

Muestreo y cuantificación de contaminantes biológicos en aire

Di Conza, F. S.⁽¹⁾; Papa, M. I.⁽¹⁾; Itria, R. F.⁽¹⁾

⁽¹⁾INTI-Ingeniería Ambiental

Introducción

De la amplia gama de contaminantes presentes en el aire (compuestos químicos, nieblas, partículas de diversos tamaños, etc.) puede encontrarse material particulado en suspensión asociado a la agentes biológicos ya sean estos hongos, esporas o bacterias. Las emisiones conteniendo este tipo de agentes son denominadas "bioaerosoles".

Al momento de relevar los factores que influyen en la calidad del ambiente laboral ya sea interior, exterior e incluso los espacios públicos es preciso identificar los focos de de este tipo de contaminantes. Esto resulta de particular interés ya que la exposición a agentes de esta clase están asociados con una serie de efectos negativos sobre la salud humana [1-4].

Con la excepción de los sectores artificialmente diseñados para ser mantenidos en esterilidad, los bioaerosoles se encuentran en todos los ambientes pero una alta concentración de los mismos puede determinar la presencia de factores de contaminación biológica elevada (i.e.: desechos cloacales, materia orgánica en estado de descomposición, focos contaminantes en conductos de ventilación, etc.), por lo que un adecuado muestreo, cuantificación e identificación de microorganismos resulta una valiosa herramienta diagnóstica para prevenir la contaminación o para la aplicación de medidas correctivas adecuadas.

El objetivo general de este trabajo consistió en optimizar el muestreo y la cuantificación de microorganismos cultivables en medio sólido rico para lograr diferenciar ambientes con distintas cargas microbianas. Los objetivos específicos consistieron en la puesta a punto de los tiempos de muestreo y las condiciones de cultivo para lograr el máximo desarrollo de bacterias y hongos cultivables.

Metodología / Descripción Experimental

Los muestreos se llevaron a cabo con el impactador inercial *BioStage Impactor* (SKC Inc.,

Eighty Four PA) (ver Fig. 1), de óptimo rendimiento en comparación con diversos muestreadores de microorganismos en aire [5]. La bomba fue calibrada para un caudal de muestreo de 28,3 l/min.

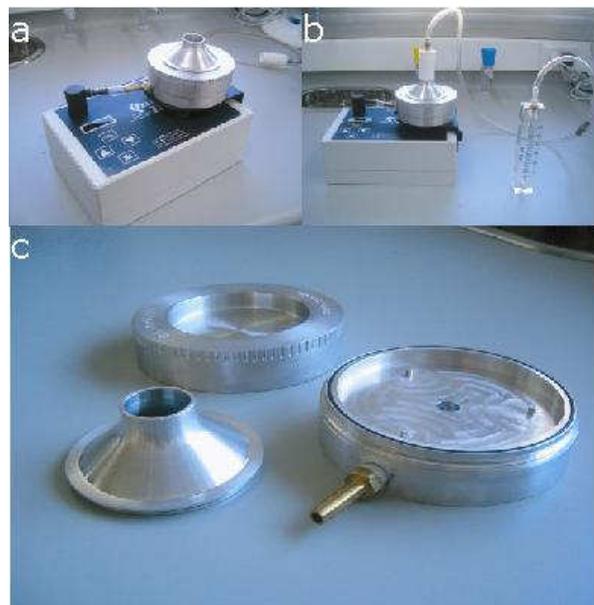


Fig. 1: Impactador inercial *BioStage*: a) y b) corresponden al muestreador montado sobre la bomba, listo para el muestreo y con un rotámetro para verificación del caudal respectivamente; c) al despiece del impactador, donde puede observarse el receptáculo para la caja de Petri.

Para la toma de muestras se seleccionaron 3 ambientes dentro del Centro de Ingeniería Ambiental con distintas características: un depósito funcionando temporariamente como droguero (1), un cuarto de cultivos bacterianos en medio líquido con generación de *spray* (2) y el cuarto de lavado (3). Cabe destacar que durante el período de muestreos el Centro se encontraba semi-operativo debido a encontrarse en obra. Se

seleccionaron los distintos ambientes bajo la hipótesis de encontrar mayor cantidad de organismos en (2) debido a los cultivos y menor cantidad en (1) debido a ser ese ambiente un depósito temporario conteniendo el droguero del Centro embalado en cajas de cartón. La selección de (3) correspondió a la percepción de olores similares a líquidos cloacales, producto de error de diseño del desagüe y consecuente reflujo.

En cada uno de estos sitios se tomaron al menos cinco réplicas con un caudal > 30 l/min durante 2 ó 5 minutos en diferentes momentos. La temperatura fue de $23^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$.

Los cultivos se dispusieron en cajas de Petri de 90 mm de diámetro con 50 cm³ de medio general agar-triptona-glucosa-extracto de levadura [6,7]. Las placas fueron cultivadas durante 24 a 72 horas a una temperatura de 25°C .

Todos los reactivos utilizados fueron de calidad analítica.

Resultados

Al comienzo del estudio fue necesario optimizar el volumen apropiado de muestreos realizados en los distintos ambientes variando el tiempo entre 2 y 5 minutos. El tiempo seleccionado fue de 5 minutos.

La máxima concentración fue encontrada en el cuarto de cultivo con $1.808 \pm 169 \text{ UFC/m}^3$ seguidas por el cuarto de lavado y el droguero, con $1.555 \pm 216 \text{ UFC/m}^3$ y $1.350 \pm 70 \text{ UFC/m}^3$ respectivamente (ver Fig. 2)

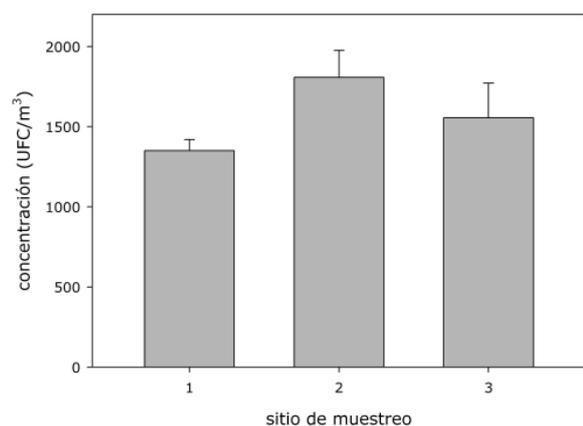


Fig. 2: Concentración de microorganismos en aire de distintos ambientes: 1) droguero, 2) cuarto de cultivo, 3) cuarto de lavado. El tiempo de muestreo fue de 5 minutos. UFC: unidades formadoras de colonias.

Las desviaciones estándar para 5 o más repeticiones en los muestreos no resultaron superiores al 15 %.

Las características morfológicas de las colonias en muestreos realizados en (2) y (3) resultaron compatibles mayoritariamente con bacterias, mientras que en (1) resultaron compatibles con hongos (ver Fig. 3).



Fig. 3: Colonias de aspecto pulverulento y/o filamentosas, compatibles con hongos en 1). Colonias de aspecto sedoso y con bordes definidos, compatibles con bacterias en 2) y 3).

Conclusiones

En el presente trabajo pudo observarse que:

- se pudieron cuantificar bioaerosoles en los distintos ambientes.
- la variabilidad <15 %, si bien alta para una determinación analítica, permitió en primera instancia diferenciar los sitios de muestreo por el número de microorganismos.
- si bien no fue el objetivo de esta etapa, pudieron notarse cualitativamente diferencias en la composición de los bioaerosoles.
- el número de colonias observado en el depósito/droguero, si bien menor que en el resto de los sitios, pudo deberse a la presencia de hongos asociados a las cajas de cartón contenedoras de los reactivos del droguero.

A la luz de estos resultados preliminares se destaca la importancia de poder realizar análisis diferenciales de composición de bioaerosoles para así poder detectar distintos tipos de organismos de relevancia para la salud humana.

Los autores agradecen la colaboración de Justina Garro y Carlos Di Leo de INTI-Ingeniería Ambiental y de Estela Planes de INTI-Química por sus valiosos aportes.

Referencias

- [1] K. U. Alwis, J. Mandryk, A. D. Hocking, "Exposure to biohazards in wood dust: Bacteria, fungi, endotoxins, and (1-3)-beta-D-glucans.", *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 14 (1999) pp 598-608.
- [2] J. Douwes, P. Thorne, N. Pearce, D. Heederik, "Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects" *Annals of Occupational Hygiene*, 3 (2003) pp 187-200.

-
- [3] F. Fung, W. G. Hughson, "Health effects of indoor fungal bioaerosol exposure", *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 18 (2003) pp 535-544.
- [4] C. A. Robbins, L. J. Swenson, M. L. Nealley, R. E. Gots, B. J. Kelman "Health effects of mycotoxins in indoor-air: A critical review ", *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 15 (2003) pp 773-784.
- [5] M. Yao, G. Mainelis, "Effects of physical and biological parameters on enumeration of bioaerosols by portable microbial impactors", *Journal of Aerosol Science*, 37 (2006) pp 1467-1483.
- [6] M. K. Lonon, "NIOSH 0800. Bioaerosols Sampler (Indoor Air). Culturable organisms: bacteria, fungi, thermophilic actinomycetes" *NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM) 4th ed.*, (1998).
- [7] S. M. Pendergrass, "NIOSH 0801. Aerobic Bacteria by GC-FAME". *NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM) 4th ed.*, (1998).

Para mayor información contactarse con:
Raúl Fabio Itria – rfitria@inti.gov.ar