

Estudio Aerobiológico de la Zona Aledaña al Relleno Sanitario "San Nicolás", Municipio de Aguascalientes

Dr. Francisco José Flores Tena 1, MC. Lidia Marisela Pardavé²,
LAQB. Iris del Carmen Valenzuela Cárdenas³

Palabras clave: Bacterias del aire, hongos del aire, relleno sanitario, microbiología ambiental, patógenos del aire.

Key words: Airborne bacteria, airborne fungi, landfills, environmental microbiology, pathogenic bacteria.

RESUMEN

Ya que existen pocos trabajos sobre la microbiota en atmósferas de áreas donde están establecidos rellenos sanitarios y dado el interés que para la salud tienen los organismos patógenos y oportunistas presentes en el aire, durante dos años se llevó a cabo este estudio con el fin de evaluar en lo posible las diferentes formas de vida que se encuentran en el aire. En seis puntos de muestreo se aislaron e identificaron 21 especies de bacterias cultivables patógenas y patógenas oportunistas del aparato digestivo, y tracto urinario. *Pasteurella haemolytica* fue aislada en todas las muestras, *Serratia plymuthica* y *Aeromonas hydrophila* fueron la segunda y la tercera especies más frecuentes. Veinticinco especies fúngicas fueron aisladas de las cuales siete de ellas presentan características alergénicas: *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus* spp y *Penicillium* sp.

ABSTRACT

There are few scientific reports about atmospheric microbial life near landfills. In these areas

Recibido 16 de Noviembre de 2006, Aceptado 12 de Febrero de 2007

- ¹ Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Básicas, Teléfono 9108404, correo electrónico: fflorest@correo.uaa.mx
- ² Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Básicas, Teléfono 9108404, correo electrónico: lpardave@correo.uaa.mx
- ³ Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Básicas, Teléfono 9108404.

the airborne pathogenic and opportunistic microorganisms are relevant for the public health. During two years, were six points were sampled for to evaluate the microbial life from the air. Twenty one species airborne bacteria were isolated and identified several were pathogenic from digestive, respiratory or urinary tract. Only *Pasteurella haemolytica* was isolated in all samples, *Serratia plymuthica* and *Aeromonas hydrophila* were the second and third species more frequent. Twenty five fungal species were isolated from the air, seven of them *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus* spp and *Penicillium* sp are allergenic.

INTRODUCCIÓN

La atmósfera se caracteriza por presentar gran intensidad de luz, variaciones extremas de temperatura, concentraciones bajas de materia orgánica y una escasez de agua, por lo que es un ambiente hostil para los microorganismos y, generalmente, no es un hábitat adecuado para el crecimiento de diversas formas de vida microbiana. Sin embargo, numerosos microorganismos son encontrados en las porciones más bajas, éstos no pueden crecer en ella pero representan poblaciones alóctonas transportadas por la atmósfera a partir de hábitats acuáticos y terrestres. Muchas especies, representantes de varios grupos de bacterias, hongos y protozoarios, han sido aisladas de la atmósfera ya que generalmente han sido introducidas por actividades del hombre.

Los estudios aerobiológicos se iniciaron como resultado de un interés epidemiológico, para tratar patógenos de animales, plantas o el hombre.

Recientemente este tipo de investigaciones se han incrementado en el área agrícola. Asimismo, en zonas urbanas se ha registrado la introducción de microorganismos a la atmósfera asociada a la turbulencia vehicular y a la gran densidad poblacional. Actualmente, en respuesta a la problemática del terrorismo, se ha desarrollado infraestructura para la detección y dispersión de armas biológicas (Rosas *et al.*, 2004).

La exposición al aire contaminado es una situación a la que no podemos escapar los residentes urbanos y, aunque la relación entre el aumento de mortalidad y morbilidad y la contaminación microbiológica del aire está todavía pobremente definida, es conveniente hacer notar que la geografía y el clima juegan un papel importante en la concentración de microorganismos en el aire exterior. Las ciudades en zonas áridas o semiáridas muestran concentraciones mucho más altas que aquellas en climas tropicales y templados (UNEP, 1993).

El muestreo y evaluación de los microorganismos de la atmósfera ha recibido cierta atención; gran parte de estos estudios han sido llevados a cabo en hongos (Mahdy y Sehrawi, 1997). El número de estudios en bacterias ha sido menor debido a las limitaciones para monitorearlas, sin embargo, su número se está incrementando en los últimos años (Di Giorgio *et al.*, 1996; Mahdy y Sehrawi, 1997; Shaffer y Lighthart, 1997; Lin *et al.*, 1999; Lighthart, 2000; Zhu *et al.*, 2003).

Entre los estudios sobre bacterias del aire asociados a los residuos sólidos se encuentran los realizados en Inglaterra por Collins y Kennedy (1992), en México por Rosas *et al.*, (1996) y en Polonia por Lis *et al.*, (2004). Con respecto a estudios sobre los hongos del aire en Aguascalientes, el trabajo de Pardavé y Flores (1997) sirvió como antecedente mientras que los de Lis *et al.*, (2004) y Stepalska y Wolek (2005) sirvieron como referencia. En cuanto a estudios de protozoarios, específicamente de amibas del aire, el equipo de Rivera ha generado los más importantes en el país (Rivera *et al.*, 1992; Rivera *et al.*, 1994).

El objetivo principal de este estudio fue el conocer y evaluar la presencia de microorganismos con interés en la salud pública en el aire del área aledaña al relleno sanitario "San Nicolás".

MATERIALES Y MÉTODOS

Se establecieron seis puntos de muestreo, tres dentro del relleno sanitario "San Nicolás": el 1 en el patio de descarga de la celda 3, donde se genera una parte importante de aerosoles, por la presencia de la basura (21°58'02"N, 102°12'38"W), el 2 a 200 metros del patio (21°58'02"N; 102°12'33"W) y el 3 frente a las oficinas (21°57'58"N; 102°12'48"W), en ambos puntos también se generan aerosoles, pero en menor cantidad que el punto 1, y tres en las cercanías de él: el 4 a 500 metros del relleno (21°57'30"N; 102°12'56"W), el 5 a 3 km (21°56'40"N; 102°13'47"W) y el 6 a 6 km del mismo (21°55'16"N; 102°14'34"W) en una zona residencial, la más cercana al relleno. Se llevaron a cabo doce muestreos en los meses de enero, marzo, mayo, junio, agosto, septiembre, octubre y noviembre de 2004 y en enero, febrero, marzo y mayo de 2005, para determinar de manera cualitativa y cuantitativa la presencia en el aire de bacterias y hongos, utilizando para ello muestreadores portátiles Burkard con un flujo de 20 L/min los cuales, contenían placas con sustrato Agar Soya Tripticaseína (AST) y, Eosina Azul de Metileno para bacterias (EAM) y Extracto de Malta Agar (EMA) para hongos, por los cuales se hicieron pasar diferentes volúmenes de aire (20 a 100 L), dependiendo del punto de muestreo. En el laboratorio, se incubaron a 36°C durante 24 horas las placas con AST y EAM, posteriormente, se contaron las colonias totales y se trasladaron a medios selectivos como AVB, SS Agar, KF, entre otros. Las colonias que se desarrollaron en medios selectivos fueron sometidas a observaciones microscópicas, tinciones y a pruebas bioquímicas utilizando tiras API E Biomerieux, para su caracterización. Las cajas con EMA fueron incubadas a 25°C durante 96 horas, se contaron las diferentes tipos de colonias fúngicas y una vez desarrolladas las estructuras reproductoras, fundamentales para la identificación, se realizaron preparaciones tomando parte de dichas estructuras, se tiñeron y observaron al microscopio para su identificación.

En los meses de febrero, marzo, mayo, julio, agosto y octubre de 2005, se llevaron a cabo los muestreos en las estaciones 1, 3 y 4 para aislar amibas de vida libre utilizando para ello un muestreador Burkard de tres etapas que captura partículas < 10µm, 10-4µm y < 4µm en un medio líquido; en este caso se utilizó medio Bold como

líquido receptor, con un flujo de 20 L/min. Se hicieron pasar 1200 L de aire en el punto 1 y 1800 L de aire en los puntos 3 y 4. Las muestras se incubaron a temperatura ambiente durante 30 días para la rehidratación de los quistes y posteriormente, se centrifugaron a 4,500 g durante 15 minutos; se desechó el sobrante y el concentrado se distribuyó en tres cajas con medio NNE y se incubaron a 25°C, 30°C y 36°C y se revisaron diariamente durante 15

días para observar el desarrollo de colonias (Rivera *et al.*, 1994).

De manera paralela en todos los muestreos, se midieron variables de carácter meteorológico, como fueron temperatura, humedad relativa, velocidad y dirección de los vientos y se realizaron análisis estadísticos para conocer si existía relación entre estas variables y la densidad de los microorganismos.

RESULTADOS

Grupo	Puntos de muestreo					
	1	2	3	4	5	6
Bacterias	1.6 X 10 ³ -	3.0 X 10 ² -	4.0 X 10 ² -	1.3 X 10 ² -	67 - 1800	50 - 620
	2.3 x 10 ⁴	1.7 X 10 ⁴	3.0 X 10 ³	1.3 X 10 ³		
Hongos	75 - 1350	50 - 1450	17 - 1150	17 - 1400	17- 2100	12 - 1500

Cuadro 1. Densidad mínima y máxima de bacterias y hongos del aire (UFC/m³) en los diferentes puntos de muestreo.

Especie	UFC/m ³	Frecuencia (%)
<i>Aeromonas hydrophyla</i>	57	58
<i>Aeromonas salmonicida</i>	25	8
<i>Burkholderia cepacia</i>	33	8
<i>Cedecea lapagei</i>	50	8
<i>Enterobacter amnigenus</i>	16	8
<i>Enterobacter cloacae</i>	31	17
<i>Enterobacter sakazakii</i>	25	8
<i>Escherichia coli</i>	94	33
<i>Ewingella americana</i>	12	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	466	17
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	16	8
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	48	42
<i>Pantoea sp</i>	94	42
<i>Pasteurella haemolytica</i>	818	100
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	53	50
<i>Pseudomonas putida</i>	12	8
<i>Rahnella aquatilis</i>	16	8
<i>Salmonella sp</i>	33	8
<i>Serratia odorifera</i>	25	8
<i>Serratia plymuthica</i>	66	66
<i>Yersinia enterocolitica</i>	75	8

Cuadro 2. Densidad promedio y frecuencia de bacterias cultivables del aire del relleno "San Nicolás" y alrededores.

Espece	UFC/m ³	Frecuencia (%)
<i>Alternaria tenuissima</i>	112	36
<i>Aspergillus flavus</i>	86	8
<i>Aspergillus glaucus</i>	25	1.4
<i>Aspergillus niger</i>	63	8
<i>Aspergillus ochraceus</i>	25	1.4
<i>Aspergillus sp.</i>	25	14
<i>Botrytis sp</i>	15	4
<i>Cladosporium herbarum</i>	547	83
<i>Curvularia sp</i>	16	1.4
<i>Epicoccum sp</i>	43	7
<i>Fusarium sp</i>	29	25
<i>Geotrichum sp</i>	25	1.4
<i>Helminthosporium sp</i>	16	2.8
<i>Mucor sp</i>	20	2.8
<i>Neurospora sp</i>	21	12.5
<i>Nigrospora sp</i>	37	4
<i>Paecilomyces sp</i>	25	1.4
<i>Penicillium sp</i>	48	37.5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	221	25
Especies no identificadas (6)		19

Cuadro 3. Micoflora del aire del relleno "San Nicolás" y alrededores.

DISCUSIÓN

Lighthart realizó una revisión de algunos estudios sobre bacterias en el aire y de ellos estimó que el número promedio de bacterias totales en el aire es de 1.9×10^5 células/m³, de las cuales aproximadamente el 1%, es decir 1.9×10^3 células/m³ son cultivables. En este estudio, las densidades mayores se obtuvieron en los puntos de muestreo 1 y 2, que correspondieron al patio de descarga y al área cercana a él, aproximadamente a 200 m, con valores promedio de 7.9×10^3 UFC (Unidades Formadoras de Colonias) para el punto 1 y 3.1×10^3 UFC en el punto 2, mientras que las densidades menores se encontraron en el punto 5 con un valor promedio de 1.4×10^3 UFC/m³ y en el punto 6 con un valor promedio de 4.0×10^2 . En resumen en el relleno sanitario y alrededores se obtuvo un intervalo comprendido entre las 400 y 7900 UFC/m³ por lo que se concluye que las estaciones 1 y 2 están por arriba del promedio y las restantes por

debajo de él. Cuando se compara dicho intervalo con los reportados por May & El Sehwari de 2.0×10^2 - 2.0×10^3 UFC/m³ y por Zhu *et al.* de 8.9×10^2 - 4.0×10^3 UFC/m³, ambos realizados en regiones semiáridas, los valores son similares. No se observó una estacionalidad en la densidad bacteriana.

Del total de bacterias del aire cultivables, solamente un porcentaje pequeño, menor al 1%, correspondieron a enterobacterias o afines, se identificaron 21 especies, 17 entéricas. Al igual que lo reportado por Collins y Kennedy, entre ellas se encontraron patógenas oportunistas como *Klebsiella pneumoniae*, agente causal de la neumonía y de infecciones del tracto urinario, *Yersinia enterocolitica*, causante de diarreas, *Escherichia coli* cuyas cepas virulentas contienen enterotoxinas y causan diarreas o infecciones urinarias, *Pantoea sp*, las especies de *Enterobacter* y de *Aeromonas* pueden también causar infecciones del aparato digestivo.

Cedecea lapagei, *Ewingella americana*, *Leclercia adecarboxylata*, *Ochrobacterium anthropi* y *Rahnella aquatilis* provienen, generalmente, de especímenes clínicos humanos y representan al igual que las especies antes mencionadas, cierto riesgo para la salud, particularmente para las personas que se encuentran laborando en el área del relleno sanitario. Aunque *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas putida* no son bacterias entéricas, son saprófitas o patógenas oportunistas de animales y humanos, *Burkholderia cepacia* puede causar la fibrosis quística en humanos, aunque ciertas cepas son saprófitas. *Pasteurella haemolytica* fue la especie más frecuente y abundante, es comúnmente parásita de aves y mamíferos y oportunista en humanos.

Cuando se comparan las especies encontradas en Aguascalientes con las reportadas en dos estudios, uno en la Ciudad de México en una estación de transferencia (Rosas *et al.* 1996) y otro en dos rellenos sanitarios en Polonia (Lis *et al.*) se encuentra una similaridad del 45% con el primer estudio y del 20% para el segundo, lo que confirma que la geografía, el clima y los sustratos son determinantes en la cantidad y el tipo de microorganismos en el aire.

La micoflora del aire estuvo conformada por 25 especies, de las cuales 19 fueron identificadas, incluyendo una especie de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Cuadro 2). *Cladosporium herbarum* fue la especie más frecuente y abundante, junto con *Aspergillus* spp y *Penicillium* sp constituyeron las especies alergénicas encontradas durante el estudio. A diferencia de lo observado en los análisis bacterianos las densidades mayores de hongos no se presentaron exclusivamente en los puntos de muestreo 1 y 2, lo que indica que las esporas fúngicas tienen mayor dispersión y/o mayor número de fuentes; lo que sí quedó claro es que las abundancias mayores se observaron durante la época de lluvia, lo cual coincide con lo reportado por Pardavé y Flores (1997) y Stepalska y Wolek (2005).

La variedad de especies encontrada en este estudio mostró poca similaridad con lo reportado para dos localidades polacas: 31% (Lis *et al.*) y 21% (Stepalska y Wolek), en cambio mostró una similaridad del 74% con el estudio realizado en la Ciudad de Aguascalientes en 1996 por Pardavé y Flores (1997). Las especies reportadas por primera vez encontradas en la atmósfera de



Foto 1. Panorámica del relleno sanitario "San Nicolas".

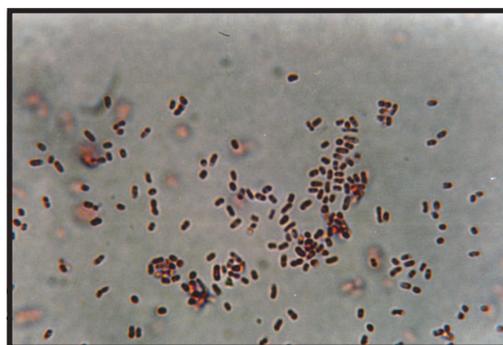


Foto 2. *Enterobacter* sp (1000X).

Aguascalientes fueron: *Botrytis* sp, *Geotrichum* sp, *Helminthosporium* sp, *Nigrospora* sp y *Saccharomyces cerevisiae*, esta última especie relacionada con la fermentación de productos alimenticios presentes comúnmente en la basura fue encontrada durante gran parte del estudio, excepto en los meses fríos y secos del 2005.

Con respecto a los muestreos para aislar amibas de vida libre, en ninguno de los 18 muestreos se obtuvo un resultado positivo, aunque en un muestreo piloto realizado en el mes de noviembre de 2004 se lograron aislar amibas del género *Acanthamoeba*, uno de los de mayor distribución en el aire, posiblemente las condiciones ambientales y climáticas del 2004, diferentes a las de 2005, pudieron ser la causa de los resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

En el aire del relleno sanitario y alrededores se aislaron e identificaron 21 especies de bacterias, varias de ellas patógenas y oportunistas, siendo las más frecuentes y abundantes *Pasteurella haemolytica*, *Serratia plymuthica*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* y 19 especies de



Foto 3. *Pasteurella pneumotropica* (1000X), la enterobacteria más abundante

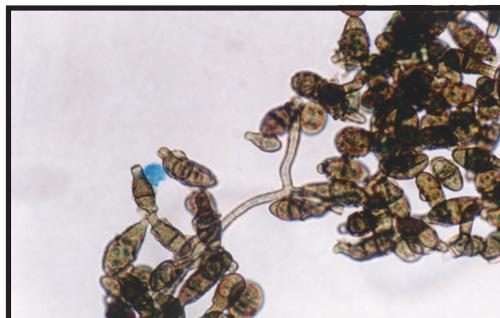


Foto 4. *Alternaria tenuissima* (200X), una de los hongos más frecuentes.

hongos, siete de ellas alergénicas, destacando *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus* sp y *Penicillium* sp por lo que existe cierto riesgo para la salud de los trabajadores que se encuentran en el patio de descarga y en áreas cercanas a él.

El mayor número de bacterias se registraron en las estaciones 1 y 2 las cuales se encuentran dentro del relleno sanitario, lo que sugiere que la basura es la fuente principal de estos microorganismos.

No se observó un patrón estacional para el caso de las bacterias, en cambio; la densidad de los hongos fue mayor durante la época húmeda.

RECOMENDACIONES

Se recomienda reducir el contacto con estos agentes utilizando para ello mascarillas de protección, asimismo se sugiere proporcionar información a todo el personal que labora en el relleno o realiza visitas frecuentes a dicho lugar.

BIBLIOGRAFÍA

- DIGIORGIO, C., *et al.*, . Atmospheric pollution by airborne microorganisms in the city of Marseilles. *Atmospheric Environment.*, 30 (1), 155-160, 1996.
- LIGHTHART, B., Mini-review of the concentration variations found in the alfresco atmospheric bacterial populations. *Aerobiologia* 16, 7-16, 2000.
- LIN, X., *et al.*, Long-term sampling of airborne bacteria and fungi into a non-evaporating liquid. *Atmospheric Environment*, 33, 4291-4298, 1999.
- LIS, D.O., *et al.*, Microbial air quality in offices at municipal land fills. *J. of Occupational and Environmental Hygiene*, 1, 62-68, 2004.
- MAHDY, H.M. Y ELSEHRAWI, M.H. , Airborne bacteria in the atmosphere of El-Taif Region, Saudi Arabia, *Water, Air and Soil Pollution*, 98, 317-324, 1997.
- PARDAVÉ, D.L.M. Y FLORES, F.J., Hongos del aire de la Ciudad de Aguascalientes. *Tópicos de Investigación y Posgrado*, V (2): 85-89, 1997.
- RIVERA, F., LUGO, *et al.*, Seasonal distribution of Air-borne protozoa of Mexico City and its suburbs. *Water, Air and Soil Pollution*, 61, 17-36, 1992.
- RIVERA, F., *et al.*, Seasonal distribution of air-borne pathogenic and free living amoebae in México City and its suburbs. *Water, Air and Soil Pollution*, 74, 65-87, 1994.
- ROSAS, I., *et al.*, Airborne microorganisms in a domestic waste transfer station. In: Mullenberg M. & Burge H. eds. *Aerobiology*. E.U.A.: Lewis Pub, 89-98, 1996.
- ROSAS, I., *et al.*, Bacterias en la atmósfera. In: Rosas, I., A. Cravioto y E. Ezcurra (comp.). *Microbiología Ambiental*. México: INE-PUMA, 15-46, 2004.
- SHAFFER, B.T. Y LIGHTHART, B., Survey of culturable airborne bacteria at four diverse locations in Oregon: Urban, rural, forest and coastal. *Microbial Ecology*, 34, 167-177, 1997.
- STEPALSKA, D. Y WOLEK, J., Variation in fungal spore concentrations of selected taxa associated to weather conditions in Cracow, Poland in 199, *Aerobiologia*, 21, 43-52, 2005.
- UNEP, *United Nations Environmental Data Report*. England: Basil Blackwell, 1993.
- ZHU, H., Experimental study of indoor and outdoor airborne bacterial concentrations in Tempe, Arizona. U.S.A. *Aerobiologia*, 19, 201-211, 2003.