (Chen et al., 2020). Esto ayuda a la dispersión de los aerosoles al aire libre.

En interiores la dispersión está limitada por el techo, y eventualmente ese aire vuelve a bajar al mezclarse el aire en el local. En consecuencia, no es posible explicar la gran diferencia en contagio entre ambientes interiores y al aire libre si la transmisión estuviera dominada por gotículas balísticas.

En interiores se observa un aumento de la probabilidad de infección de COVID-19 en espacios cerrados con poca ventilación (CDC, 2020a; WHO; 2020a). La ventilación tiene un gran impacto en reducir el nivel general de aerosoles en un espacio cerrado.

El peso específico de un sistema de ventilación forzada que favorecerá o dificultará la posibilidad aerotransmisibilidad y por lo tanto de infección, dependerá de los factores biológicos y físicos referenciados y de factores técnicos, como los de equipo, posición de sistema de ventilación en el espacio a ventilar, de la potencia que presenta, de la distribución del aerosol liberado, de la presurización positiva o subatmosférica diferencial de la sala (CDC 2005) y de la ventilación de captura de la fuente, entre otros.

Filtración HEPA

La presencia o no de filtración HEPA central o localizada asociada al sistema de ventilación, resulta ser pieza clave en el control del aire para espacios cerrados que presentan biopeligro.



Cajas de filtración HEPA H14 CAMFIL y montaje de VALTRIA, aire de extracción con agentes biológicos del Grupo de Riesgo 3 y 4. Imagen G. Pascual CSIC-INIA-CISA.

Descontaminación de caja y filtro

Para aquellas Instalaciones biocontenidas donde los filtros HEPA se encuentren colmatados y contaminados o posiblemente contaminados con agentes biológicos patógenos viables, con carácter previo a la retirada de un filtro y a pesar de que la instalación o caja de filtración esté dotada de un sistema de “cambio seguro” o sistema bag-in / bag-out, es recomendable la descontaminación previa del filtro y su monitorización microbiológica de forma que se garantice seguridad frente al riesgo biológico para técnicos, usuarios, instalación y en su caso, medioambiente. Esta necesidad, está recogida en diferentes normas o regulaciones internacionales actuales (Guía de aplicación INSST 2015 del RD664/87).

Cualificación microbiológica de la descontaminación

Toda descontaminación biológica, exige una cualificación microbiológica verificadora. Esta no es una práctica muy habitual en los sistema de filtración de alta eficacia colocados en áreas biocontenidas, o bien se realizan por los usuarios de forma incorrecta.

Las empresas que ofrecen sistemas de descontaminación de cajas de filtración por inyección de agentes biodescontaminantes, en régimen cerrado o abierto, desarrollan los ciclos de descontaminación con filtros limpios.

Esta condición constituye un error ya que no se repite en situación real de operación.

Cuando un filtro debe ser descontaminado es que se encuentra colmatado y debe ser sustituido. Las pérdidas de carga que demuestran los filtros HEPA o ULPA, cuando se procede al desarrollo de los ciclos con filtro, se corresponden con un status de limpio y difieren enormemente de las encontradas con filtros colmatados, por lo que los ciclos desarrollados y en consecuencia el comportamiento del agente descontaminante, no será igual. Por este motivo, siempre se debe verificar el proceso de descontaminación de forma microbiológica con el fin de garantizar la bioseguridad.

El modelo diseñado por el Servicio de Seguridad Biológica del CISA y ejecutado por Camfil, para cajas de filtración de espacios biocontenidos, permite la introduc-

ción segura de esporas en siembras estándar de mercado de *Geobacillus stearothermophilus* en poblaciones de 106 o superiores, posicionadas en diferentes puntos de forma que exista garantía de exposición y representatividad de los procesos de descontaminación.

Procedimiento de testeo físico. Ensayo de integridad

Asegurar la eficacia de un filtro o sistema de filtros HEPA, tanto de entrada como de salida de aire, en dependencia de si la instalación es conceptualizada como estéril o libre de patógenos como biocontenida, constituye una prioridad para el mantenimiento del concepto de sala o espacio.

Conviene resaltar que este test físico permite la verificación de la eficacia del filtro ante un determinado tamaño de partículas y no de la eficiencia del sistema. Previamente, debería comprobarse la pérdida de velocidad de aire circulante en filtro o pérdida de carga del filtro. El test obliga a la inyección de un aerosol de base aceitosa o aerosol atmosférico, polidisperso, con partículas de tamaño medio comprendido entre las 0,1 y 5 micras, y generado artificialmente aguas arriba (up-stream) del conjunto de filtración y a una monitorización de paso de partículas aguas abajo (down-stream).

Se debe garantizar un ajuste del 100% del aerosol necesario, previo a la medición aguas arriba del filtro a testar, que garantice suficiente concentración (entre 10 mg/m³ y 100 mg/m³), y el reparto homogéneo del aerosol sobre la superficie del filtro. Se debe observar, que concentraciones inferiores a 20 mg/m³, pueden reducir la sensibilidad para la detección de fugas, y concentraciones mayores de 80 mg/m³ dar lugar a una colmatación excesiva del filtro si los tiempos de ensayo se dilatan en el tiempo o los ensayos se repiten en muchas ocasiones acortando la vida útil del filtro.

De no existir la posibilidad de ajuste del 100% de aerosol inyectado, previo al contaje o monitorización, o no disponer de un elemento o útil alojado en la propia caja, los ensayos se basarán en la generación de una concentración suficientemente significativa de aerosol aguas arriba.

En el caso de ensayos sobre cajas de filtración de alojamiento múltiple de filtros HEPA (3 a 12 filtros) se deberían repetir las mediciones de la concentración de aerosol

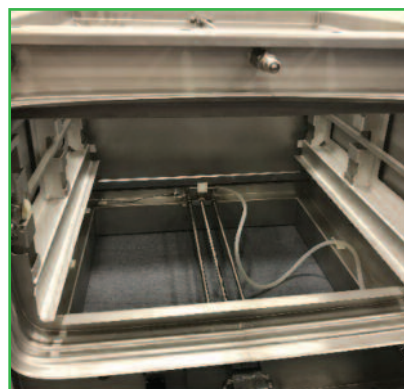
aguas arriba a intervalos de tiempo razonables entre el barrido de las fugas y después del mismo, para confirmar la estabilidad de la concentración del aerosol de ensayo.

Los ensayos se deben realizar previo a la puesta en marcha de la instalación, anualmente o en periodos más restrictivos según se determine por grado de riesgo u horas de operación, y cada vez que se proceda a la sustitución del elemento filtrante. Existen normalizados (UNE-EN ISO 14644-3:3 2006) dos procedimientos indicados para filtros montados en techos, pared o en equipos, y un procedimiento para filtros montados en conductos o unidades de tratamiento de aire (UTAs).

En todos los casos los equipos a utilizar serán fotómetros o contadores de partículas (DPC). Resaltar que para la fotometría, se crea una concentración de aerosol de 100 a 1.000 veces más elevada sobre un filtro que con el uso del contador de partículas. Los sistemas que incorporan filtros con penetraciones mpps (acrónimo en inglés para tamaño de partículas más penetrantes) inferiores a 0,000005%; son los que comúnmente son testados mediante el método de fotometría.

El uso del DPC, se utiliza en todo tipo de salas limpias o contenidas y con todo tipo de sistemas de tratamiento de aire. Están indicadas cuando la realidad física de la instalación o del sistema de filtración existente permite acceder directamente a la cara limpia del filtro donde está alojado, por lo que son muy precisos en filtros terminales de salas limpias y en "housing" provistos de compuerta técnica o sistemas de rastreo manuales y/o automáticos.

Los contadores de partículas son adecuados cuando se generan tamaños de



Caja de filtración HEPA H14 CAMFIL monitorización automática de partículas.



Contaje de partículas sobre filtro HEPA H14 CAMFIL, ajuste en caja terminal en impulsión. Box para SARS-CoV-2. CISA.

diámetro medio de partículas entre 0,1 y 5 µm, disponiendo de canales de medición de entre 0,1 y 0,5 micras. El barrido se realiza a una distancia aproximada de 3 cm de la superficie del filtro, en el perímetro y en el sellado entre el marco del filtro y su estructura soporte incluyendo sus juntas.

Como criterio de aceptación, se adoptará que cualquier lectura superior a 0,01% de la concentración generada aguas arriba para filtros H12, H13 y H14, supondrá una fuga no admisible. Se compara con la concentración aguas arriba para obtener la eficacia global o la penetración.

Aguas abajo se mide la concentración del aerosol penetrante al menos en un punto por célula de filtración y en distintos puntos igualmente espaciados en un mismo plano, dentro del conducto y a una distancia de aproximadamente 3 cm de la pared del conducto y entre 30 cm y 100 cm del filtro.

Bibliografía

1. Jimenez, J.L. (2020). COVID-19 Data Dives: Why Arguments Against SARS-CoV-2 Aerosol Transmission Don't Hold Water. <https://www.medscape.com/viewarticle/93487>.
2. Morawska, L. y Milton, D. (2020). Clin. Infect. Dis. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa939>.
3. Stetzenbach, L., 'Introducción a la aerobiología'. En: Hurst CJ (Ed.), 'Manual de microbiología ambiental'. ASM Press, Washington, 1997, págs. 619-628.
4. UNE-EN 1822-1:2020. Filtros absolutos (EPA, HEPA y ULPA).
5. Vélez Pereira, M. A.; Camargo Caicedo, Y. Comportamiento aerodinámico y viabilidad de las partículas biológicas. 2008.
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings (actualizada julio 2019).