

Identificación de bacterias y hongos en el aire de Neiva, Colombia

Identification of bacteria and fungi in the air of Neiva, Colombia

Carlos A. Méndez-Puentes¹, Juan G. Camacho-Suárez¹ y
Sonia Echeverry-Hernández²

1 Secretaría de Educación Departamental del Huila. Neiva, Colombia. carlosalbertomendezpuentes@gmail.com; juan.guillermo_15@hotmail.com

2 Universidad Surcolombiana, Neiva, Colombia, sonia.echeverry@usco.edu.co

Recibido 06 Agosto 2013/Enviado para Modificación 16 Julio 2014/Aceptado 9 Julio 2015

RESUMEN

Objetivo Aislar e identificar microorganismos (bacterias y hongos) presentes en el aire de la zona urbana de la ciudad de Neiva en el periodo comprendido entre la época de sequía y la época de lluvias durante el año 2012

Materiales y Métodos Se emplearon dos métodos para la recolección de la muestra: sedimentación en placa y un bioimpactador M Air T de Millipore en los cuales se dispensaron los medios Agar tripticasa soya (ATS) para el crecimiento de bacterias y agar gentamicina-glucosa-extracto de levadura (GGY) para el crecimiento de hongos; como colorantes se emplearon la tinción de Gram y la tinción con azul de lactofenol. Cuando fue necesario se empleó KOH al 10 %.

Resultados El género *Aspergillus* spp. y los bacilos grampositivos fueron los microorganismos predominantes en las distintas zonas de muestreo, mientras que los géneros *Aureobasidium* sp. y bacilos gramnegativos presentaron frecuencia de aparición ocasional y rara, ya que no son considerados microorganismos propios del aire.

Conclusiones La carga microbiana fue mayor en la época de sequía con respecto a la época de lluvias, presentándose más crecimiento bacteriano que fúngico en las dos temporadas del año. Con el uso del bioimpactador se observó mayor crecimiento tanto de bacterias como de hongos en comparación con el método de sedimentación en placa.

Palabras Clave: Bacterias, hongos, sedimentación, calidad del aire (*fuentes: DeCS, BIREME*).

ABSTRACT

Objective To isolate and identify microorganisms (bacteria and fungi) present in the air in the city of Neiva between the dry and rainy seasons of 2012.

Materials and Methods Two methods were used for sample collection: sedimentation plates and the bio-impactor Millipore M Air T in which the following

culture media were dispensed: agar tripticase soy (ATS) for bacteria growth, and agar gentamicin-glucose-yeast extract for fungi growth. The dyes employed included Gram stain and lactophenol blue stain. When necessary 10 % KOH was also used.

Results According to the frequencies of occurrence, *Aspergillus* spp. and Gram-positive bacilli were the predominant microorganisms in the different sampling areas. The genus *Aureobasidium* sp. and Gram-negative bacilli showed occasional, and rare occurrence frequency since they are not considered to be air-born microorganisms.

Conclusions The microbial load was higher in the dry season than in the rainy season, appearing more fungal bacterial growth in both seasons of the year. With the use of the Bio-impactor, increased growth of both bacteria and fungi could be observed as compared to the sedimentation plate method.

Key Words: Bacteria, fungi, sedimentation, air quality (source: *MeSH, NLM*).

El aire no posee microorganismos propios, pero se conoce que éstos son capaces de crear estructuras especializadas que les ha permitido resistir y sobrevivir en este medio. Son capaces de dispersarse en ambientes exteriores e interiores gracias a las corrientes de aire, las cuales se encargan de recoger los microorganismos presentes en otros ambientes naturales como el suelo, el agua, las plantas y la microbiota del ser humano. Además, algunas actividades industriales, comerciales, sociales y de movilidad vial han contribuido a la producción de desechos biológicos, físicos y químicos, emitiendo material particulado los cuales ayudan al camuflaje de los microorganismos y a la dispersión de éstos.

Se han realizado investigaciones que han demostrado la presencia de microorganismos bacterianos y fúngicos en el aire los cuales pueden causar patologías en plantas, en animales y en el ser humano; tal es el caso de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* sp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* sp., entre otros. Según lo anterior, se han reportado enfermedades como asma, bronquitis, pulmonías, pneumonías que afectan especialmente las vías respiratorias y otras patologías como infecciones cutáneas. En las plantas, se han reportado microorganismos que producen toxinas, las cuales generan efectos biológicos y patológicos en los diferentes cultivos. Algunos microorganismos son capaces de corroer monumentos y edificios, además de provocar el deterioro de las fachadas, estructuras y archivos.

Por tal motivo, el objetivo de esta investigación fue aislar e identificar mediante dos métodos distintos microorganismos como bacterias y hongos presentes en el aire de la ciudad de Neiva, teniendo en cuenta factores

ambientales como la temperatura y la humedad relativa, relacionando los morfotipos identificados con sus propiedades de patogenicidad o inocuidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios microbiológicos del aire se realizaron en 6 zonas estratégicas de la ciudad de Neiva:

Zona Industrial Norte (ZIN): Altos índices de contaminación por empresas agroindustriales, industriales y recolectora de basuras.

Universidad Surcolombiana (USCO): Gran confluencia de personas, a sus alrededores los barrios de Cándido, Camilo Torres, Santa Inés y la salida de Neiva hacia el norte del país.

Zona industrial Sur (ZIS): Altos índices de contaminación por empresas agroindustriales, de bebidas y automotoras, por la comercialización de productos desde la Central de Abastos, la presencia de estaciones de gasolina y por el cementerio Jardines del Paraíso.

Centro de la ciudad: Gran confluencia de personas, comercialización y presencia de edificaciones.

Oriente: Zona natural con intervención humana.

Río Magdalena: Atractivo turístico de la ciudad con ambientes naturales.

Recolección de muestras:

El muestreo se realizó en dos épocas del año 2012: el primero, en el mes de junio el cual correspondió a la época de sequía y el segundo en el mes de noviembre que correspondió a la época de lluvias; se emplearon dos métodos para la recolección de muestras: sedimentación en placa, en el cual se utilizaron cajas de Petri con los medios de cultivo ATS para recuento de bacterias y agar GGY para recuento de mohos y levaduras. Se colocaron un total de 6 placas por punto de muestreo (3 por cada medio de cultivo a evaluar) y se dejaron expuestas al ambiente durante 15 minutos para el agar Trypticase soya y 40 minutos para el agar GGY. Para el segundo método, se utilizó el equipo bioimpactador M Air T de Millipore, el cual contenía los cassettes en los que se dispensaron los medios de cultivo ATS y agar GGY; los muestreos se realizaron en los mismos puntos empleados para el método de sedimentación en placa, (en total 6 cassettes, 3 por cada medio de cultivo a evaluar); todas las muestras se trasladaron al laboratorio de Microbiología e Inmunología de la Universidad Surcolombiana, dejándolas en la incubadora a una temperatura de 37°C durante 48 horas

para el crecimiento de bacterias y a 28 C durante 5 días para el crecimiento de mohos y levaduras.

Recuento de microorganismos

El recuento de los microorganismos expresado en unidades formadoras de colonias (UFC) se realizó empleando un contador de colonias y el resultado se expresó haciendo uso del método de recuento estándar estimado. Los morfotipos más representativos se aislaron en los medios ATS y agar GGY. Este procedimiento se realizó para cada uno de los métodos y en cada una de las épocas del año.

Descripción de microorganismos bacterianos y fúngicos

En las bacterias se realizó la descripción de la morfología de las colonias teniendo en cuenta la pigmentación, forma, elevación, borde y tamaño; mediante la tinción de Gram se describió la morfología celular teniendo en cuenta la forma y disposición clasificándolos como grampositivos o gramnegativos. Para determinar el género o especie de algunos morfotipos se realizaron pruebas bioquímicas como catalasa, coagulasa, fermentación de lactosa, prueba de oxidasa y fermentación de azúcares en agar TSI.

Las colonias fúngicas se describieron teniendo en cuenta las características culturales: pigmentación, presencia de hifas aéreas, zonación o plegamientos, tamaño y textura. Para la descripción de la morfología celular se utilizó el método de la impronta con cinta transparente y como colorante básico el azul de lactofenol; en algunos casos, se empleó KOH al 10%. A partir de la observación de estructuras típicas como hifas, métulas, fiálides, conidióforos y disposición de las conidias se determinó el género o especie del morfotipo aislado. Para las levaduras, se realizó la prueba de tubo germinal con el fin de determinar la presencia o no de *Cándida* sp.

Los datos obtenidos se analizaron con el programa IBM Statistic 20 para Anova de un factor, con un nivel de significancia del 5 %=0,05 con el fin de comparar las variables del estudio: tipo de microorganismo según el método, la época y la zona de muestreo.

RESULTADOS

De acuerdo con la Tabla 1, la temperatura y la humedad relativa fueron factores ambientales determinantes para el crecimiento de los micro-

organismos en el aire, especialmente para las poblaciones bacterianas reportándose mayor número de UFC en la época de sequía.

En las zonas ZIN, USCO y ZIS se reportó el mayor crecimiento microbiano mientras que en las zonas Oriente y Río Magdalena se presentó menor proliferación de microorganismos.

Tabla 1. Valores promedio de la carga microbiana en el aire

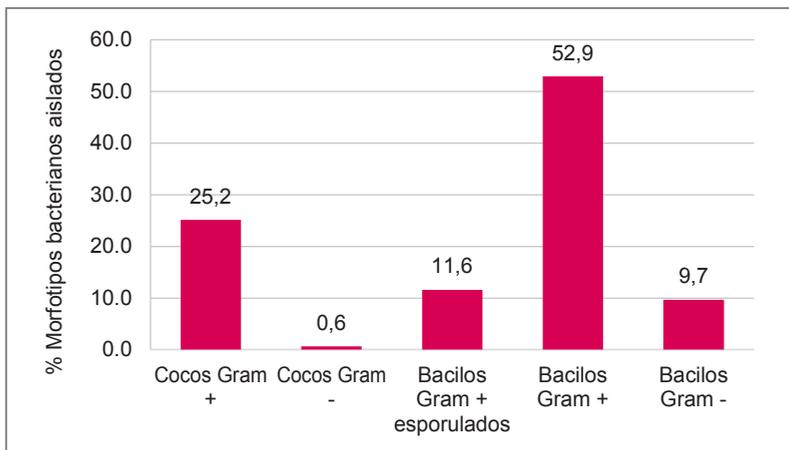
Tipo de microorganismo	Época de sequía		Humedad Relativa %	Época de lluvias		Humedad Relativa %
	UFC	Temperatura °C		UFC	Temperatura °C	
Bacterias	3 530	31.2*	54.8*	2 213	30.0*	66.5*
Hongos	1 181			751		
Total	4 711			2 964		

* Valores promedio de la temperatura y humedad relativa registrados por el aeropuerto Benito Salas de Neiva

Tal como lo muestra la Figura 1 en las dos épocas del año y empleando los dos métodos de muestreo, los bacilos grampositivos no esporulados presentaron la mayor frecuencia de aparición, respecto a los otros microorganismos aislados. Los cocos grampositivos presentaron un porcentaje de aparición considerable, los cuales se identificaron como *Staphylococcus catalasa* y *coagulasa* positivo.

También se reportó la presencia de bacilos grampositivos esporulados y de bacilos gramnegativos no fermentadores de lactosa, poco comunes en el aire.

Figura 1. Porcentaje de frecuencia de morfotipos bacterianos



La Tabla 2 muestra la frecuencia de aparición de los microorganismos bacterianos teniendo en cuenta la clasificación de Yadav y Madelin, observándose que los bacilos grampositivos no esporulados son de frecuencia muy común en la ZIN y ZIS, los bacilos grampositivos esporulados se presentan de forma ocasional en ZIN y rara en las demás zonas mientras que los bacilos gramnegativos son de aparición rara en todas las zonas y los cocos grampositivos son frecuentes en la ZIN y ZIS.

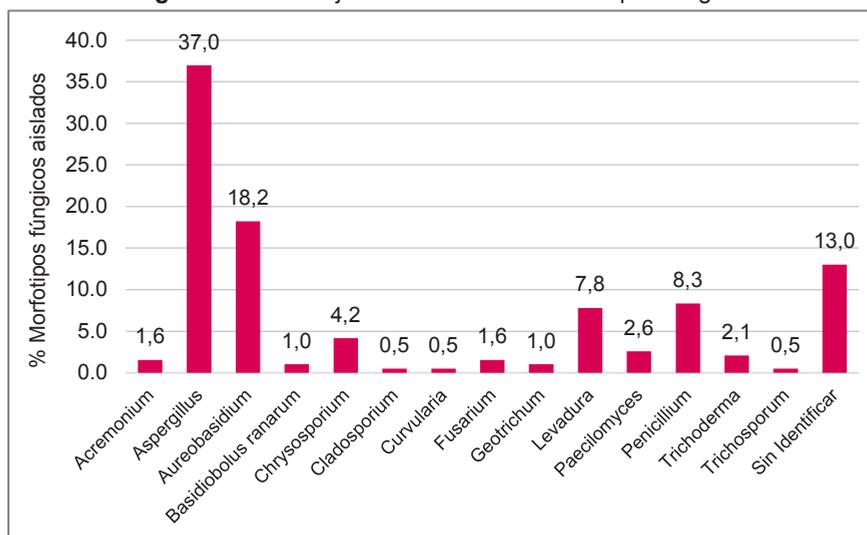
Tabla 2. Porcentaje de aparición de los microorganismos bacterianos aislados, según clasificación de Yadav y Madelin

Tipo de microorganismo	ZIN			USCO			ZIS			Centro de la ciudad			Oriente			Río Magdalena		
	N	%	*	N	%	*	N	%	*	N	%	*	N	%	*	N	%	*
Bacilos Grampositivos	22	100	MC	15	68	C	21	95	MC	9	41	F	12	55	F	8	36	O
Bacilos esporulados	5	23	O	4	18	R	2	9,1	R	3	14	R	2	9,1	R	2	9,1	R
Bacilos Gramnegativos	4	18	R	1	4,5	R	1	4,5	R	4	18	R	2	9,1	R	1	4,5	R
Cocos Grampositivos	12	55	F	6	27	O	9	41	F	6	27	O	2	9,1	R	4	18	R
Cocos Gramnegativos	0	0	NE	0	0	NE	1	4,5	R	0	0	NE	0	0	NE	0	0	NE
Total	43	-	-	26	-	-	34	-	-	22	-	-	18	-	-	15	-	-

*MC: Muy común; C: Común; F: Frecuente; O: Ocasional; R: Raro; NE: No encontrado

Según la Figura 2, se aislaron 15 morfotipos fúngicos siendo el género *Aspergillus* spp. el de mayor frecuencia de aparición y el de mayor número de especies reportadas: *A. clavatus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger* y *A. terricola*.

Figura 2. Porcentaje de frecuencia de morfotipos fúngicos



En la Tabla 3 se observa que se aislaron, en las seis zonas de muestreo y durante la temporada de lluvias, levaduras identificadas como *Cándida* sp., y *Saccharomyces* sp.; otras, aunque se aislaron en las seis zonas, no se lograron identificar.

Tabla 3. Clasificación Porcentaje de aparición para los microorganismos fúngicos aislados, según clasificación de Yadav y Madelin

Tipo de microorganismo	ZIN			USCO			ZIS			Centro de la ciudad			Oriente			Río Magdalena		
	N	%	*	N	%	*	N	%	*	N	%	*	N	%	*	N	%	*
Aspergillus	10	50	F	9	45	F	12	60	F	20	100	MC	13	65	C	8	40	O
Aureobasidium	8	40	O	2	10	R	8	40	O	10	50	R	6	30	O	2	10	R
Acremonium	1	5	R	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE	1	5	R
Basidiobolus	1	5	R	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE	1	5	R	0	-	NE
Chrysosporium	3	15	R	0	-	NE	1	5	R	0	-	NE	2	10	R	4	20	R
Cladosporium	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE	1	5	R	0	-	NE
Curvularia	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE	1	5	R	0	-	NE
Fusarium	0	-	NE	1	5	R	0	-	NE	0	-	NE	1	5	R	1	5	R
Geotrichum	1	5	R	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE	1	5	R
Candida	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE	1	5	R	0	-	NE	0	-	NE
Saccharomyces	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE	1	5	R	0	-	NE
Levadura	2	10	R	1	5	R	3	15	R	1	5	R	2	10	R	2	10	R
Paecilomyces	3	15	R	0	-	NE	0	-	NE	2	10	R	0	-	NE	1	5	R
Penicillium	2	10	R	0	-	NE	3	15	R	3	15	R	2	10	R	6	30	O
Trichoderma	0	-	NE	1	5	R	0	-	NE	0	-	NE	2	10	R	1	5	R
Trichosporum	0	-	NE	0	-	NE	1	5	R	0	-	NE	0	-	NE	0	-	NE
Sin identificar	4	20	R	3	15	R	1	5	R	5	25	O	5	25	O	4	20	R
Total	35	-	-	17	-	-	29	-	-	42	-	-	37	-	-	31	-	-

*MC: Muy común; C: Común; F: Frecuente; O: Ocasional; R: Raro; NE: No encontrado

Al analizar estadísticamente los datos, se comparó la época de muestreo con el tipo de microorganismo, indicando para el caso de bacterias un nivel de significancia de 0,085 y para hongos 0,265; para el caso de las zonas de muestreo en bacterias se presentó un nivel de significancia de 0,590 y para hongos de 0,090; en relación con el método de muestreo se determinó una significancia de 0,682 para los recuentos de hongos; esto quiere decir, que para este grupo de datos se acepta la hipótesis nula ya que los valores son mayores a 0,05. Mientras que, la significancia para bacterias teniendo en cuenta la época de muestreo es de 0,013; esto quiere decir, que se rechaza la hipótesis nula ya que el valor es menor a 0,05

DISCUSIÓN

Aunque los hongos, crecen mejor en condiciones ambientales donde la humedad es alta y la temperatura oscila cerca a los 28° C, estos microorganismos se desarrollaron mejor en la temporada seca posiblemente porque en la época de lluvias se produce el lavado del aire lo cual hace

que los microorganismos que se encuentran suspendidos en él se depositen sobre la superficie terrestre dispersando muy pocos o ninguno de ellos (1).

El mayor crecimiento microbiano reportado en las zonas ZIN, USCO y ZIS se debió a que en estos lugares, dada la contaminación ambiental y ciertos factores biológicos, sociales, climáticos y geográficos, la carga microbiana es alta (2). En cambio, en las zonas Oriente y Río Magdalena se presentó menor proliferación de microorganismos debido a condiciones de menor contaminación ambiental.

Los bacilos grampositivos no esporulados aislados en esta investigación se relacionan con patologías como amigdalitis, faringitis, neumonía, abscesos inflamatorios, entre otras; respecto a las bacterias grampositivas éstas se han encontrado en la piel y en las mucosas de los organismos (3) que suelen ser transportadas por las actividades comunes del hombre y por el polvo que se encuentra suspendido en el suelo; estos microorganismos son arrastrados por corrientes de aire, siendo las bacterias grampositivas más resistentes que las gramnegativas ya que su pared celular es más gruesa (4).

La presencia en el aire de los bacilos grampositivos esporulados se debe al desarrollo de esporas que les confiere resistencia a las condiciones ambientales extremas y les permite sobrevivir más tiempo; estas bacterias provienen del suelo y de la descomposición de materia orgánica.

Los bacilos gramnegativos encontrados en el estudio se asocian a la irritación de la mucosa respiratoria, fiebre, escalofríos, malestar y dolor de cabeza. Como consecuencia de una exposición continua a este tipo de bacterias puede producirse bronquitis y asma (5).

Las especies del género *Aspergillus* spp. se aislaron con mayor frecuencia debido a que las esporas de estos microorganismos son livianas y esto permite que sean fácilmente transportadas por el aire. En estudios de la aeromicota en ambientes exteriores, se reportó que el género *Aspergillus* fue el de mayor frecuencia de aislamiento y el de mayor número de especies identificadas (6,7).

Hongos del género *Aspergillus* spp. pueden causar infección en el pulmón, en los senos paranasales y en muchos casos se asocian con broncopulmonías alérgicas, aspergilosis, queratitis y sinusitis alérgica. Por

otro lado, microorganismos hallados en este estudio como *Aureobasidium* sp. y *Penicillium* sp. se les relaciona con producción de toxinas perjudiciales para el hombre y los alimentos e incluso se encuentran asociadas a infecciones invasoras en pacientes inmunocomprometidos. *Cladosporium* sp. se asocia como agente de asma y esporosis e incluso algunas de sus especies actúan como oportunistas y son capaces de intervenir en ciertos procesos micóticos pulmonares, atacar la piel, producir cromoblastomycosis y lesiones neurotrópicas. Por último, *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp. pueden tener diversos efectos biológicos y/o patológicos, tanto en plantas como en cereales, causando infecciones en humanos y animales.

No es común encontrar en el aire los géneros *Cándida* sp. y *Saccharomyces* sp. ya que no sobreviven durante mucho tiempo en superficies secas y su supervivencia es mayor cuando hay humedad; por ello, no se han encontrado reportados en los estudios sobre microbiología del aire (6-8). Sin embargo, en esta investigación se identificó la especie *Basidiobolus ranarum* que suele producir micosis subcutánea crónica y ha sido reportada en investigaciones de la aeromicrobiota. Los géneros fúngicos aislados y la mayoría de las cepas bacterianas identificadas pueden provocar afecciones a la salud humana (9).

Enfermedades como neumonía, bronquitis, aspergilosis, asma, infecciones pulmonares pueden ser transmitidas por microorganismos identificados en esta investigación como bacilos gramnegativos, *Aspergillus* spp., *Acremonium* sp., *Paecilomyces* sp., *Chrysosporium* sp., *Cladosporium* sp., entre otros; mientras que especies como *Staphylococcus* spp., *Basidiobolus ranarum* y géneros fúngicos como *Trichoderma* sp., *Trichosporum* sp. y *Aureobasidium* sp., producen abscesos, forúnculos, queratitis e infecciones cutáneas en el cabello y uñas.

El análisis estadístico indicó que en el caso de los hongos no hay diferencia entre las variables de estudio: zona, época y método de muestreo; mientras que para las bacterias existen diferencias significativas entre los recuentos en las dos épocas de muestreo ♦

Agradecimientos: Los autores agradecen a la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad Surcolombiana, que financió este proyecto en la modalidad de semillero de investigación; a la señora María Fabiola Gómez auxiliar del laboratorio de Microbiología y a la Facultad de Salud de la Universidad Surcolombiana que facilitó el espacio físico para el estudio de las muestras.

REFERENCIAS

1. De La Rosa M, Ullán C, Mosso M. El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio Medioambiental*. 2002; 5:375-402.
2. Villafañe L, Castro R, Castillo D, Pinilla M. Determinación de la carga fúngica anemófila en seis sectores de la ciudad de Cartagena de Indias. *Revista Ciencia y Salud Virtual*. (2009). 1 (1).
3. Zhu H, Phelan P, Duan T, Raupp G, Che F. Experimental study of indoor and outdoor airborne bacterial concentrations in Tempe. *Aerobiologia*. 2003; 19:201-211.
4. Potts M. Desiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiological Reviews*. 1994; 58 (4):755-805.
5. Yang C. Endotoxins. Aerotech P & K. Aerotech Laboratorios, Inc. and P & K Microbiology Services, Inc.; 2003.
6. Esquivel P, Mangiaterra M, Giusiano G, Sosa M. Microhongos anemófilos en ambientes abiertos de dos ciudades del nordeste Argentino. *Boletín Micológico*. 2003; 18:21-28.
7. Borrego S, Pons V, Perdomo I. La contaminación microbiana del aire en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba. *Revista CENIC*. 2008; 39(1):63-69.
8. Borrego S, García M. Comportamiento de la concentración microbiana aérea en la Fototeca del Archivo Nacional de Cuba. *Revista CENIC*. 2011; 42(2):61-67.
9. Borrego S, Perdomo I, De la Paz J, Gómez S, Guiamet P. Relevamiento microbiológico del aire y de materiales almacenados en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, Argentina y en el Archivo Nacional de la República de Cuba. *Revista del Museo de la Plata*. 2011; 18(119):1-18.