

Universidad San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

**Caracterización e identificación de la carga bacteriana
suspendida en aire de 3 laboratorios microbiológicos localizados
en diferentes zonas del departamento de Guatemala:
-LAMIR- Laboratorio Microbiológico de Referencia, Ciudad
universitaria zona 12, -LAFYM- Laboratorio de Análisis Físicoquímico
y Microbiológico, zona 1 y -AMSA- Autoridad en el Manejo Sustentable
del Lago de Amatitlán, Barcenas Villanueva**

Cristina Elizabeth Mancilla Pérez

Química Bióloga

Guatemala, Noviembre 2011

Índice

Contenido	Páginas
I. Ámbito de la investigación.....	2
II. Resumen.....	3
III. Antecedentes.....	4
A. Ubicación del estudio.....	4
B. Microorganismos de la atmósfera.....	5
C. Número y distribución	6
D. Taxonomía bacteriana	7
E. Aplicaciones de la biología molecular	8
F. Supervivencia bacteriana.....	9
G. Géneros bacterianos predominantes.....	10
H. Enfermedades relacionadas con la contaminación bacteriana aérea.....	11
I. Métodos de muestreo.....	12
J. Factores que influyen en la contaminación del aire por microorganismos	13
IV. Justificación.....	16
V. Objetivos.....	18
VI. Hipótesis.....	19
VII. Materiales y métodos.....	20
VIII. Resultados	23
A. Identificación bacteriana	23
B. Recuento de bacterias Gram positivo y Gram negativo...	25
C. Género predominante	29
IX. Discusión de resultados	31
X. Conclusiones.....	35
XI. Recomendaciones.....	36
XII. Referencias.....	37
XIII. Anexos.....	41

I. Ámbito de la investigación

- A. Título del proyecto macro:** Impacto de la calidad microbiológica del aire externo en el ambiente interior y en la salud del personal de cuatro laboratorios de instituciones públicas de la ciudad de Guatemala, Barcenas y Villanueva.
- B. Coordinador del proyecto:** Dra. Karin Larissa Herrera Aguilar
- C. Título del proyecto de investigación:** Caracterización e identificación de la carga bacteriana suspendida en aire de 3 laboratorios microbiológicos localizados en diferentes zonas del departamento de Guatemala: -LAMIR- Laboratorio Microbiológico de Referencia, Ciudad universitaria zona 12, -LAFYM- Laboratorio de Análisis Físicoquímico y Microbiológico, zona 1 y -AMSA- Autoridad en el Manejo Sustentable del Lago de Amatitlán, Barcenas Villanueva.
- D. Duración del proyecto:** Documentación teórica según corresponda y muestreo de 6 meses.
- E. Unidad académica responsable:** Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Departamento de Microbiología

II. Resumen

Se identificó y caracterizó la carga bacteriana suspendida en el aire del ambiente interior y exterior de 3 laboratorios microbiológicos – Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR), Laboratorio de Análisis Fisicoquímico y Microbiológico (LAFYM) y Autoridad en el Manejo Sustentable del Lago de Amatitlán (AMSA)—. Cada laboratorio presentó características demográficas, geográficas y ambientales distintas.

Los resultados se obtuvieron al realizar un muestreo mensual durante seis meses utilizando el método volumétrico por impactación. La identificación bacteriana se realizó por medio del uso de medios de cultivo selectivos, tinción de Gram y pruebas bioquímicas de identificación bacteriana.

Se identificaron 13 géneros y 27 especies bacterianas clasificadas en 4 phyla. El género predominante fue *Staphylococcus* encontrando 10 especies del mismo, seguido por *Bacillus* que presentó 5 especies. Ambos géneros predominantes pertenecen a la clase *Bacilli* que representó más del 50% de las cepas identificadas.

El laboratorio con mayor diversidad de especies únicas fue el LAFYM, mientras el laboratorio de AMSA presentó la menor diversidad de especies identificadas. Las bacterias *Staphylococcus xylosus*, *Bacillus licheniformis* y *Pseudomonas stutzeri* fueron aisladas de los tres laboratorios estudiados, y se presentó un predominio general de las bacterias Gram positivo sobre las Gram negativo.

III. Antecedentes

A. Ubicación del estudio

Guatemala se divide en 22 departamentos, de los cuales su cabecera central es el departamento de Guatemala. Este se sitúa en la región I o región Metropolitana. Se divide en 17 municipios, de los que destaca la cabecera departamental "Ciudad de Guatemala" y el municipio de Villanueva ubicado en la latitud 14° 38' 29" y longitud 90° 30' 47", como se observa en el anexo 1.

Cuenta con una extensión territorial de 2,253 kilómetros cuadrados y una altitud de 1502m SNM. Su población es de 2.541.581 habitantes para el 2002 y su temperatura diaria se encuentra entre los 14° C a 27° C durante todo el año, siendo las temperaturas más bajas en los meses de Noviembre a Enero (1).

El Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR) se ubica en la cabecera del departamento de Guatemala dentro de la Ciudad Universitaria zona 12 (14° 35' 16.152", -90° 33' 8.2368"). Es un laboratorio perteneciente a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, que provee de servicio en el control microbiológico del agua a clientes externos y brinda sus instalaciones para el desarrollo de investigación. El personal de este laboratorio está compuesto por 2 personas estables y un aproximado de 7 estudiantes transitorios, ver anexo 2.

El Laboratorio de Análisis Fisicoquímico y Microbiológico (LAFYM) se encuentra ubicado dentro de la cabecera departamental, en el centro de la Ciudad de Guatemala zona 1 (15° 47' 0.4956" -90° 13' 50.7324"). Es un laboratorio escuela que brinda sus servicios a clientes externos. El personal fijo de esta institución es de 1 persona, 1 estudiante de pensum cerrado que rota cada 6 meses y un aproximado de 15 estudiantes de quinto año de la carrera Química Biológica de la Facultad de Ciencias

Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, ver anexo 3.

El laboratorio de la Autoridad en el Manejo Sustentable del Lago de Amatitlán (AMSA), se ubica en el municipio de Villanueva, Barcenas (37° 3' 45" -95° 40' 37.4448"). Es un laboratorio estatal creado según el decreto 64-96 con el fin de lograr la recuperación del lago. El personal del laboratorio está compuesto por aproximadamente 10 personas estables y 3 estudiantes transitorios, ver anexo 4.

B. Microorganismos de la atmósfera

La atmósfera no tiene una microbiota autóctona, pero es un medio para la dispersión de muchos tipos de microorganismos (esporas, bacterias, virus y hongos), procedentes de otros ambientes. Aunque la atmósfera es un ambiente hostil para los microorganismos, en la tropósfera inferior se encuentran un gran número de ellos y algunos han creado adaptaciones especializadas que favorecen su supervivencia y permanencia (2, 3).

Los microorganismos dispersados por el aire tienen una gran importancia biológica y económica: producen enfermedades en plantas, animales y humanos; causan alteración de alimentos y materiales orgánicos, y contribuyen al deterioro y corrosión de monumentos y metales (3).

Los microorganismos pueden ser transportados rápidamente, en forma de bioaerosoles, a través de grandes distancias con el movimiento del aire que representa el mejor camino de dispersión. El transporte se realiza sobre partículas de polvo, fragmentos de hojas secas, piel, fibras de la ropa, en gotas de agua o en gotas de saliva eliminadas al toser, estornudar o hablar (3). Un ejemplo de esto es la bacteria *Coxiella burnetii* que es capaz de transmitirse por el viento hasta 12 Km. Así, en 1996 se produjo una epidemia de fiebre Q entre los residentes de la localidad alemana de Rollshausen y ciudades vecinas, a través de la inhalación de

polvos y aerosoles contaminados, procedentes de las granjas cercanas de bovinos, ovejas y cabras (4). Se han reportado varias cepas bacterianas en el Caribe procedentes de las nubes de polvo del desierto africano, las cuales incluso pueden atravesar el océano para llegar a las costas centroamericanas (5).

C. Número y distribución de los microorganismos

El aire contiene en suspensión diferentes tipos de microorganismos, especialmente bacterias y hongos. La presencia de uno u otro tipo depende del origen, la dirección e intensidad de las corrientes de aire y de la supervivencia del microorganismo. Algunos microorganismos se encuentran en forma de células vegetativas, siendo las formas más frecuentes las esporas. Esto debido a que son metabólicamente menos activas y sobreviven mejor en la atmósfera porque soportan la desecación. Estas pueden ser producidas por hongos, algas, líquenes, algunos protozoos y bacterias (3).

El número de microorganismos de la atmósfera cambia según la altura (10-104 por m³), obteniéndose mayor cantidad junto al suelo, sobre todo en los dos metros inferiores, que constituyen el microclima del hombre.

En cuanto al número de microorganismos en los ambientes externos e internos, ya en 1860 Pouche reportó: «Los sitios abiertos y con árboles, como el cementerio de Mont Páranse y parques, tienen entre 6 y 7 veces menos microorganismos que las calles de París» (3), mostrando desde ya la diferencia de la carga microbiana en los ambientes internos. Según estimaciones de la Agencia de Protección Ambiental estadounidense (EPA), los niveles de contaminación en ambientes cerrados pueden llegar a ser de 10 a 100 veces más elevados que las concentraciones exteriores (6), lo cual aunado a las condiciones operativas no adecuadas de sistemas de ventilación y recirculación de aire, refrigeración o calefacción, hacen prever un problema potencial de la calidad del aire dentro de dichos espacios (7).

Existen ciudades grandes, como Suecia, donde se reporta que la densidad bacteriana en la atmósfera urbana exterior se ve afectada por las zonas de intenso tráfico vehicular (8). El número de microorganismos del aire en las zonas pobladas depende de la actividad en esa zona, tanto industrial o agrícola, como de los seres vivos y la cantidad de polvo. El número de microorganismos es mayor en las zonas pobladas cerca de las costas. En las zonas desérticas no hay más que lo que aportan los vientos de las zonas habitables próximas. En las zonas con clima seco, el aire contiene numerosos microorganismos y el número desciende después de la lluvia debido a que ésta los arrastra por lavado del aire (2,3). Existe un aumento de bacterias esporuladoras en climas secos y calidos (14).

D. Taxonomía bacteriana

El objetivo de la Taxonomía bacteriana es dar un ordenamiento de las unidades taxonómicas básicas. Actualmente, especie bacteriana se refiere a un conjunto de poblaciones clonales que presentan un elevado grado de similitud fenotípica entre sí y que a su vez difieren de otros conjuntos de poblaciones clonales. Sin embargo, tradicionalmente el reino Monera se clasificaba durante el siglo XX hasta los años 1970s en dos grandes grupos o divisiones: bacterias y cianobacterias (cianofíceas o algas azul-verdosas). A su vez las bacterias se subclasificaban según su morfología, tal como lo hacían las clasificaciones del siglo XIX (10). Un avance importante en clasificación procariota significaron las del Manual de Bergey de 1978 y 1984 atribuidas sobre todo a R.G.E. Murray, las cuales se basaron principalmente en la estructura de pared y membranas celulares, procurando además evitar nombres en latín en donde se sabía a conciencia que era imposible determinar las verdaderas relaciones filogenéticas; o la clasificación de Margulis y Schwartz de 1982 basada en metabolismo y bioquímica bacteriana. Pero la verdadera revolución vino del descubrimiento del análisis del ARN ribosomal 16S y 5S desarrollado por C. Woese, el cual fue el más grande avance en taxonomía procariota

desde el descubrimiento de la tinción de Gram en 1884 y permitió al fin integrar en forma real el análisis filogenético a la microbiología (11).

La taxonomía clásica está basada en la caracterización: morfológica, fisiológica y bioquímica de las bacterias. La caracterización completa del genotipo (es decir de su constitución genética) se refiere a la caracterización parcial del fenotipo (apariciencia) de las cepas, pero además el estudio de las propiedades estructurales, bioquímicas y fisiológicas para la caracterización de especies (12).

Entre los caracteres taxonómicos morfológicos: se encuentran las bacterias Gram positivo y las Gram negativo. Entre los caracteres bioquímicos y fisiológicos la respuesta de las bacterias a las pruebas de Oxidasa, Catalasa, y otras. Existen sistemas comerciales que permiten la rápida identificación de una bacteria en base a la capacidad de utilización de determinados sustratos y a la presencia de determinadas enzimas como el Sistema API.

E. Aplicaciones de la biología molecular a la identificación bacteriana

a.) Composición de bases del ADN: Determinado por la cantidad de G+C respecto del total de bases. El contenido GC o Porcentaje GC (contenido de guanina y citosina) es una característica del genoma de un organismo o de cualquier pedazo de ADN o ARN. G y C denotan guanina y citosina, respectivamente. Expresado generalmente como porcentaje, representa la cantidad de pares Guanina-Citosina en la molécula de ADN o genoma que está siendo investigado. La fracción restante de cualquier molécula de ADN contendrá bases A (adenina) y T (timina), de forma que el contenido GC da también el contenido AT (por ejemplo, un GC del 58% implica un contenido AT del 42%). Los pares GC en el ADN están conectados por tres enlaces de hidrógeno en vez de dos de los pares AT. Esto hace el enlace GC más fuerte y más resistente a la desnaturalización por efecto de la temperatura por lo que el contenido GC tiende así a ser mayor en los hipertermófilos (2).

El contenido GC se utiliza a veces para clasificar organismos en taxonomía. Por ejemplo, las Actinobacteria se caracterizan por ser “bacterias de GC alto”. En *Streptomyces coelicolor* el GC es del 72%, en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* del 38%, mientras que en el organismo modelo *Arabidopsis thaliana* es del 36% (2).

b.) Hibridación del ADN-ADN y ADN-ARN: Permite evaluar el grado de homología

genética entre bacterias

c.) Amplificación de sectores del ADN (por ejemplo PCR): Permite ver si existe o no homología entre sectores del genóforo bacteriano aumentando del número de copias de un determinado sector de ADN.

F. Supervivencia bacteriana

Como se mencionó anteriormente, las esporas son las formas de vida con mayor supervivencia y tienen varias propiedades que contribuyen a su capacidad para sobrevivir en la atmósfera, principalmente su metabolismo bajo, por lo que no requieren nutrientes externos ni agua para mantenerse durante largos períodos de tiempo. Además, poseen otras adaptaciones que aumentan su capacidad de sobrevivir en este ambiente. Algunas esporas tienen paredes gruesas que las protegen de la desecación y otras son pigmentadas, lo que las ayuda contra las radiaciones ultravioleta. Su escasa densidad les permite permanecer suspendidas en el aire sin sedimentar. Algunas son muy ligeras e incluso contienen vacuolas de gas y otras tienen formas aerodinámicas que les permite viajar por la atmósfera.

Además, las esporas se producen en número muy elevado y aunque muchas mueran en la atmósfera, el éxito de unas pocas asegura la supervivencia y dispersión de los microorganismos (13).

La supervivencia de las bacterias es variable, debido a su diversidad estructural y metabólica. En general, las bacterias Gram positivo son más resistentes que las Gram negativo, ya que su pared celular es más gruesa. Por ejemplo, en aire seco algunas especies de *Bacillus* y *Clostridium* son

capaces de sobrevivir más de 200 años, *Mycobacterium* un mes y *Salmonella* sólo diez minutos.

G. Géneros bacterianos predominantes

Miquel y Cambert (1901) afirman que la mayoría de bacterias suspendidas en aire son saprófitas y proceden del suelo, encontrando una gran variedad, siendo las más frecuentes las bacterias cromógenas, los bacilos esporulados y los cocos. Resultados semejantes obtuvieron Grace y Frankland (1887) en Londres y Dyar (1895) en Nueva York (3).

Posteriormente se demostró la presencia en el aire de varias bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Francisella tularensis*, las cuales pueden transmitir enfermedades infecciosas como la escarlatina, tuberculosis, tularemia, tos ferina y rubéola (3,14).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre las bacterias la más frecuente es el *Bacillus* con sus especies: *B. coagulans* y *B. licheniformis*. Esta última así como, *B. subtilis* y *B. cereus*, se consideran especies patógenas oportunistas, su dominancia se atribuye parcialmente a la tolerancia de sus esporas a la radiación de luz ultravioleta (UV). Además soportan la desecación y la elevada temperatura que puede suceder en el aire, lo que elimina bacterias no esporuladas, por lo que OMS reporta a la especie *Bacillus* como potencial agente para uso de armas biológicas en el ambiente (8,15, 16).

Entre los Gram positivo los más frecuentes son los bacilos pleomórficos (*Corynebacterium*) y los cocos (*Micrococcus* y *Staphylococcus*) (5, 8,16). También pueden encontrarse con menor frecuencia *Clostridium* y Actinomicetos (3). Entre los bacilos Gram negativo se han reportado *Flavobacterium* y *Alcaligenes*, aunque se encuentran en menor proporción que los Gram positivo y disminuyen con la altura (7). También se han

aislado: *Klebsiella* spp; *Pseudomonas* spp, *Enterobacter* spp, *Citrobacter* sp, y *Serratia* spp pero en casos poco frecuentes (3).

La frecuencia de bacterias Gram negativo es generalmente inferior a las Gram positivo (7); principalmente por que éstas son mas resistentes a la desecación por las características de su pared celular descritas anteriormente. Las más resistentes dentro de este grupo son las formadoras de esporas, sin embargo, éstas últimas no pasan fácilmente de una persona a otra (2).

Un estudio realizado en el interior de la Universidad de Madrid, reportó una frecuencia de 42.7% de *Staphylococcus*, 20.4% de *Corynebacterium* y 6.9% de *Bacillus*, así como un porcentaje menor de *Sphingomonas*, *Acinetobacter*, *Pantoea* y *Micrococcus* (16). Lo cual concuerda con los resultados reportados anteriormente.

La frecuencia de la familia Enterobacteriaceae es baja, es representada por *Proteus*, *Enterobacter* sp. y *E.coli* según reporta un estudio realizado en la Universidad de Monterrey. La ausencia de estas bacterias indicadoras de contaminación fecal, se debe a su sensibilidad a la luz ultravioleta, lo que reduce al mínimo su densidad (8).

I. Enfermedades relacionadas con la contaminación bacteriana aérea

Las bacterias que contaminan el aire pueden ocasionar algunas enfermedades respiratorias, entre ellas la más conocida y significativa es la tuberculosis pulmonar, transmitida por *M. tuberculosis*. La OMS reporta que esta enfermedad ocasiona de 2 a 3 millones de muertes al año en todo el mundo. En Guatemala la incidencia ha aumentado en los últimos años y se relaciona con nuevos casos de Síndrome de inmunodeficiencia humana (SIDA).

Los microorganismos patógenos de los pulmones, senos nasales y bronquiolos salen del huésped por la boca y la nariz. Al toser, estornudar y hablar se producen aerosoles o gotas finas que pueden contener estos

organismos. Es a través de estos aerosoles que se transmiten los patógenos que ocasionan las enfermedades. Las únicas partículas capaces de penetrar hasta el sistema respiratorio inferior son aquellas cuyo tamaño está entre 0.1 y 1.0 μm , intervalo que corresponde a las células bacterianas individuales. Así que las infecciones cuya puerta de entrada son los alvéolos o los bronquiolos son restrictivamente de transmisión aérea. Ejemplos de estas infecciones son: la tuberculosis pulmonar, enfermedad de los legionarios, bronquitis y otras formas neumónicas (2).

H. Métodos de muestreo

El aeroscopio fue inventado por Pouchet en 1860. Consistía en un tubo grueso cilíndrico unido por uno de sus extremos a una tubuladura por la cual se aspiraba el aire, y por el otro extremo se colocaba una lámina de vidrio recubierta de una sustancia viscosa como glicerina, que podía observarse al microscopio (3). En 1887, Frankland y Hart lo emplearon por primera vez usando la técnica de sedimentación por gravedad. Esta consiste en la sedimentación de microorganismos sobre cajas de Petri con medio de cultivo estéril abiertas en un determinado período de tiempo. Este método es sencillo y económico. Tiene la ventaja de identificar cultivos de microorganismos viables, pero su interpretación es difícil debido a su incapacidad de relacionar la carga bacteriana con el volumen de aire muestreado. La deposición varía con el tamaño y forma de los microorganismos, la velocidad y la turbulencia del aire. El método no es cualitativo ni cuantitativamente exactamente, detecta principalmente los microorganismos predominantes en el aire, no así los microorganismos más pequeños.

Otra técnica que es la más usada en la actualidad, es la de Impacto sobre Superficies Sólidas. En esta técnica, los microorganismos se separan de la corriente de aire utilizando la inercia para forzar su sedimentación sobre las superficies sólidas. El proceso de impacto depende de las propiedades de inercia de la partícula (tamaño, densidad y velocidad) y de

las propiedades físicas del aparato tales como las dimensiones de la boquilla y el recorrido del flujo de aire. Se han diseñado una gran variedad de aparatos que difieren en el número y tamaño de boquillas o impactores, y en el número de pasos o etapas por las que pasa el aire. En la mayoría de ellos, los microorganismos quedan retenidos sobre un medio de cultivo sólido contenido en cajas de Petri de distinto tamaño: 65 o 90 mm (bioMérieux), 100 mm (Andersen y Burkard) y 150 mm (Casella), en tiras de plástico (Biotest) y en placas de contacto de 55 ó 84 mm (SAS y Microflow). Después de la incubación, se realiza el recuento e identificación de los microorganismos.

Basados en estas técnicas, actualmente existen en el mercado aparatos fácilmente transportables que se alimentan con pilas para tomar muestras de campo, como el muestreador centrífugo *Reuter RCS Plus (Biotest)*, el *Air Ideal (bioMérieux)* o los sistemas *SAS* y *Microflow*. El flujo de aire varía en los distintos aparatos, desde 10 hasta 700 litros por minuto. En el proyecto de investigación se utilizará el biocolector ECO-MAS 100, el cual presenta una capacidad de absorción de 0-100 L/min. Este permite monitorear el aire con el método volumétrico por impactación de forma simple, ya que utiliza cajas de Petri de 90mm comúnmente utilizadas en el laboratorio (31).

J. Factores que influyen en la contaminación del aire por microorganismos:

Los microorganismos están influenciados por factores físicos que afectan su crecimiento y desarrollo. Los principales factores que intervienen son:

- **Humedad relativa:** es el factor más importante. Cuando la humedad relativa del aire decrece, disminuye el agua disponible para los microorganismos, lo que causa deshidratación y, por tanto, la inactivación de muchos de ellos. La desecación puede causar una pérdida de viabilidad en las capas más bajas de la atmósfera, especialmente durante el día. A mayores altitudes, las condiciones son más favorables por la evaporación y algunas esporas pueden

germinar en las nubes. La humedad relativa de la atmósfera varía de un 10-20 % en las regiones desérticas. El límite menor para el crecimiento de hongos es del 65 %. Las bacterias requieren una mayor humedad, las Gram negativo resisten peor la desecación que las positivas; esto se refleja en que existe poca evidencia de transmisión por el aire de bacterias Gram negativo, con la excepción de *Legionella*, mencionado anteriormente.

- **Temperatura:** está muy relacionada con la humedad relativa, por lo que es difícil separar los efectos que producen ambas, como se observa en el anexo 5. La temperatura en la tropósfera varía de 40°C cerca de la superficie, a -80° C en las capas altas, alcanzándose temperaturas de congelación entre 3-5 Km. La congelación no destruye los microorganismos, pero impide su multiplicación. Diversos estudios muestran que el incremento de la temperatura disminuye la viabilidad de los microorganismos.
- **Oxígeno:** se ha observado una correlación negativa entre la concentración de oxígeno y la viabilidad de los microorganismos, aumenta con la deshidratación y el tiempo de exposición. La causa de la inactivación podría ser los radicales libres de oxígeno.
- **Materia orgánica:** la atmósfera contiene muy poca concentración de materia orgánica, y en la mayoría de los casos, es insuficiente para permitir el crecimiento heterotrófico. El agua disponible es escasa por lo que, incluso el crecimiento de microorganismos autótrofos está limitado.
- **Radiaciones:** la inactivación que producen en los microorganismos depende de la longitud de onda e intensidad de la radiación. Las radiaciones de longitud de onda corta (rayos X y rayos γ) contienen más energía, son ionizantes y alteran o destruyen el ADN de los microorganismos. La humedad relativa, la concentración de oxígeno y la presencia de otros gases, influyen en el efecto que producen las radiaciones sobre los microorganismos. La forma de interacción es

poco conocida, pero la desecación y congelación pueden proteger a los organismos de las radiaciones. La exposición a radiaciones de corta longitud de onda, como la luz ultravioleta, es la principal causa de pérdida de viabilidad de los microorganismos que entran en la atmósfera. Las radiaciones ultravioletas aumentan con la altura, debido a una menor retención, lo que causa mutaciones y la muerte de los microorganismos. Algunos se protegen de los efectos letales de la radiación por los pigmentos que producen, el polvo, las gotas de agua o saliva y otros materiales parecidos debido al escaso poder de penetración de la luz ultravioleta en ellos.

- **Efecto del cambio climático:** se define como el cambio del tiempo atmosférico medio a largo plazo de una región específica. Involucra parámetros relevantes del estado de la atmósfera como: la temperatura, presión, humedad, nubosidad, precipitación (lluvia, nieve, granizo, escarcha, rocío), viento, corrientes marinas, frecuencia e intensidad de tormentas, frentes cálidos y fríos. Actualmente, el calentamiento global que sufre la atmósfera terrestre debido al efecto invernadero y al incremento del dióxido de carbono antropogénico, puede ocasionar a largo plazo ondas de calor, clima extremo y precipitaciones que pueden ser favorables a algunos tipos de cepas bacterianas, aumentando de esta forma los patrones de contaminación microbiana.
- **Otros factores:** diversos estudios mostraron que el aire atmosférico producía un mayor grado de inactivación que el aire inerte obtenido en el laboratorio. La causa podría ser las reacciones entre el ozono y las olefinas, debido a la combinación de los factores del aire abierto (contaminación, iones, humedad y fluctuaciones de presión) (3). Se ha reportado que la densidad poblacional, la elevación y topografía del área donde se realiza el análisis, también se relaciona al crecimiento bacteriano (9).

IV. Justificación

La contaminación bacteriana, tanto en espacios interiores como al aire libre, constituye un grave problema de salud ambiental que afecta a los países desarrollados y en desarrollo por igual. La OMS reporta en el atlas sobre la salud infantil que debido a la industrialización, el crecimiento de la población urbana, el cambio climático, la utilización cada vez mayor de productos químicos y la degradación del medio ambiente, se expone a los niños a riesgos que hace unas pocas generaciones ni siquiera se podían imaginar, siendo una de las amenazas más mortíferas la contaminación del aire en locales cerrados (19).

La calidad del aire en espacios cerrados o intradomiciliarios es uno de los factores más importantes en la calidad de vida de los individuos, puesto que pasamos del 80 a 90% de nuestro tiempo en espacios cerrados. Existen suficientes indicios que en áreas de oficinas, laboratorios, almacenaje y servicios generales, coexisten sustancias capaces de alterar las propiedades físico-químicas de la atmósfera y proveer condiciones adecuadas para el desarrollo y crecimiento de microorganismos que alteran las propiedades biológicas del aire. Esto puede originar efectos nocivos sobre la salud de las personas y sobre los materiales, dependiendo de la concentración y permanencia de estas sustancias en el ambiente (6).

Recientemente se publicó un censo sobre las bacterias del aire en el estado de Texas, siendo este el primer censo de su especie en la Unión Americana. Este indica que existen 1800 tipos distintos de bacterias que aún no han sido identificados (19). Cabe resaltar el hecho que las bacterias no respetan límites territoriales.

Debido a todos estos factores se refleja la importancia de establecer la calidad del aire así como la caracterización por género de la carga bacteriana en nuestros ambientes de trabajo, es decir los laboratorios microbiológicos. Este estudio contribuye con la identificación de los

géneros bacterianos predominantes y su relación con la ubicación de los laboratorios muestreados. Dando a conocer de esta forma información valiosa para tomar medidas de seguridad y prevención posibles (8,21).

V. Objetivos

A. Objetivo General

Caracterizar e identificar la carga bacteriana suspendida en el aire de tres laboratorios microbiológicos: Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR), Laboratorio de Análisis Físicoquímico y Microbiológico (LAFYM) y Autoridad en el Manejo Sustentable del Lago de Amatitlán (AMSA).

B. Objetivos específicos

- 1.** Realizar el monitoreo mensual del aire exterior e interior de los laboratorios: LAMIR, LAFYM y AMSA.
- 2.** Aislar, caracterizar e identificar los géneros bacterianos aislados.
- 3.** Identificar y cuantificar el predominio de bacterias Gram positivo y Gram negativo en el ambiente exterior e interior de cada laboratorio.
- 4.** Identificar el género bacteriano que se aísla en mayor proporción.

VI. Hipótesis

En el presente estudio de investigación no se presentará hipótesis, ya que es un estudio de tipo descriptivo.

VII. Materiales y métodos

A. Universo de trabajo

Bacterias de la atmósfera en el ambiente interior y exterior de cada laboratorio muestreado.

B. Muestra y diseño de muestreo:

Muestra por conveniencia consistente en un muestreo mensual en los horarios de mayor contaminación durante 6 meses en el ambiente interior y exterior de tres laboratorios microbiológicos del departamento de Guatemala. La hora de mayor contaminación se seleccionó en base a los resultados obtenidos en el proyecto FODECYT 002-08 (20).

C. Criterios de inclusión

Muestras con crecimiento bacteriano después de una incubación de 24hrs a 37° C.

D. Criterios de exclusión

Muestras con crecimiento fúngico que impidan el aislamiento bacteriano.

E. Criterios de eliminación

Muestras contaminadas durante el proceso de caracterización o identificadas como microorganismos no bacterianos.

F. Selección de los puntos de muestreo

Se realizó un estudio exploratorio y se ubicaron tres puntos de muestreo en el ambiente interior y tres puntos en el ambiente exterior de cada laboratorio con base a un diseño tipo triangular. Estos se seleccionaron en función del área y volumen ocupados por cada laboratorio, así como por la ubicación de las corrientes de aire (cambios en velocidad y dirección), actividades realizadas en los ambientes seleccionados y flujo del personal de laboratorio, (anexos 2, 3 y 4).

G. Diseño de estudio

Descriptivo

H. Método

Se utilizó el método volumétrico por impactación, con la ayuda de un biolector de ranura por impactación: El aeroscopio (marca Merck ®) (6,17).

I. Muestreo

Se utilizaron tres medios para la identificación bacteriana: McConkey, medio selectivo para bacterias Gram negativo; Manitol Sal, medio selectivo para la diferenciación de *Staphylococcus*; y Agar para el conteo en placa (PCA), medio enriquecido para bacterias mesófilas.

En cada punto seleccionado se tomó un volumen de 100 L/min utilizando el biolector de ranura y cada medio por triplicado (7,18). En total se utilizaron 27 cajas de medio en el ambiente interior y el mismo número en el ambiente exterior, dando un total de 54 cajas de medio durante los muestreos mensuales de cada laboratorio.

J. Análisis de las muestras

Las 54 cajas de agar de cada muestreo fueron transportadas al laboratorio inmediatamente e incubadas por 24hrs a 37°C. Al completarse el tiempo de incubación, se seleccionaron las muestras a analizar en base a los criterios de inclusión y exclusión antes descritos.

K. Aislamiento de las colonias bacterianas

Se aislaron en agar Tripticasa Soya las cepas bacterianas predominantes en cada caja de muestreo y con morfología distinta a cepas aisladas previamente. La identificación por género se realizó a partir de las colonias puras.

L. Caracterización bacteriana

Se realizó una tinción de Gram a cada cultivo puro para determinar su morfología bacteriana. A partir de estos resultados se cuantificó la presencia de bacterias Gram positivo y Gram negativo en cada laboratorio, y se observó el predominio de cepas según la tinción de Gram. Se procedió a realizar las pruebas bioquímicas correspondientes al tipo de bacteria aislada:

En las cepas identificadas como Gram negativo se realizó la prueba de oxidasa y batería (TSI, LIA, MIO, Citrato y urea). A partir de los resultados obtenidos se orientó la identificación de la cepa y se confirmó utilizando el sistema API 20E.

En las cepas identificadas como Gram positivo se realizó la prueba de catalasa y en base a los resultados se utilizó el sistema API correspondiente: *Staphylococcus* o *Streptococcus*.

Todos los procesos antes descritos se llevaron a cabo en campana de flujo laminar guardando todas las medidas de bioseguridad y controlando cualquier fuente de contaminación.

VIII. Resultados

A. Identificación bacteriana

Se identificó un total de 27 bacterias en los tres laboratorios estudiados, comprendidas en 13 géneros. La tabla 1 presenta la relación filogenética de los 13 géneros bacterianos aislados. Se observó la presencia de únicamente 4 phyla de los 22 reportados por la base de datos británica (35) para el reino Bacteria, de los cuales se identificó cepas pertenecientes únicamente a una clase de cada phyla. Tanto el phylum Firmicutes, Actinobacteria y Bacteroidetes presentan 4 Clases, mientras el phylum Proteobacteria presenta 5. Al contrario, en los Orden se observó que la Clase Firmicutes se divide únicamente en dos, de los cuales se presentó el Orden Bacillales, sobresaliendo al comprender 15 especies de las 27 identificadas: 10 especies de *Staphylococcus* y 5 de *Bacillus*. El resto de Clases presentó una escasa representación de los Orden y Familias que comprenden.

La tabla 1 especifica el Género y especie identificado en cada laboratorio, sobresaliendo tres bacterias que se encontraron en los tres establecimientos estudiados: *Staphylococcus xylosum*, *Bacillus licheniformis* y *Pseudomonas stutzeri*. Las primeras dos pertenecen a la clase Bacilli antes mencionada y la *Pseudomonas* pertenece a la Clase Gammaproteobacteria, Orden Pseudomonadales, Familia Pseudomonadaceae.

El LAFYM fue el laboratorio que presentó más diversidad de especies, presentando 17 especies de las 27 identificadas, de las cuales 10 se encontraron únicamente en este laboratorio. Por otro lado, el laboratorio de AMSA presentó únicamente 2 especies propias, pero de gran importancia debido a su patogenicidad: *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*. El LAMIR fue el único laboratorio que presentó especies dentro de los cuatro Phyla identificados, debido a que la bacteria *Bergeyella zoohelcum* se presentó únicamente en este laboratorio, siendo la única representante de los Bacteroidetes.

Tabla 1. Relación Filogenética de las bacterias identificadas en los tres laboratorios a lo largo de los seis muestreos periódicos.

REINO	PHYLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GENERO/ESPECIE	LOCAL
MONERA	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus haemolyticus</i> <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Staphylococcus lentus</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Staphylococcus sciuri</i> <i>Staphylococcus vitulinus</i> <i>Staphylococcus warnerii</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>	AM LF LF LF LM LF y AM LM y LF LF LM y LF LM, LF y AM
				Bacillaceae	<i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus pumilus</i>	LM y LF LM, LF y AM LM y AM LM y AM LF
	Actinobacteria	Actinobacteria	Actino mycetales	Propionibacteriaceae	<i>Propionibacterium acnés</i>	LM
				Brevibacteriaceae	<i>Brevibacterium sp.</i>	LF
				Microcococcaceae	<i>Arthrobacter sp.</i> <i>Kocuria varians</i> <i>Micrococcus sp.</i> <i>Cellulomona sp./ Microbacterium</i>	LM LF LF LM y AM
				Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium accotens</i>	LF
	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Bergeyella zoohelcum/ Weeksella virosa</i>	LM
	Proteobacteria	Gammaproteo bacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	<i>Pantoea sp.</i> <i>Pantoea agglomerans</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	LM y LF LF AM
			Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomona stutzeri</i>	LM, LF y AM

B. Recuento de bacterias Gram positivo y Gram negativo.

Los recuentos de las bacterias Gram positivo duplicaron y/o triplicaron los recuentos de las bacterias Gram negativo en los tres laboratorios estudiados. El predominio de las bacterias Gram positivo se observó durante los seis meses de muestreo en ambos ambientes en todos los establecimientos.

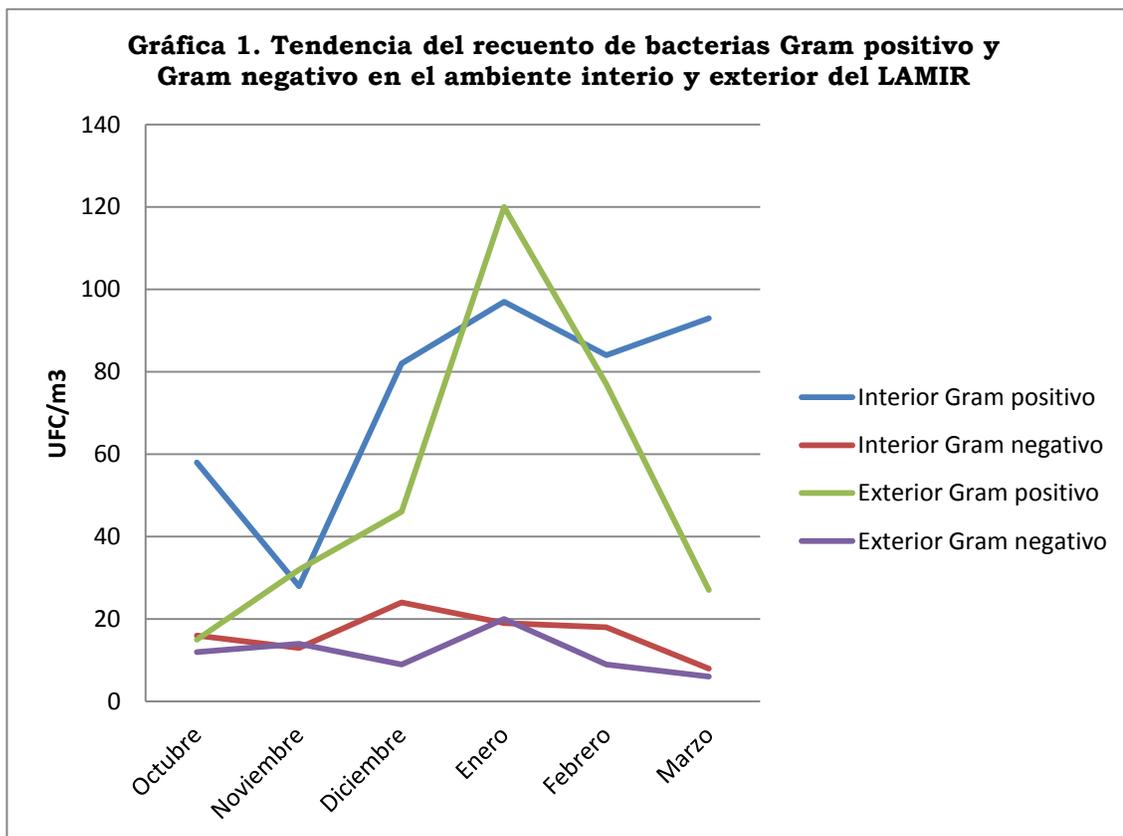
El LAMIR presentó en enero los valores máximos, tanto de bacterias Gram positivo como de bacterias Gram negativo en el ambiente exterior, mientras que en el ambiente interior las bacterias Gram negativo fueron mayores en diciembre (tabla 2). Sobresalen los resultados del mes de Marzo en el que el recuento de Gram positivo es diez veces mayor que el de Gram negativo, esto refleja la tendencia del predominio de las bacterias Gram positivo sobre las Gram negativo en la carga suspendida en aire de ambos ambientes.

Tabla 2. Recuento de bacterias Gram positivo y Gram negativo en el ambiente interior y exterior del LAMIR

	Interior		Exterior	
	Gram positivo	Gram negativo	Gram positivo	Gram negativo
Octubre	58	16	15	12
Noviembre	28	13	32	14
Diciembre	82	24	46	9
Enero	97	19	120	20
Febrero	84	18	77	9
Marzo	93	8	27	6

Sin embargo, la tendencia de los recuentos es distinta para ambos ambientes. Las bacterias Gram negativo en el ambiente interior presentaron sus valores más altos durante diciembre, enero y febrero, mientras que en el ambiente exterior disminuyeron en diciembre y febrero, presentando su valor más alto en enero. El recuento de bacterias Gram positivo en el ambiente exterior mostró una tendencia ascendente alcanzando su punto máximo en enero

(120 UFC/m³) y disminuyendo en febrero y marzo (gráfica 1). Por su parte en el ambiente interior los valores máximos se presentaron en enero y diciembre para las bacterias Gram positivo y Gram negativo respectivamente.



El LAFYM presentó los valores máximos del ambiente exterior de ambos tipos de bacterias en diciembre, mientras que en el ambiente interior presentó el valor máximo de bacterias Gram positivo (128 UFC/m³) en enero y de bacterias Gram negativo (18 UFC/m³) en noviembre (tabla 3). A semejanza del LAMIR, el predominio de las bacterias Gram positivo sobresalió en marzo, donde en el ambiente exterior estas presentaron un valor diez veces más alto que las bacterias Gram negativo. Este laboratorio presentó la misma tendencia del predominio de las bacterias Gram positivo

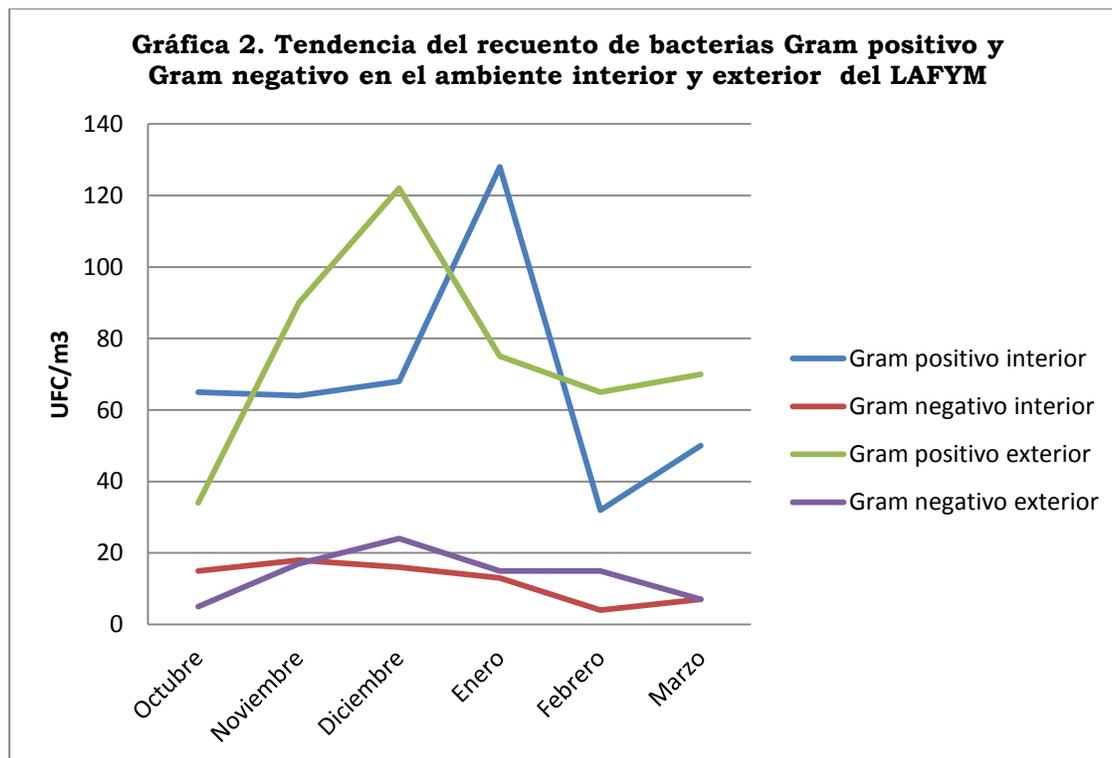
sobre las Gram negativo. Cabe resaltar los resultados de febrero y octubre en el ambiente interior y exterior respectivamente, donde a pesar que las bacterias Gram positivo mostraron sus recuentos más bajos la diferencia con las Gram negativo cinco veces mayor. Las bacterias Gram negativo presentaron escaso predominio en ambos ambientes con valores por debajo de las 20 UFC/m³. Es importante

Tabla 3. Recuento de bacterias Gram positivo y Gram negativo en el ambiente interior y exterior del LAFYM

	Interior		Exterior	
	Gram positivo	Gram negativo	Gram positivo	Gram negativo
Octubre	65	15	34	5
Noviembre	64	18	90	17
Diciembre	68	16	122	24
Enero	128	13	75	15
Febrero	32	4	65	15
Marzo	50	7	70	7

resaltar que el valor máximo de bacterias Gram positivo en el ambiente exterior (122 UFC/m³) fue menor que al encontrado en el interior.

La tendencia de las bacterias Gram positivo en el ambiente exterior mostró valores ascendentes hasta llegar a un pico en diciembre y luego una marcada disminución hasta febrero, en marzo se muestra un ligero aumento de los resultados. En el ambiente interior el pico más alto se dio en enero, mostrando una significativa disminución en febrero, los resultados de los primeros tres meses de estudio presentan una tendencia lineal. A diferencia de la tendencia mostrada por las bacterias Gram positivo, las bacterias Gram negativo presentaron semejanza en ambos ambientes debido a que sus valores no sobrepasaron las 25 UFC/m³.

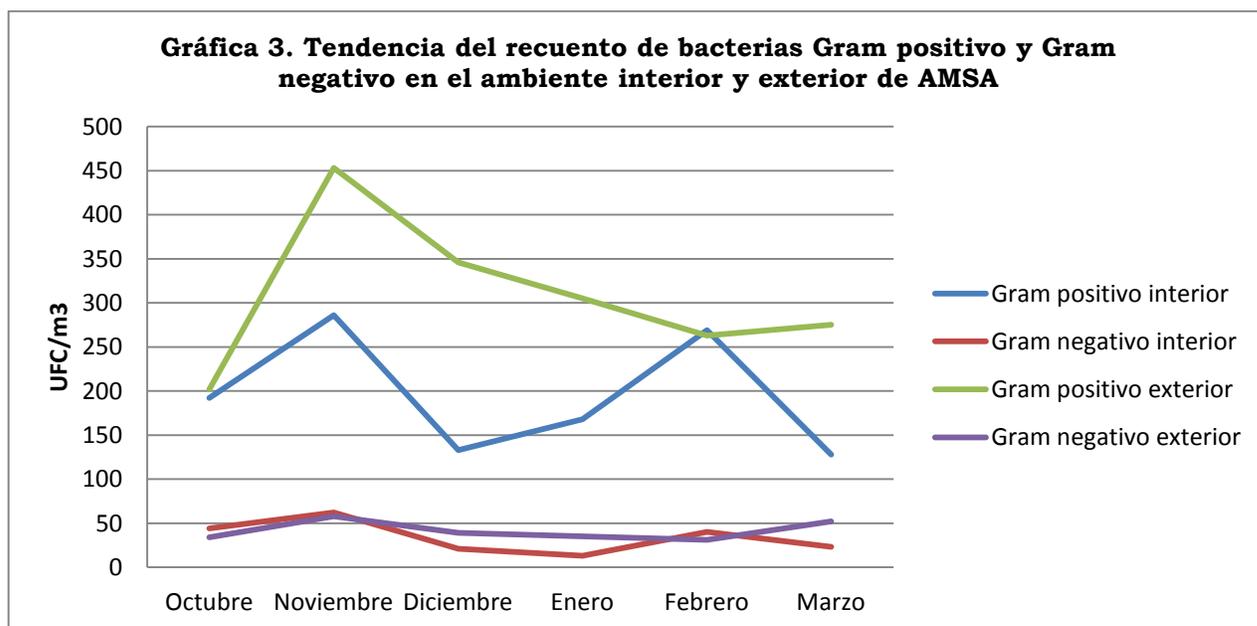


El laboratorio de AMSA presentó valores sobre el promedio del resto de laboratorios en ambos ambientes (tabla 4). Las bacterias Gram positivo en el ambiente interior sobrepasaron las 120 UFC/m³ mientras en el exterior fueron mayores a las 200 UFC/m³ llegando a su valor máximo de 286 UFC/m³ y 453 UFC/m³ en ambos ambientes respectivamente.

Tabla 4. Recuento de bacterias gram positivas y gram negativas en el ambiente interior y exterior del AMSA

	Interior		Exterior	
	Gram positivo	Gram negativo	Gram positivo	Gram negativo
Octubre	192	44	202	34
Noviembre	286	62	453	58
Diciembre	133	21	346	39
Enero	168	13	305	35
Febrero	269	40	263	31
Marzo	128	23	275	52

A pesar de los recuentos elevados, la tendencia del predominio de las bacterias Gram positivo sobre las Gram negativo fue el mismo que en el resto de laboratorio, presentando valores cinco veces mayor del primer tipo de bacterias. Las bacterias Gram negativo no fueron predominantes, pero su recuento en el ambiente interior sobrepasa las 10 UFC/m³ y en el exterior las 30 UFC/m³. Todos los valores máximos se presentaron en noviembre (gráfica 3).

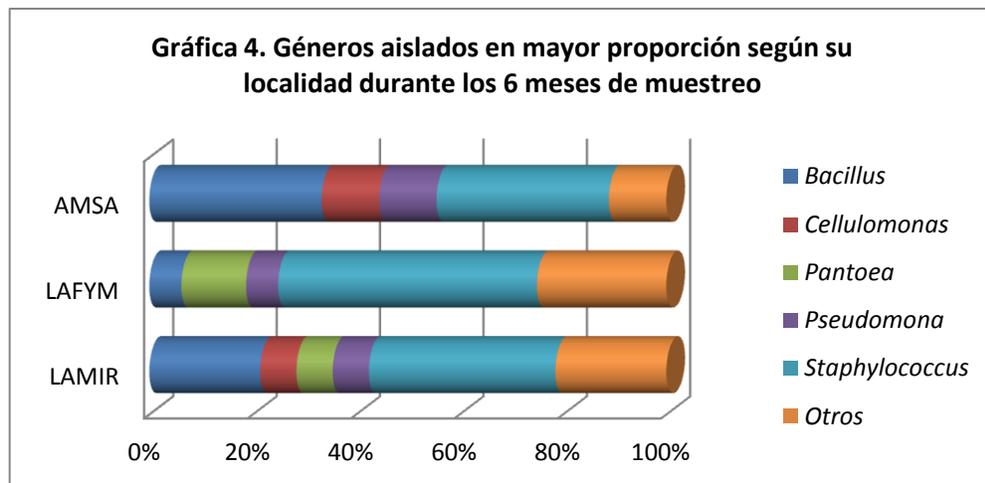


La tendencia muestra un pico en noviembre para ambos tipos de bacterias en ambos ambientes y un segundo pico en febrero para las bacterias Gram positivo en el ambiente interior. Las bacterias Gram negativo presentan una tendencia similar a lo largo del estudio en ambos ambientes.

C. Género predominante

El género *Staphylococcus* fue el género predominante en los tres laboratorios estudiados según la proporción de géneros identificados. Como se observa en la grafica 4 el laboratorio de AMSA lo presentó

en un 33.3%, el LAMIR en 36% y el LAFYM en 50%, siendo así el laboratorio con mayor porcentaje de este género. Es evidente el predominio de este género junto al de *Bacillus*, en una menor proporción, ambos pertenecen a las bacterias Gram positivo clase Bacilli. Los resultados de la grafica 4 mostraron el predominio de los géneros de bacterias Gram positivo sobre las Gram negativo, sin embargo cabe resaltar que de los cinco géneros aislados en mayor proporción dos son Gram negativo: *Pantoea* y *Pseudomonas*.



IX. Discusión de resultados

De las 27 especies bacterianas identificadas se encontró que más del 50% de estas cepas pertenecen a la clase *Bacilli*, Orden *Bacillales* (Tabla 1), lo que concuerda con lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en su informe de vigilancia epidemiológica del 2002, en el que refiere que las bacterias más frecuentes son las especies Bacilares debido a la tolerancia de sus esporas a la radiación de la luz ultravioleta, la desecación y las elevadas temperaturas (15). Cabe resaltar que estas especies, pertenecientes al Phylum Firmicutes presentan contenido de G-C bajo en comparación con las Actinobacterias quienes presentan un contenido de G-C alto, lo que debería conferir una mejor disposición para soportar los cambios de temperatura y humedad del ambiente.

Como se mencionó anteriormente, el laboratorio AMSA presentó únicamente 8 especies, al contrario del LAFYM que fue el laboratorio con mayor diversidad presentando 18 especies únicas (Tabla 1). Se encontraron tres especies bacterianas presentes en los tres laboratorios estudiados: *S. xylosum*, *Bacillus licheniformis* y *Pseudomona stutzeri* (Tabla 1). Estas bacterias se encuentran generalmente en la microbiota de la piel en el caso de *S. xylosum* y *Pseudomona stutzeri*, y en el suelo en el caso del *Bacillus licheniformis*; lo que podría explicar la frecuencia de su presencia en todos los ambientes. A su vez comparten el hecho que son causantes de infecciones oportunistas en pacientes inmunocomprometidos.

El género predominante fue el de *Staphylococcus* (Gráfica 4). Se identificaron 10 cepas, de las que sobresale el *S. aureus* debido a que es el miembro más virulento de las 35 especies de este género. La importancia de la presencia de *Staphylococcus aureus* radica en su patogenia, que va desde infecciones menores de la piel y abscesos cutáneos hasta

enfermedades que pueden poner en peligro la vida como neumonía, meningitis, síndrome del shock tóxico (SST) y sepsis (34).

La segunda proporción más elevada de géneros identificados en los tres laboratorios después de los *Staphylococcus* y *Bacillus* se conformó por especies Gram positivo identificadas como Actinobacterias. Estas se presentaron en cuatro familias distintas que presentan las mismas características microscópicas. Estos resultados junto a los dos primeros géneros identificados, muestran el predominio de las bacterias Gram positivo en los tres laboratorios y en ambos ambientes, reafirmando así los resultados obtenidos por García y colaboradores, quienes indican que la frecuencia de las bacterias Gram negativo es generalmente inferior, principalmente por su propensión a la desecación debido a la estructura delgada de su pared celular (7). Otros estudios realizados anteriormente en instituciones públicas (3) afirmaron que la mayoría de bacterias suspendidas en aire son saprófitas y proceden del suelo, siendo las más frecuentes las bacterias cromógenas, los bacilos esporulados y los cocos. La importancia de estos resultados radica en que en la actualidad existen microorganismos que se aíslan infrecuentemente, pero que son capaces de causar infecciones en determinados pacientes, para los cuales no existen puntos de corte ni métodos de susceptibilidad estandarizados dificultando de esta forma el tratamiento y prevención de las mismas (34). Estos resultados concuerdan a su vez con los citados por Berkeley (14) y Griffin (5) quienes concuerdan en el predominio de los cocos y bacilos Gram positivo sobre las cepas Gram negativo, independientemente del número de cepas presentes en determinado lugar.

A pesar del predominio de las bacterias Gram positivo se identificaron 4 géneros de bacterias Gram negativo: *Klebsiella*, *Pantoea*, *Pseudomonas* y *Bergeyella*, esta última una Flavobacteria. *Bergeyella zoohelcum*, conocida anteriormente como *Weeksella virosa*, es una bacteria patógena zoonótica, aislada generalmente en la boca de los

caninos (26). Su presencia en el ambiente externo del LAMIR podría relacionarse con la proximidad del techo, donde se realizó el muestreo, con el edificio de laboratorios de la Facultad de Veterinaria de la misma casa de estudios o con la posibilidad de contaminación externa debido a perros callejeros, esto concordaría con los resultados de la Universidad de Zulia mencionados anteriormente, donde se hace referencia a la presencia de un bajo porcentaje de flavobacterias en el ambiente exterior (7). El resto de géneros Gram negativo identificados son bacterias oportunistas presentes generalmente en plantas, agua, heces animales y humanas. Son frecuentes en infecciones nosocomiales debido a su presencia en aguas contaminadas, y su facilidad de crecimiento en medios ricos en glucosa(22), Anderson confirmó su presencia en el ambiente (3).

En cuanto a los recuentos de bacterias Gram positivo y Gram negativo se observó el mismo predominio. El LAMIR presentó en enero los valores máximos de bacterias Gram positivo tanto en el ambiente interior (97UFC/m³) como en el exterior (120 UFC/m³). Sin embargo, se observó que únicamente en este mes y en noviembre se observó que el recuento del ambiente interior fuera menor al exterior. Estos resultados concuerdan con la teoría de Pouche que refiere que los ambientes exteriores presentan de 6 a 7 veces menos bacterias que los interiores (3), mientras que la EPA refiere que los ambientes cerrados son 10 a 100 veces más contaminados que los abiertos (6). Sin embargo, tanto el LAFYM (Gráfica 2) como el laboratorio de AMSA (Gráfica 3) presentaron una tendencia opuesta, presentando valores mayores en el ambiente exterior. Esto puede deberse al entorno exterior en el que se encuentran estos laboratorios, ya que el LAFYM se encuentra en una zona urbana en el centro de la ciudad y el laboratorio de AMSA presenta cercanía con una carretera internacional al pacífico.

Cabe resaltar que el laboratorio de AMSA presentó valores doblemente mayores que los presentados por los otros dos laboratorios

(Tabla 4). Esto puede deberse a que el laboratorio de AMSA se ubica cercano a un basurero y entre sus actividades están el constante contacto con materiales, equipo y movimiento del personal que labora en el lago de Amátitlan. Además, este laboratorio se encuentra en el municipio de Villanueva a 1330mts. sobre el nivel del mar (SNM), una elevación menor que los otros dos laboratorios ubicados en la ciudad capital (1609mts. SNM), lo que favorece el crecimiento bacteriano, ya que como se refirió anteriormente, la cantidad de los microorganismos en la atmósfera cambia según la altura, obteniéndose mayor cantidad en los metros inferiores (3). A partir de estos resultados es posible establecer que la contaminación del ambiente exterior en este laboratorio, se ve afectado por múltiples factores que favorecen la supervivencia bacteriana. Esto es relevante debido a que la alta concentración ambiental de dichas bacterias puede demostrar que los niveles de ocupación del laboratorio son altos o que la renovación del aire es insuficiente y debería mejorarse (10).

Dentro de las limitaciones del estudio cabe mencionar que el monitoreo del aire en la ciudad de Guatemala, por parte del Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología de Guatemala (INSIVUMEH) indica un descenso de los valores de contaminación bacteriana en la época lluviosa (33), sin embargo el estudio se realizó únicamente durante la época seca, no obteniendo datos que corroboren lo planteado por el INSIVUMEH en la época lluviosa.

X. Conclusiones

1. Se identificaron 13 géneros y 27 especies de bacterias suspendidas en el aire.
2. Los tres laboratorios presentaron una proporción mayor al 50% de bacterias de la clase *Bacilli*.
3. Las bacterias Gram positivo predominaron sobre las bacterias Gram negativo.
4. El laboratorio con mayor diversidad de especies únicas fue el LAFYM, mientras el laboratorio de AMSA presento la menor diversidad de especies identificadas.
5. Las bacterias *Staphylococcus xylosum*, *Bacillus licheniformis* y *Pseudomonas stutzeri* fueron aisladas de los tres laboratorios estudiados.
6. El género predominante fue *Staphylococcus*.

XI. Recomendaciones

1. Concientizar al personal de los laboratorios estudiados en cuanto a la renovación del aire del ambiente interior, para disminuir la proporción de bacterias *Bacillales* presentes en los tres laboratorios y las posibles afecciones que puedan desencadenar.
2. Monitorear microbiológicamente el ambiente interior del laboratorio de AMSA, para evitar colonización de bacterias patógenas y posibles afecciones a la salud de sus trabajadores.
3. Promover un sistema de control ambiental externo en el LAMIR y el laboratorio de AMSA para prevenir futuros aumentos de la carga bacteriana suspendida en aire en el ambiente interior.
4. Realizar un estudio sobre la carga bacteriana suspendida en aire en el ambiente exterior durante la estación lluviosa y comparar la estación seca en el valle de Guatemala.
5. Ampliar los estudios sobre la carga bacteriana suspendida en aire en otros establecimientos, para promover una legislación nacional sobre los niveles permisibles de carga bacteriana en ambientes interiores.

XII. Referencias

1. Instituto Nacional de Sismología, vulcanología, meteorología e hidrología de Guatemala. [www. Insivumeh.gob.gt](http://www.insivumeh.gob.gt)
2. Madigan M, *et al.* Biología de los microorganismos. 10^a Ed. Madrid, España: Pearson Prentice-Hall. 2004. P. 607, 482-483.
3. Andersen, Gary *et al.* El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos, *Obs. Amb.* 5: 375-402
4. Brodie E.L. *et al.* Urban aerosol harbor diverse and dynamic bacterial populations, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 2007 104(1): 299-394
5. Griffin, D. *et al.* Atmospheric movement of microorganisms in clouds of deserts dust and implications for human health, *Clin. Microbiol. Infect.* 2007; 20:3
6. Indoor air quality coordinators Guide – Appendix E- typical Indoor air pollutants, United States environmental Agency, 1990.
7. García N., Araujo I. & Fernández M. Calidad microbiológica y fisicoquímica del aire en tres laboratorios de la Facultad de Ingeniería de la Universidad del Zulia. *CIEN*, 2005;13(2):182-192.
8. Castañeda E., Montes M. & Avelino F., Cuantificación de bioaerosoles en las áreas de proceso de una industria zapatera y su relación con la salud de los trabajadores, *Enf. Infec. y microbiol. México* 2006; 26:1
9. Lopez G. & Fernandez G., Microorganismos en la atmósfera de la ciudad de Monterrey, NL México, Facultad autónoma de NL, México 2000.
10. Balows A, W.J. Hausler, K.L. Hermann, *et al.* Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Chapter 120. 1991. American society of Microbiology, Washington D.C.
11. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 1st edition. 4 vols. (1984)

12. Benintende S. et al. Guia de identificación de bacterias, Catédra de Microbiología agrícola, Facultad de ciencias agropecuarias de Argentina,
http://www.fca.uner.edu.ar/academicas/deptos/catedras/microbiologia/unidad_5_taxonomia_bacteriana_guia_de_estudio.pdf
13. Margulis, L. & Schwartz, K.V. (1982). Five Kingdoms. An Illustrated Guide to the Phyla of Life on Earth. W.H.Freeman, San Francisco.
14. Berkeley University, Study finds the air Rich with bacteria, Lawrence Berkeley National Laboratory, USA.
15. Organización Mundial de la Salud Vigilancia epidemiológica sanitaria en situaciones de desastre, Programa de Preparativos para Situaciones de Emergencia y Socorro en Casos de Desastre, OM) y Organización panamericana de la salud (OPS), Washington, D.C., 2002
16. Sanchez M. *et. al* Caracterización de microorganismos en aire interior de la universidad autónoma de Madrid, Laboratorio de aplicaciones ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, España, 2000.
17. Occupational Safety and Health Administration, Indoor Air Quality, Occupational Safety and Health Administration (OSHA) 2001 Federal Register 66:64946 www.osha.gov
18. Gamboa M, Rodríguez E & Rojas M, Bacterias de importancia clínica en respiradores y aires acondicionados en hospitales de San Jose, Costa Rica Rev. Biomed. 2003; 14:143-151
19. Gordon B, Mackay R, Rehfuss E, Inheriting the World: The atlas of children's health and the environment, The World Health Organization WHO 2004.
20. Herrera K. *et al.* Impacto de la calidad microbiológica del aire externo en el ambiente interior y en la salud del personal de cuatro laboratorios de instituciones públicas de la ciudad de Guatemala,

- Barcenas y Villanueva, Proyecto FODECYT 002-08, Guatemala 2009.
21. Aydogdu H. & Ahmet A. Monitoring of fungi and bacteria in the Indoor air of primary school in Edirne, Turkey, *Indoor Built Environ*, Turkey 2005; 14, 5:411-425.
 22. Mandrioli P. & Ariatti A., *Aerobiology: future course of action*, *Aerobiología*, Institute of Atmospheric and Oceanic Sciences, It. CNR, Italy 2001; 17: 1-10
 23. Clavell L. & Pedrique M., *Manual de Métodos Generales*, 2da ed Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, 1992.
 24. Ortega, Y., *Garantía de la Calidad de los Laboratorios de Microbiología Alimentaria*. Organización Panamericana de la Salud. Harla S.A. México D.F. 1991
 25. Rojas T. *et al.* El género *aspergillus* en la atmosfera de la habana, *bol. Microbiol. Cuba* 2007; 22:41-46.
 26. Gomez A. *et al.* Evaluación de alergenos presentes en el polvo y ambiente, *Univ. Med. Bogota, Colombia* 2005; 46:1
 27. Lindeman J. *et al* Plants as Sources of Airborne Bacteria, Including Ice Nucleation-Active Bacteria *Appl. Environ Microbiol.* 1982 44(5):1059-1063
 28. Lindeman J. & Upper C. Aerial Dispersal of Epiphytic Bacteria over Bean Plants *Appl. Environ. Microbiol.* 1985 Nov;50(5):1229-1232
 29. Departamento de Guatemala, Servicio de información municipal (SIM), [www. Inforpressca. com](http://www.Inforpressca.com)
 30. Gyan K. *et al.* African dust clouds are associated with increased pediatric asthma accidents, School of Basic Sciences, Faculty of Medical Sciences, University of the West Indies, St. Augustine, Trinidad, West Indies.
 31. Inserto Aparato ECO MAS 100, EMD Chemicals Inc. North American affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany, 2009.

32. Meyer o. Schlegel, H. Reisolation of the carbon monoxide utilizing hydrogen bacterium pseudomonas carboxidovarans Arch. Microbiol. 1978. 118:35-43
33. INSIVUMEH, tomado de: Oliva, P. Informe anual 2006, Monitoreo del aire en la ciudad de Guatemala, Laboratorio de Monitoreo, Escuela de Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC. 2007.
34. PALAVECINO E. Recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards para el estudio de susceptibilidad en microorganismos fastidiosos y en microorganismos que presentan mecanismos de resistencia difíciles de detectar Rev Chil Infect (2002);19 (Supl.2): S 129-134
35. British Data base of World Flora and Fauna, Phylum of the Kingdom Bacteria, http://www.nature.british-towns.net/nature/02_phylum Page last updated Copyr16/04/11ight 2002-2011©JevStar.Com

XIII. ANEXOS

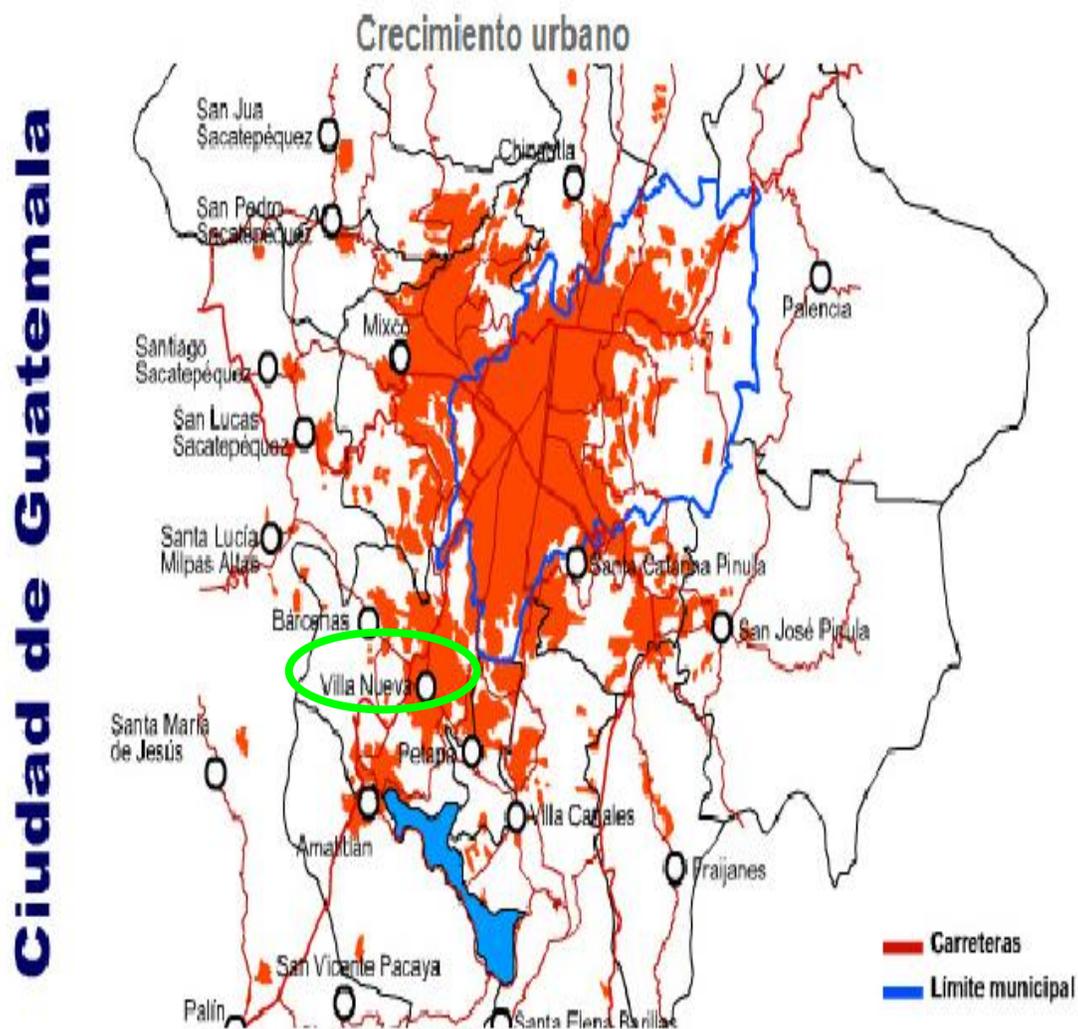
A. LISTADO DE ANEXOS

1. Mapa territorial departamento de Guatemala y su relación con el crecimiento demográfico para el 2008 (25).
2. Mapas ubicación de los puntos de muestreo en el LAMIR
3. Mapas ubicación de los puntos de muestreo en el LAFYM
4. Mapas ubicación de los puntos de muestreo en el laboratorio AMSA
5. Relación de cepas bacterianas con la temperatura ambiental (26).
6. Fotografías:
 - a. Ambiente interno y externo del laboratorio AMSA
 - b. Ambiente interno y externo del LAFYM
 - c. Ambiente interno y externo del LAMIR
 - d. Uso del biocolector ECO MAS100 y del Higrómetro en el muestro mensual en los tres laboratorios
 - e. Recuento e identificación de la carga bacteriana
 - f. Pruebas bioquímicas de identificación hasta especie de la carga bacteriana
 - g. Bacterias identificadas por género y especie

1. Mapa territorial departamento de Guatemala y su relación con el crecimiento demográfico para el 2008 (25).

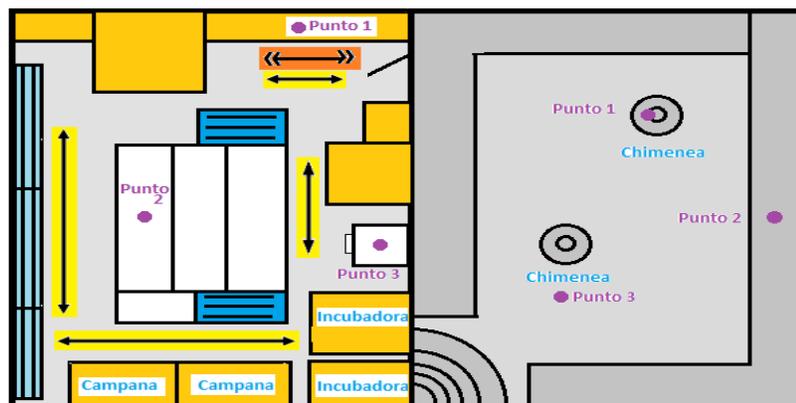


PLAN DE ORDENAMIENTO TERRITORIAL

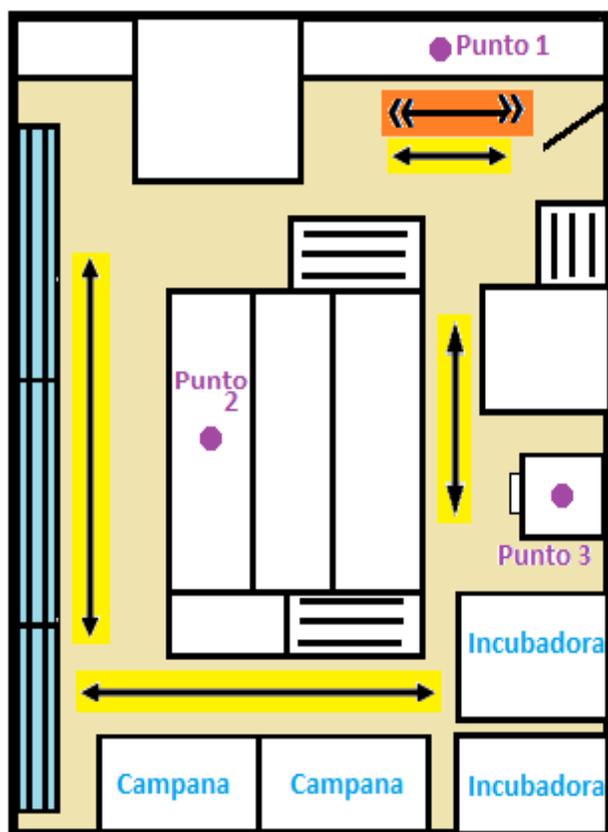


Fuente: Servicio de información municipal (SIM), WWW. Inforpressca. Com

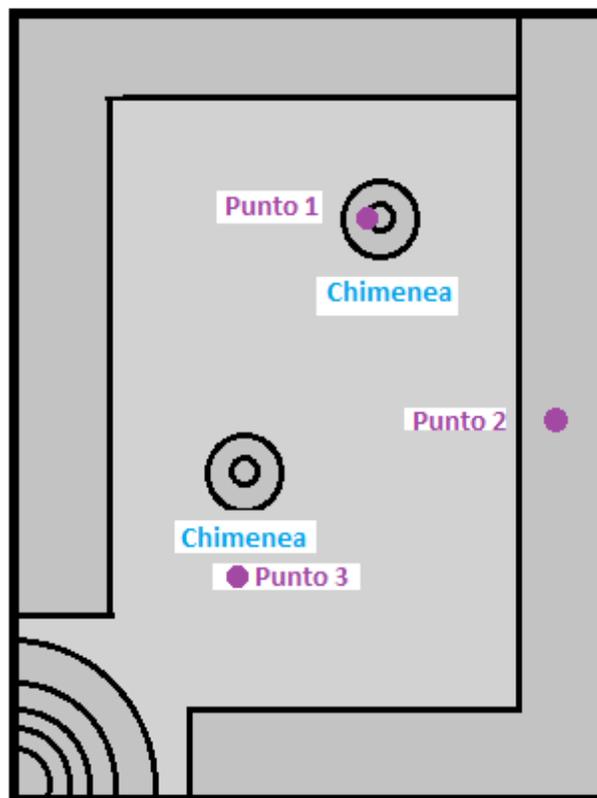
2. Mapas ubicación de los puntos de muestreo en el LAMIR



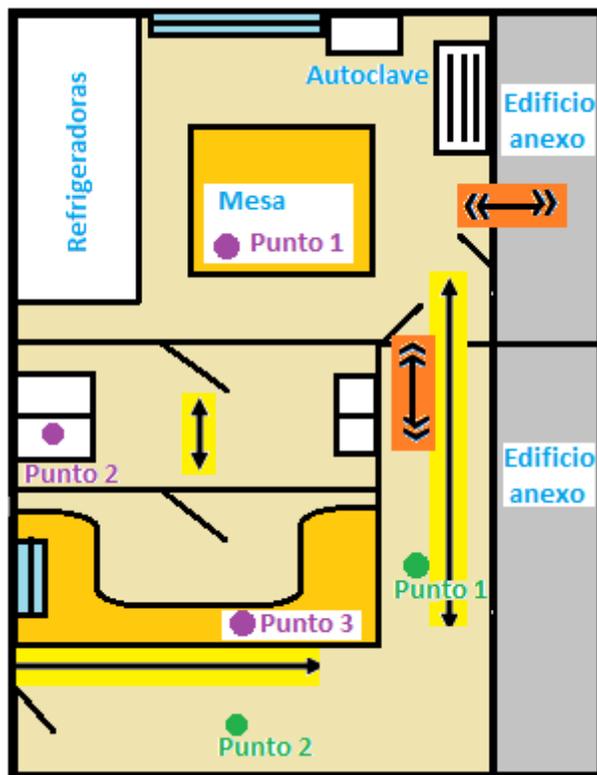
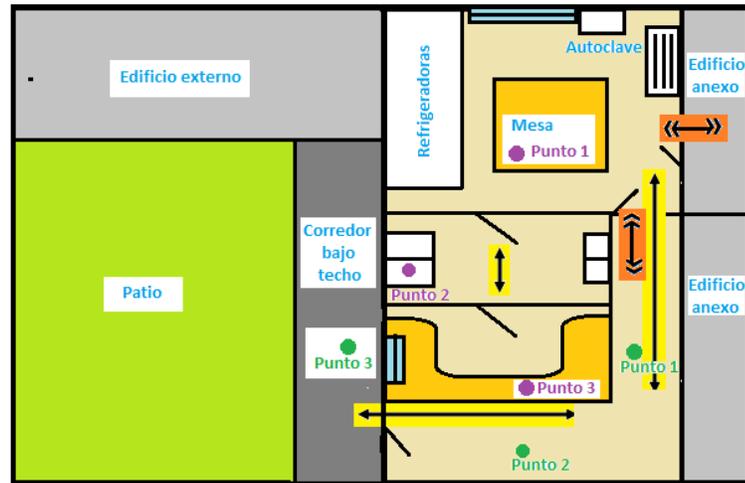
LAMIR, interior



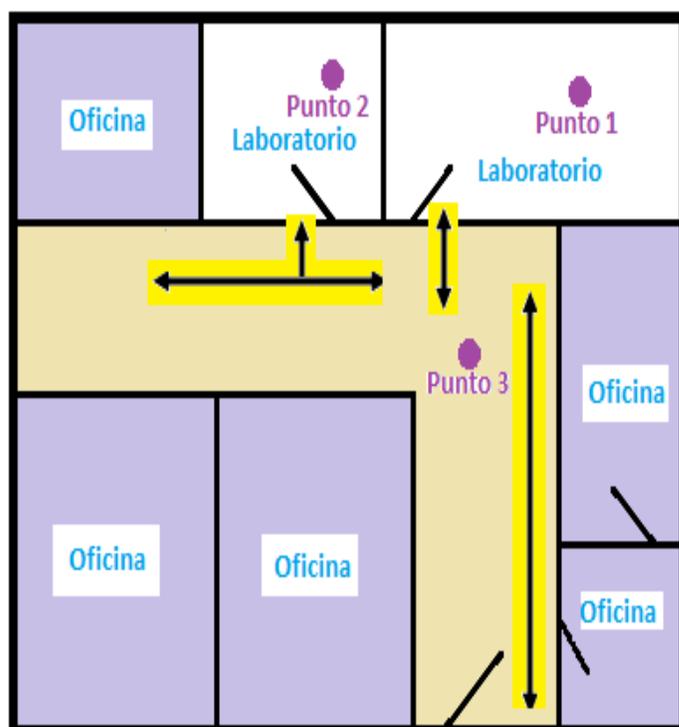
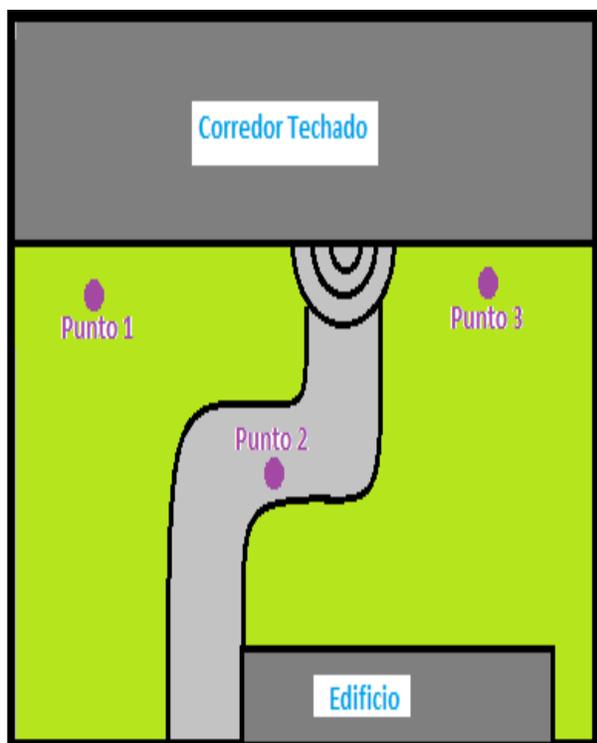
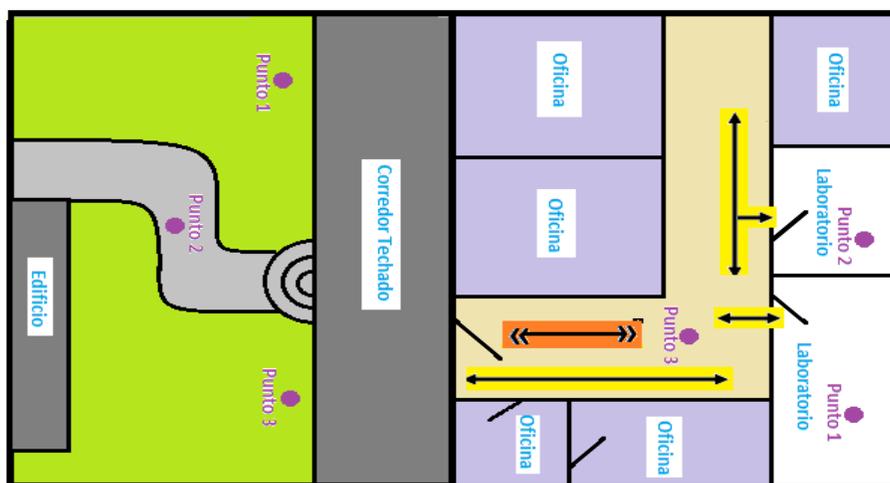
LAMIR, exterior



3. Mapas ubicación de los puntos de muestreo en el LAFYM



4. Mapas ubicación de los puntos de muestreo en el AMSA



5. Relación de cepas bacterianas con la temperatura ambiental (26).

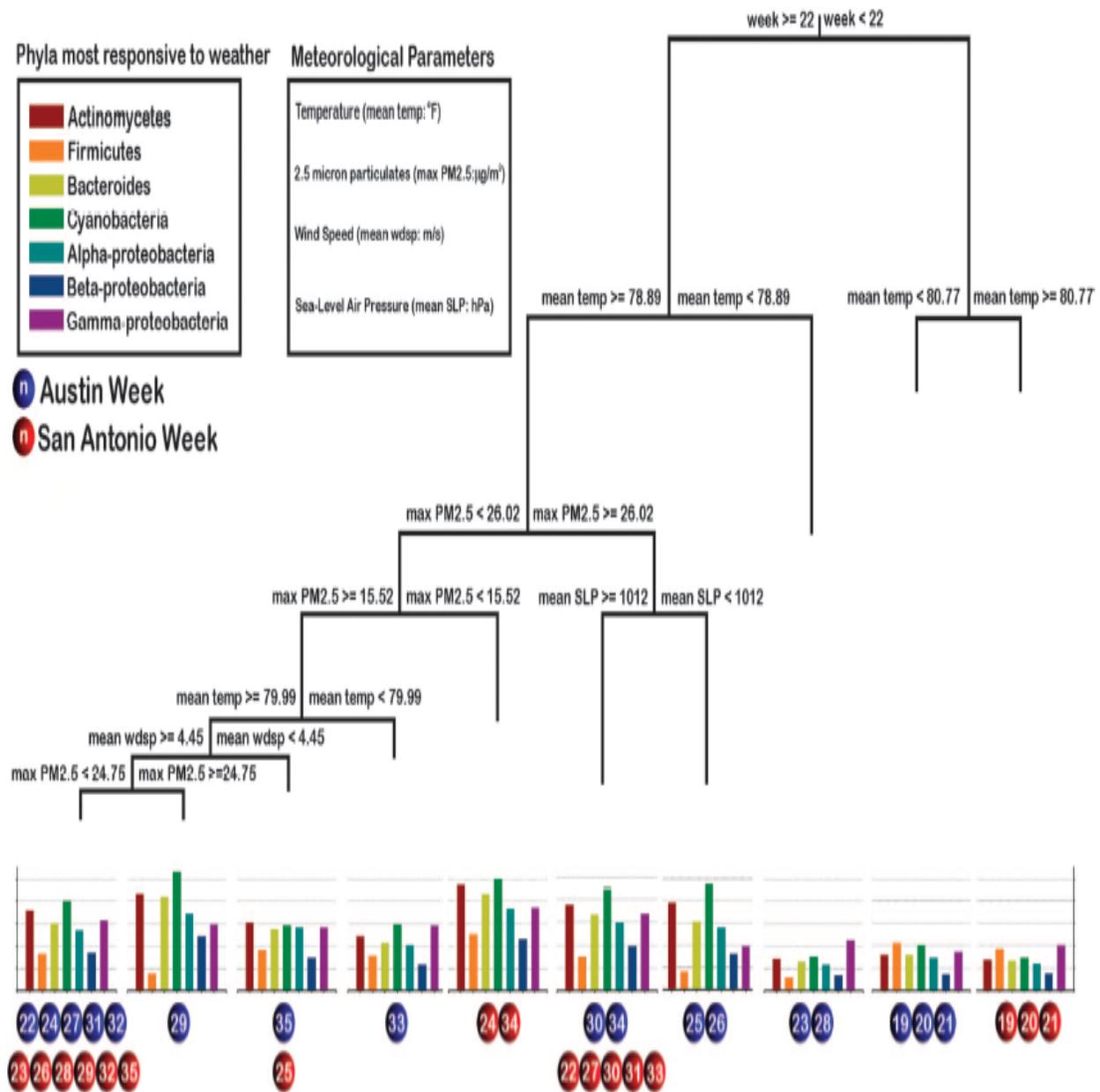


Fig. 3. Multivariate regression tree analysis of the interaction between aerosol bacterial dynamics (array intensity) and environmental parameters. The model explains 89.1% of variance in *SI Data Set 1*. Bars plotted under each cluster represent mean of normalized array intensities of phylogenetically related bacteria shown to be significantly correlated with environmental/temporal parameters.

6. Fotografías

a. Ambiente interno y externo del laboratorio AMSA



b. Ambiente interno y externo del LAFYM



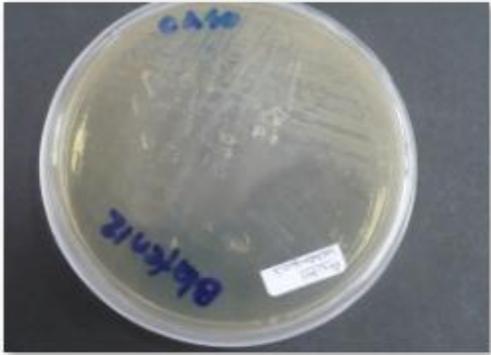
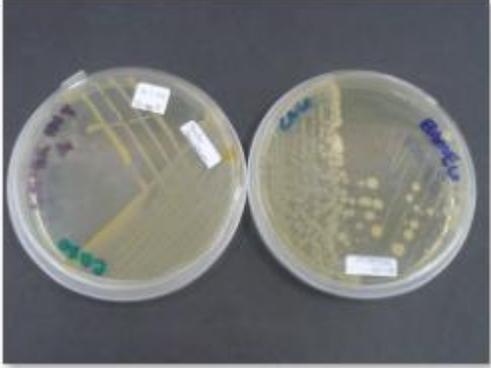
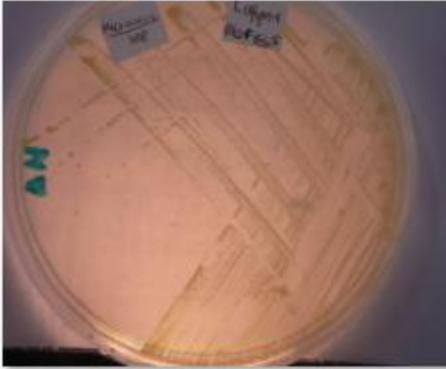
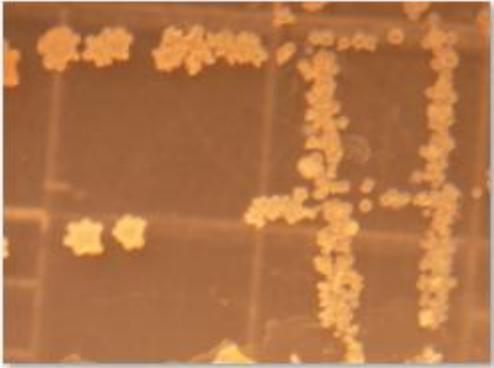
c. Ambiente interno y externo del LAMIR



d. Uso del biolector ECO MAS100 y del Higrómetro en el muestreo mensual en los tres laboratorios



g. Bacterias identificadas por Género y especie.

	
<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Bacillus megaterium</i>
	
<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
	
<i>Micrococcus sp.</i>	<i>Pseudomona stutzeri</i>



Staphylococcus epidermidis



Staphylococcus aureus



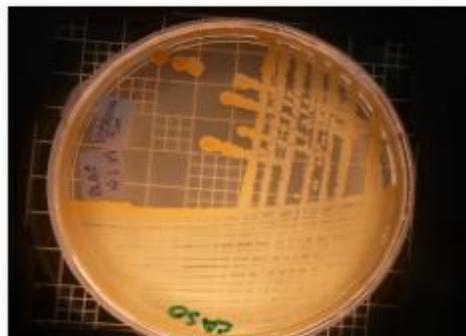
Staphylococcus xylosus



Staphylococcus saprophyticus



Staphylococcus vitulinus



Staphylococcus sciuri