

Análisis microbiológico de la calidad de agua y aire de las zonas de la Vela de Coro municipio Colina y Guaranao municipio Carirubana, Estado Falcón

Naimith Acosta
Arias Alcides,
Anaysmar Bracho
Jennire Colina
María González
Jesús Lugo
María Lugo
Mariana Martínez
Jesús Renedo
Francis Reyes
Hector Urbinar
Mariluz Toyo
José Araujo

Universidad Nacional Experimental
"Francisco de Miranda"
m.a.g.t92@gmail.com

Fecha de recepción: 30-05-2016 Fecha de aceptación: 18-06-2016

Resumen

El análisis de la calidad de aire y agua desde el punto de vista de la microbiología es una serie de procedimientos que permite diagnosticar la presencia de posibles entes patógenos que signifiquen un riesgo para las poblaciones cercanas a las zonas de estudio. El problema comienza cuando sus concentraciones sobrepasan los parámetros normales producto de que se generan las condiciones más idóneas para su desarrollo, tales como humedad y temperatura adecuadas (Cáceres, 1990). Este proyecto tiene como objetivos principales deter-

minar la presencia de microorganismos en aire y agua de la zona de La Vela Municipio Colina y Guaranao Municipio Carirubana del Estado Falcón y establecer la calidad ambiental del aire y agua en la zona de Guaranao. Para la recolección de las muestras de agua y aire se tomaron 5 y 3 estaciones respectivamente en forma aleatoria, con la finalidad de determinar los diferentes tipos de microorganismos presentes en las zonas muestreadas. Posteriormente se realizaron los cultivos pertinentes para poder ser estudiadas la morfología de los microorganismos presentes las cuales se pueden evidenciar que el estudio

de la calidad del agua de Guaranao en las estaciones 2 y 3 dieron positivos a la presencia de coliformes fecales. Mientras en la zona 1 (naciente de Guaranao) arrojó resultados negativos, las tinciones Gram de las cepas bacterianas permitieron diferenciar entre cocos Gram (+) y cocos Gram (-), en las cuales las poblaciones estimadas dieron resultado que las concentraciones microbianas en el aire exceden los rangos normales derivando en aires muy contaminados.

Palabras clave: calidad de agua; cocos gram; concentración microbianas

Microbiological analysis of water and air quality in the areas of Vela de Coro, Colina municipality and Guaranao, Carirubana municipality, Falcon state

Abstract

The analysis of air and water quality from the point of view of microbiology is a series of procedures that allows the diagnosis of the presence of possible pathogens that represent a risk for the populations near the study areas. The problem begins when their concentrations exceed the normal parameters due to the generation of the most suitable conditions for their development, such as adequate humidity and temperature (Cáceres, 1990). The main objectives of this project are to determine the presen-

ce of microorganisms in air and water in the area of La Vela Colina Municipality and Guaranao Carirubana Municipality of Falcon State and to establish the environmental quality of air and water in the Guaranao area. For the collection of water and air samples, 5 and 3 stations were taken respectively at random, in order to determine the different types of microorganisms present in the sampled areas. Later, the pertinent cultures were carried out to be able to study the morphology of the present microorganisms which can be evidenced that the study of the quality of the water of Guaranao

in the stations 2 and 3 gave positive to the presence of fecal coliforms. While in zone 1 (Guaranao's source) I show negative results, the Gram stains of the bacterial strains allowed to differentiate between Gram (+) and Gram (-) coco-nuts, in which the estimated populations gave result that the microbial concentrations in the air exceed the normal ranges deriving in very contaminated air.

Key words: water quality; coconuts Gram; microbial concentration

Introducción

Al igual que otros organismos, los microorganismos han sido objeto de estudio para la determinación de la calidad de los ecosistemas (Atlas y Richard 2005 citado en García L. y Pérez R. 2011), ya que cualquier alteración de los componentes abióticos agua, suelo y aire, influye directamente en los organismos vivos. Los microorganismos están presentes en todos los ambientes de manera natural, el problema comienza cuando sus concentraciones sobrepasan los parámetros normales; factores como la temperatura, la humedad relativa, el movimiento del agua y aire, la luz y las fuentes de alimento, principalmente, van a determinar el grado en que estos se encuentren en el ambiente (De La Rosa, M. et al. 2000). El análisis de la calidad de los componentes abióticos mencionados, desde el punto de vista de la microbiología, consiste en una serie de procedimientos que permite diagnosticar la presencia de posibles entes patógenos que signifiquen un riesgo para las poblaciones cercanas a las zonas de estudio.

Este estudio está orientado en la observación, identificación y cuantificación de los microorganismos presentes en los componentes de agua y aire, en las áreas muestreadas del Estado Falcón específicamente en La Vela Municipio Colina y en Guanao Municipio Carirubana. Dicho estudio comprende una serie de métodos que consisten en la recolección y análisis de muestras representativas de las estaciones seleccionadas. Por otra parte la cuantificación de las cepas bacterianas y fúngicas mediante el Número Más Probable (NMP)

y la Unidad Formadora de Colonias (UFC), tiene como finalidad determinar la calidad ambiental de las zonas muestreadas en Guanao.

Objetivos de la Investigación

- Determinar la presencia de microorganismos en aire y agua de la zona de La Vela Municipio Colina y Guanao Municipio Carirubana del Estado Falcón.
- Caracterizar las micromorfología y macromorfología de las cepas obtenidas en las muestras.
- Identificar el tipo de bacterias halladas mediante la aplicación del método de tinción de Gram.
- Cuantificar la población bacteriana en los componentes aire y agua, y cuantificar la población fúngica en el componente aire en la zona de Guanao.
- Establecer la calidad ambiental del aire y agua en la zona de Guanao.

Materiales y Métodos

Zonas de estudio

La primera zona de estudio comprendió el área de La Vela de Coro del Municipio Colina Estado Falcón. Para la recolección de las muestras de agua y aire se tomaron 5 estaciones en la playa de La Vela en forma aleatoria, con la finalidad de determinar los diferentes tipos de microorganismos presentes en las muestras.

La segunda zona de estudio comprendió el área de Guanao en la Península de Paraguaná del Municipio Carirubana Estado Falcón.

Para la recolección de las muestras de agua y aire se tomaron 3 estaciones en forma aleatoria, con la finalidad de determinar los diferentes tipos de microorganismos presentes en las muestras.

Toma de muestra

Recolección de las muestras de agua en las zonas de La Vela y Guanao: se realizó la toma directa de la muestra en el cuerpo de agua sumergiendo un pequeño frasco de plástico para tomar cada una de las muestras. Se identificó con una etiqueta cada muestra de agua recolectada.

Recolección de las muestras de aire en las zonas de La Vela y Guanao: se realizó el método de Sedimentación pasiva, el cual consistió en dejar placas abiertas que contenían medio de cultivo de agar nutritivo (AN) y de papa agar dextrosa (PDA) respectivamente, durante 10 minutos aproximadamente, se esperó que las corrientes de aire depositaran a los microorganismos suspendidos en el interior de las placas.

Preparación de los medios de cultivo y caracterización de microorganismos de La Vela y Guanao: se realizó el conteo de las cepas en placas de AN y PDA de las muestras de aire recolectadas en la zona de Guanao: se contabilizó el número de cepas crecidas del 26 al 27 de julio, es decir al día siguiente de la toma de las muestras.

Preparación de los medios de cultivo de las muestras de agua recolectadas en la zona de Guanao: se tomaron 10 mL de cada muestra para colocar-

los en un frasco junto con 90 mL de agua destilada, dando un total de 100 mL de solución. La muestra madre se diluyó seriadamente transfiriendo un 1 mL a un tubo de ensayo con 10 mL de agua destilada. Cada transferencia corresponde a una dilución de 1 en 10, repitiéndose este procedimiento hasta alcanzar la dilución de . En cada tubo de ensayo se vertieron 10 mL de caldo Lauril Triptosa Fosfato Triple Concentrado, introduciéndose un tubo Durham o de fermentación, teniendo cuidado de expulsar el aire de cada uno.

Recopilación fotográfica de placas de AN y PDA: se fotografiaron cada una de las placas de aire de AN y PDA de la zona de Guaranao. Caracterización de la Macromorfología de los medios de cultivo de aire en las zonas de La Vela y Guaranao: se consideró el Borde, Color, Forma y Elevación de cada cepa de bacterias identificadas en las placas de AN y de cada cepa de hongos identificadas en las placas de PDA.

Caracterización de la Micromorfología de los medios de cultivo de aire en las zonas de La Vela y Guaranao: consistió en la tinción de Gram para las placas de AN y en la preparación de Microcultivos de Hongos para las placas de PDA de la siguiente manera:

a) Tinción de Gram para las placas de AN: primeramente, se tomó una muestra de cada cepa identificada de los medios de cultivo de AN, extendiéndose en un portaobjetos (añadiendo una gota de agua destilada si la muestra se encontraba muy pastosa), para fijar con alcohol y flamear en el mechero. Posteriormente se colocó cada muestra fijada en cristal violeta por intervalo de 1 minuto, seguidamente en lugol por intervalo de 1 minuto, la decoloración de la muestra con alcohol y acetona por intervalo de 30 segundos, y por último en safrarina (colorante de contraste) por intervalo de 1 minuto. Después de haber dejado secar cada portaobjetos, se visualizaron cada una de las muestras teñidas en el

microscopio óptico.

b) Microcultivos de Hongos para las placas de PDA: primeramente, al cubrir el fondo de placas de Petri estéril con papel absorbente humedecido, sobre éste se colocó una pipeta Pasteur en cada una de las placas como soporte para el portaobjetos, cortándose con un bisturí pequeños bloques cuadrados de PDA de 1 cm cada uno provenientes de otras placas de Petri sin usar, para colocarlos en las placas de Petri estériles. Con una aguja de inoculación, se extrajo cada cepa de hongos identificadas en los medios de cultivo de PDA, correspondiendo cada cepa con un bloque diferente cada una, y sobre cada bloque un cubreobjetos para por último tapar las placas de Petri.

Resultados

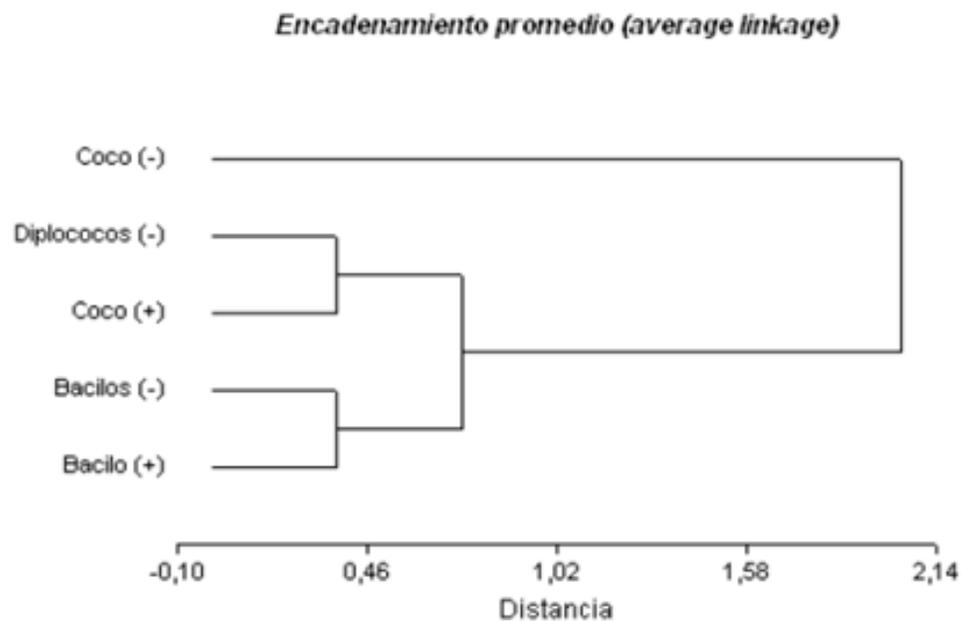
Zona de estudio de la Vela.

Tabla 1. Caracterización por Macromorfología y Micromorfología de cepas bacterianas aisladas del componente Aire, La Vela, Falcón, Venezuela.

Cepa	Micromorfología	Macromorfología		
		Color	Forma	Borde
AE1ANA	Diplococo (-)	Amarillo	Irregular	Entero
AE1ANB	Coco (-)	Blanco	Redonda	Entero
AE1ANC	Bacilo (+)	Crema	Redonda	Entero
AE2ANA	Diplococos y Bacilos (-)	Crema	Redonda	Entero
AE3ANA	Bacilo (+)	Rosado	Redonda	Entero
AE3ANB	Coco (-)	Amarillo	Redonda	Entero
AE3ANC	Bacilo (-)	Beige	Redonda	Entero
AE3AND	Bacilos (+) y Cocos (-)	Naranja	Redondo	Entero
AE3ANE	Coco (-)	Crema	Irregular	Ramificado
AE4ANA	Cocos y Bacilos (-)	Crema	Irregular	Ramificado
AE4ANB	Cocos y Bacilos (-)	Marrón claro	Irregular	Ramificado
AE5ANA	Coco (+)	Marrón	Redondo	Ramificado
AE5ANB	Coco (-)	Crema	Redondo	Ramificado
AE5ANC	Coco (-)	Amarillo	Redondo	Entero

Tabla 2. Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III) del componente Aire de La Vela.

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	112,94	4	28,24	9,63821695844E15	<0,0001
Micromorfología	112,94	4	28,24		sd sd
Error	0,00	12	0,00		
Total	112,94	16			



Gráfica 1. Comportamiento y Distribución de las cepas bacterianas del componente Aire de La Vela

Zona de estudio de Guaranao

Tabla 3. Caracterización por Macromorfología y Micromorfología de cepas bacterianas aisladas del componente Aire, Guaranao, Falcón, Venezuela.

Cepa	Micromorfología	Color	Forma	Borde
AE2ANA	Coco (-) (+)	Beige	Irregular	Entero
AE2ANB	Coco (-)	Beige	Redonda	Entero
AE2ANC	Coco (+)	Blanco	Redonda	Entero
AE2AND	-----	Amarillo	Irregular	Entero
AE3ANA	Coco (-)	Blanco	Irregular	Ramificado
AE3ANB	-----	Blanco	Redondo	Entero
AE4ANA	Coco (-)(+)	Blanco	Irregular	Ramificado
AE4ANB	Coco (-)	Blanco	Redondo	Entero
AE4ANC	-----	Amarillo	Redonda	Entero

Cálculo de UFC/ en el componente aire Guaranao, por el método de sedimentación pasiva:

X: número de microorganismos en el aire (UFC/).

a: número de colonias en la placa de Petri.

: Superficie de la placa de Petri.
 t: tiempo de exposición (minutos).

Cálculo de UFC/ para cepas bacterianas:

Estación 2:

Estación 3:

Estación 4:

Cálculo de UFC/ para cepas de hongos:

Estación 2:

Estación 3:

Estación 4:

Tabla 4. Promedio aritmético en los niveles de concentración de bacterias (UFC/) en el aire según la OMS

Nivel de contaminación		Estación 2	Estación 3	Estación 4
Muy Bajo				
Bajo	25-100			
Intermedio	100-500			
Alto	500-2000			
Muy alto				

Tabla 5. Promedio aritmético en los niveles de concentración de hongos (UFC/) en el aire según la OMS

Nivel de contaminación		Estación 2	Estación 3	Estación 4
Muy Bajo				
Bajo	25-100			
Intermedio	100-500			
Alto	500-2000			
Muy alto				

Tabla 6. Índices NMP (Número Más Probable) y límites de confianza de 95% para varias combinaciones de resultados positivos y negativos, cuando se utilizan 5 tubos con 10ml de muestra de agua de Guaranao

Muestra	N° de Tubo Positivo	Índice/100 ml de la muestra	Límites de confianza
			de 95% Inferior
E2 Laguna de Guaranao	3	9,2	1,6
E3 Debajo del Puente	3	9,2	1,6
E4 Naciente Guaranao	0	≤2,2	0

Discusión

Zona de estudio de La Vela

Tras realizar la tinción de Gram a las cepas bacterianas del aire, crecidas en las placas que contenían AN y observarlas en el microscopio óptico, se determinó la presencia de Diplococos Gram Negativos (-), Cocos y Bacilos Gram Positivos (+) y Gram Negativos (-) respectivamente (ver tabla 1). En base a estos datos y mediante el uso del programa estadístico Infostat, se realizó el análisis por conglomerado para las variables de micromorfología y el número de aparición por estación. La distancia Euclidiana empleada por R. López et al. (1998), indicó el grado de relación existente entre el comportamiento de las distintas bacterias, siendo los más cercanos los Diplococos (-) con los Cocos (+) y los Bacilos (-) con los Bacilos (+) y los más alejados fueron los Cocos (-) con una relación más distante con los grupos ya mencionados (ver gráfica 1).

Zona de estudio de Guaranao

Tras realizar la tinción de Gram a las cepas bacterianas del aire, crecidas en las placas que contenían AN y observarlas en el microscopio óptico; en el componente aire se determinó la pre-

sencia de Cocos Gram Positivos (+) y Gram Negativos (-) (ver tabla 3). Para la evaluación de la calidad del aire de las tres estaciones, se realizó la cuantificación de colonias mediante el cálculo de la Unidad Formadora de Colonias (UFC), conociendo este parámetro, la cantidad sembrada y la dilución correspondiente, esta técnica permite evaluar el número de microorganismos viables en la muestra original (García E. et al., 2009), permitiendo comparar el nivel de contaminación estándar con el número de colonias bacterianas y fúngicas crecidas en las placas de AN y PDA respectivamente, estableciéndose que para cada estación el nivel de contaminación es Muy Alto (ver tablas 4 y 5), debido a que las colonias cuantificadas representan un valor mayor a 2000 UFC/.

Seguidamente al realizar la cuantificación del Número Más Probable (NMP) para las bacterias coliformes fecales, se evaluó la calidad del agua en las tres estaciones, siguiendo el procedimiento dictado por la norma venezolana COVENIN 3047-93 (1993); mostrando que en las estaciones dos y tres se obtuvo una densidad poblacional de coliformes fecales mayor que en la estación 4 (ver tabla 6), por lo que en las dos primeras se evidencia una mayor contaminación.

Conclusiones

La identificación de los tipos de microorganismos recolectados en las estaciones de la zona de estudio de La Vela, permitió conocer el grado de diferencia del comportamiento entre las cepas, en cuanto a su desarrollo y utilización de los recursos. Con la descripción de los microorganismos encontrados en las estaciones de Guaranao y su posterior cuantificación, se pudo establecer la calidad ambiental del agua y el aire de la zona. La alta contaminación que resultó del estudio indica la presencia de agentes patógenos; a los cuales se pudiera determinar la especie y el género de los mismos y conocer si representan un elevado riesgo para la comunidad circundante en posteriores investigaciones.

Agradecimientos

El presente trabajo fue posible gracias a la voluntad expresa de todos los participantes del mismo, a la tutoría del Profesor José Araujo quien de manera muy profesional guió al equipo de estudiantes en todas las fases del estudio y a la Universidad Nacional Experimental "Francisco de Miranda" la cual aportó los recursos necesarios.

Referencias Bibliográficas

De La Rosa, M. et al. (2000). *Calidad microbiológica del aire de una zona limpia en una industria farmacéutica*. Disponible en: <http://93.189.33.183/index.php/aranf/article/viewFile/43/82>

García, E. (2009). *Prácticas de Microbiología*. Disponible en: <http://www.uib.es/depart/dba/microbiologia/micro2/practicass.pdf>

López, R. et al. (1998). *Tolerancia a diferentes tenores de NaCl en cepas de Rhizobium aisladas de leguminosas Pratenses*. Disponible en: <http://payfo.ihatuey.cu/Revista/v22n1/pdf/pyf06199.pdf>

Venezuela, COVENIN. (1993). *Agua Potable: método de determinación del número más probable de bacterias coliformes*. Caracas: Comités y Comisiones Técnicas de Normalización.