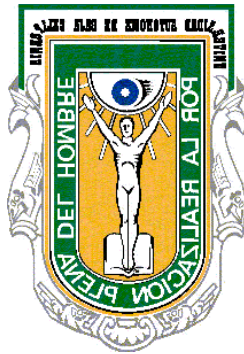


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS E INGENIERIA  
MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERIA



TESIS

Evaluación espacio-temporal de consorcios microbianos en la cuenca  
atmosférica de la ciudad de Tijuana, B. C.

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

**MSP LILIA ANGELICA HURTADO AYALA**

DIRECTOR DE TESIS

**DR. JOSE GUILLERMO RODRIGUEZ VENTURA<sup>†</sup>**

CO-DIRECTOR DE TESIS

**DRA. MARIA EUGENIA PEREZ MORALES**

**Universidad Autónoma de Baja California**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA**  
**COORDINACIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

FOLIO No. 150

Tijuana, B. C., a 24 de julio de 2015

**C. Lilia Angélica Hurtado Ayala**  
**Pasante de: Doctor en Ciencias**  
**Presente**

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la  
Opción TESIS

Es propuesto, por la C. Dra. María Eugenia Pérez Morales

Quienes serán los responsables de la calidad del trabajo que usted presente,  
referido al tema: “Evaluación espacio-temporal de consorcios microbianos en  
la cuenca atmosférica de la ciudad de Tijuana, B. C.”

el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I.- INTRODUCCIÓN
- II.- ANTECEDENTES
- III.- JUSTIFICACION
- IV.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
- V.- HIPOTESIS Y OBJETIVOS
- VI.- METODOLOGIA
- VII.- RESULTADOS DISCUSION
- VIII.- CONCLUSION


  
\_\_\_\_\_  
Q. Noemi Hernández Hernández  
**Secretario**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS  
QUÍMICAS E INGENIERÍA

  
\_\_\_\_\_  
Dra. María Eugenia Pérez Morales  
**Directora de Tesis**

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Luis Enrique Palafox Maestre  
**Director**

---

## Resumen

---

**Antecedentes.** El ambiente no se considera un hábitat para los microorganismos, pero pueden existir en la atmósfera como bioaerosoles. Estos microorganismos en el ambiente tienen gran importancia ambiental a través de su influencia en los procesos físicos como la nucleación de hielo y la formación de gotas de nube. Microorganismos patógenos transportados por el aire también pueden tener consecuencias para la salud pública.

**Objetivo.** Estudiar la variación espacio-temporal de consorcios microbianos en la cuenca atmosférica de la Ciudad de Tijuana, B. C., sus posibles correlaciones con las variables meteorológicas, para contribuir a la comprensión del efecto de la composición biológica en la calidad del aire.

**Material y Métodos.** Las muestras se recogieron por impactación con el analizador de aire Millipore M Air T, seguido de incubación y contando como unidades formadoras de colonias (UFC) las bacterias viables, identificación de género y especie, y la investigación de bacterias patógenas presentes en el aire.

**Resultados.** Los niveles promedio de contaminación microbiana aerotransportadas oscilaron entre un mínimo de  $230 \pm 130$  CFU / m<sup>3</sup> en el sitio de referencia de la playa a un promedio de  $40.100 \pm 21.689$  UFC / m<sup>3</sup> en el río Tijuana.

**Conclusiones.** Se encontró la más alta carga microbiana en el verano y los valores más bajos en el invierno. Bacterias potencialmente patógenas se aislaron de las muestras, con *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis* siendo los más comunes. Este trabajo es la primera evaluación de bioaerosoles en Tijuana, México.

---

## Abstract

---

**Background.** The atmosphere is not considered an habitat for microorganisms, but can exist in the atmosphere as bioaerosols. These microorganisms in the atmosphere have great environmental importance through their influence on physical processes such as ice nucleation and cloud droplet formation. Pathogenic airborne microorganisms may also have public health consequences.

**Objective.** To study the spatial and temporal variation in microbial consortia airshed of the Tijuana, B. C., possible correlations with meteorological variables, to contribute to the understanding of the effect of the biological composition in air quality.

**Methods.** Samples were collected by impaction with the air analyzer Millipore M Air T, followed by incubation and counting as colony forming units (CFU) of viable colonies, and genus and species identification and research of pathogenic bacteria present in the air.

**Results.** Airborne microbial contamination average levels ranged from a low of 230  $\pm$ 130 CFU/m<sup>3</sup> in the coastal reference site to an average of 40,100  $\pm$ 21689 CFU/m<sup>3</sup> in the Tijuana river valley.

**Conclusions.** It was found the highest microbial load in the summer and the lowest values in the winter. Potentially pathogenic bacteria were isolated from the samples, with *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis* being most common. This work is the first evaluation of bioaerosols in Tijuana, Mexico.

## DEDICATORIA

Al Dr. José Guillermo Rodríguez Ventura por su amor y dedicación a la investigación, por su trabajo y desempeño fructífero reflejado en cada uno de sus estudiantes. Por su sagacidad y tenacidad para vencer todos los obstáculos que aparecen en la vida y continuar siempre adelante, por enseñarnos que no hay fronteras ni límites que no podemos franquear, por ser un ejemplo de padre, hombre y maestro. Este trabajo es por él y dedicado a él hasta donde este.

“No os dejéis corromper por un escepticismo estéril y deprimente; no os desalentéis ante la tristeza de ciertas horas que pasan sobre las naciones. Vivid en la serena paz de los laboratorios y las bibliotecas. Preguntaos primero: ¿Qué he hecho por instruirme? y, después, al ir progresando. ¿Qué he hecho por mi patria? Hasta que llegue el día en que podáis sentir la íntima satisfacción de pensar en que de alguna manera habéis contribuido al progreso y bienestar de la humanidad”.

***Louis Pasteur***

<b>Resumen</b>	<b>i</b>
<b>Abstract</b>	<b>ii</b>
<b>Índice</b>	<b>v</b>
<b>Índice de tablas</b>	<b>vi</b>
<b>Índice de figuras</b>	<b>vii</b>
<b>Índice de graficas</b>	<b>viii</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II. ANTECEDENTES</b>	
II.1. Contaminación atmosférica	4
II.2. Aerosoles	5
II.2.1. Bioaerosoles	6
II.2.2. Fuentes de generación de bioaerosoles	8
II.2.2.1. Tratamiento de aguas residuales	10
II.2.2.2. Rellenos sanitarios	11
II.2.2.3. Producción agrícola y ganadera.	12
II.3. Composición de los bioaerosoles	13
II.3.1. Microorganismos	13
II.3.1.1. Bacterias.	14
II.3.1.2. Hongos	16
II.3.1.3. Virus	16
II.4. Viabilidad de los bioaerosoles	16
II.5. Factores ambientales y temporales que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los bioaerosoles	17
II.5.1. Radiación Solar	19
II.5.2. Humedad Relativa (HR).	19
II.5.3. Precipitación	20
II.5.4. Presión atmosférica	20
II.5.5. Temperatura	21
II.5.6. Factores temporales.	21
II.6. Mecanismos Atmosféricos de Dispersión	22
II.6.1. Viento	23
II.6.2. Estabilidad	23
II.6.3. Altura máxima de mezclado	24
II.6.4. Rosa de vientos	24
II.6.5. Turbulencia	24
II.6.6. Efecto de la topografía	25
II.7 Efectos de los bioaerosoles sobre la salud.	25
II.7.1. Enfermedades infecciosas	26
II.7.1.2. Enfermedades infecciosas bacterianas	28
II.7.1.2. Infecciones fúngicas	29
II.7.1.3. Infecciones virales	30

---

---

II.7.1.4. Infecciones parasitarias y por Actinomicetos.	30
II.7.2. Enfermedades respiratorias	30
II.7.3. Enfermedades Oncológicas	33
II.8. Muestreo de bioaerosoles	34
II.8.1 Equipos de muestreo de bioaerosoles.	34
II.8.1.1. Gravitación o impactación natural	34
II.8.1.2. Impactación.	35
II.8.1.2.1. Muestreador Andersen	35
II.8.1.2.2. Muestreadores multiorificio	36
II.8.1.3. Centrifugación o Muestreador RCS (Reuter Centrifugal Sampler).	37
II.8.1.4. Frascos borboteadores (Impingers).	38
II.9. Normativa relacionada con bioaerosoles y niveles máximos permisibles.	39
<b>III. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>40</b>
<b>IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>42</b>
<b>V. HIPOTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>43</b>
Hipótesis	43
Objetivo General	43
Objetivos Específicos	43
<b>VI. METODOLOGÍA</b>	<b>44</b>
VI.1. Tipo de estudio	44
VI.2. Espacio-Temporal	44
VI.3. Tipo de Muestra	44
VI.4. Análisis estadístico	44
VI.5. Límite de estudio	45
VI.6. Variables del Estudio	45
VI.7. Materiales y Métodos	45
VI.7.1 Sitios de muestreo	45
VI.7.2. Toma de muestras y datos meteorológicos	47
VI.7.3. Análisis bacteriano	48
<b>VII. RESULTADOS DISCUSIÓN</b>	<b>49</b>
VII.1. Concentración microbiana	49
VII.2. Diversidad bacteriana	51
VII.3. La variación estacional en la contaminación microbiana del aire	53
VII. 4. Condiciones meteorológicas	56
<b>VIII. DISCUSIÓN</b>	<b>58</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>62</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>64</b>
<b>CIBERGRAFÍA</b>	<b>77</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>78</b>
<b>ANEXO 1</b> Zonas de muestreo de la ciudad de Tijuana	78
<b>ANEXO 2</b> Fotografías de sitios de muestreo	83
<b>ANEXO 3</b> Tabla de corrección estadística de Feller para tapa del orificio	88

---

---

<b>ANEXO 4</b>	Equipo de muestreo	<b>89</b>
<b>ANEXO 5</b>	Fotografías de resultados	<b>91</b>

---

---

## Índice de Tablas y figuras

---

### Tablas

---

<b>1</b>	Composición biológica de los bioaerosoles	<b>6</b>
<b>2</b>	Fuentes potenciales de producción de bioaerosoles	<b>10</b>
<b>3</b>	Géneros bacterianos más aislados de bioaerosoles	<b>15</b>
<b>4</b>	Sitios de muestreo en la ciudad de Tijuana	<b>46</b>
<b>5</b>	Promedio de la concentración microbiana en el aire en los diferentes sitios estudiados (Mañana)	<b>50</b>
<b>6</b>	Promedio de la concentración microbiana en el aire en los diferentes sitios estudiados (Tarde)	<b>50</b>
<b>7</b>	Frecuencias de géneros bacterianos más comunes de bacterias patógenas aisladas (Gram negativo y Gram positivo).	<b>52</b>
<b>8</b>	Promedio de las condiciones meteorológicas por sitio de muestreo	<b>57</b>
<b>9</b>	Comparación de las concentraciones en el aire de bacterias obtenidas en Tijuana con otros lugares del mundo.	<b>61</b>

---

### Figuras

---

<b>1</b>	Clasificación de los aerosoles atmosféricos	<b>5</b>
<b>2</b>	Placa RODAC para muestreo gravitacional o impactación natural	<b>35</b>
<b>3</b>	Muestreador Andersen	<b>36</b>
<b>4</b>	Muestreadores multiorificio	<b>37</b>
<b>5</b>	Muestreador RCS (Reuter Centrifugal Sampler).	<b>37</b>
<b>6</b>	Muestrador AGI-30 (All glass impinger).	<b>38</b>
<b>7</b>	Mapa de sitios de muestreo	<b>46</b>

---

---

## Índice de Graficas

---

---

<b>1</b>	Porcentajes de bacterias Gram positivas y Gram negativas encontradas en las muestras.	<b>51</b>
<b>2</b>	Morfología celular de las bacterias encontradas en las muestras de aire	<b>51</b>
<b>3</b>	Porcentaje de Géneros bacterianos presentes en el aire	<b>52</b>
<b>4</b>	Concentración microbiana en el sitio CM1 muestreado durante la campaña Cal-Mex 2010.	<b>53</b>
<b>5</b>	Concentración microbiana en el sitio CM2 muestreado durante la campaña Cal-Mex 2010.	<b>54</b>
<b>6</b>	Concentración microbiana en el sitio CM3 muestreado durante la campaña Cal-Mex 2010	<b>54</b>
<b>7</b>	Distribución estacional de la concentración de bacterias en el aire de las zonas muestreadas en Tijuana durante el período de un año 2011-2013 (Mañana)	<b>55</b>
<b>8</b>	Distribución estacional de la concentración de bacterias en el aire de las zonas muestreadas en Tijuana durante el período de un año 2011-2013 (Tarde).	<b>55</b>
<b>9</b>	Gráfico de dispersión entre el muestreo de mañana y tarde de un mismo sitio	<b>56</b>

---



---

## I. Introducción

---

En los últimos años, la generación de aerosoles atmosféricos se está acelerando por efectos ligados al cambio climático y es sabido que en ellos viajan millones de microorganismos en suspensión. La magnitud de este fenómeno y sus consecuencias ambientales y de salud han comenzado a surgir, tales como plagas, alergias y enfermedades, por lo que el aire se considera una fuente de contaminación microbiana que contribuye a la incidencia de enfermedades respiratorias y gastrointestinales humanas y animales. La atmósfera no tiene una microbiota autóctona, pero es un medio para su dispersión rápida y global (Colbeck, 2008). Es conocido que cada vez los microorganismos tienen condiciones más favorables para su proliferación en este medio y mutan para lograr adaptaciones para su supervivencia y propagación a través de los movimientos del aire. La presencia de microorganismos en la atmósfera urbana se debe a las emisiones de Bioaerosoles donde las principales fuentes son las actividades antropogénicas, como la producción agrícola, los sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales, rellenos sanitarios y actividades ganaderas (Pascual et al. 2003). Esto representa un riesgo constante y parcialmente moderado para la salud pública en función de las condiciones ambientales en un determinado sitio, en especial en ciudades cosmopolitas como Tijuana, que además combinan zonas de intenso tráfico vehicular, áreas verdes, sitios de producción agrícola, y de pobreza extrema, aunado a las características especiales como ciudad fronteriza, que es afectada por el transporte de emisiones en ambas direcciones de la frontera.

Se ha generado un creciente interés sobre los aerosoles tanto a nivel internacional, nacional y local, debido a su fácil penetración en el cuerpo humano a través de las vías

respiratorias, sus propiedades biológicas, efectos tóxicos agudos, asma, enfermedades inflamatorias de pulmón y cáncer, convirtiéndose en un serio problema de salud pública (Bernstain et al., 2008). El propósito de este estudio es la caracterización de los microorganismos encontrados en el aire en diversas áreas de la ciudad de Tijuana, para identificar los factores ambientales y de contaminación que se interrelacionan con la presencia de microorganismos en el aire. El procedimiento llevado a cabo incluyó muestreos en campo, análisis de laboratorio y recolección de datos de estaciones portátiles. Se demostró que no sólo están presentes en el aire las bacterias responsables de las enfermedades respiratorias, sino que hay un número importante de patógenos oportunistas, que pueden causar infecciones en los ojos, piel, vías urinarias, articulaciones y meninges; cuando el organismo está inmunosuprimido y permite su desarrollo.

---

## II. Antecedentes

---

La contaminación del aire en las zonas urbanas y ciudades es una causa conocida de la enfermedad respiratoria (OMS, 2005). El material particulado ( $PM_{10}$  y  $PM_{2.5}$ ) es un indicador de uso común de la contaminación atmosférica (Rojas, 2005). Un riesgo adicional de contaminación por partículas puede ser los microorganismos asociados a la contaminación del aire (Balasubramanian et al., 2003). Algunos estudios han demostrado que las bacterias responsables de enfermedades respiratorias pueden estar presentes en el aire, así como un número significativo de patógenos oportunistas que pueden causar infecciones de los ojos, de la piel y del tracto urinario (Cardona 2003; Douwes et al., 2003; Perdomo, 2009 y Toivola et al., 2002). Aunque la troposfera se ha considerado hostil para los microorganismos, algunos han sido capaces de adaptarse a ella. Ciertas bacterias y sus muchos metabolitos afectan la química atmosférica a través de procesos físicos como la nucleación del hielo y la formación de gotas de las nubes, también pueden afectar el clima global y el ciclo hidrológico (Bauer et al., 2003). La deposición húmeda o seca ha sido considerada como un mecanismo para la entrada de patógenos en la tierra (Jones y Harrison, 2004) y los sistemas acuáticos (Kaushik y Balasubramanian, 2012). Estudios recientes se han centrado en dilucidar el mecanismo por el cual los procesos atmosféricos como tormentas y huracanes afectan a la composición y función de las comunidades microbianas para mejorar los modelos de dispersión de enfermedades microbianas y biogeografía (De León et al., 2013). Sin embargo, debido a dificultades en la toma de muestras, las comunidades microbianas troposféricas siguen siendo mal caracterizadas. En general, la presencia de microorganismos en el aire urbano se produce como resultado de

actividades antropogénicas, las fuentes principales son la producción agrícola (Dungan y Leytem, 2009), el tratamiento biológico de aguas residuales, el compostaje, la reutilización de los residuos sólidos y rellenos sanitarios (Karra, et al., 2007; Flores et al., 2007).

## **II.1. Contaminación atmosférica**

El acelerado avance en la ciencia y la tecnología ha permitido el mejoramiento del nivel de vida en las zonas urbanas del mundo, con un incremento de la manufactura, vehículos, industria alimenticia, de construcción, etc.; aunado a este desarrollo ha aumentado la contaminación de la atmósfera por residuos o productos secundarios gaseosos, sólidos o líquidos, que pueden poner en peligro la salud del hombre de las plantas y animales, corrosión de diversos materiales, reducción de la visibilidad o producción de olores desagradables (Brodie et al., 2007). La concentración de los contaminantes se reduce al dispersarse éstos en la atmósfera, proceso que depende de factores climatológicos como la temperatura, la velocidad del viento, el movimiento de sistemas de altas y bajas presiones y la interacción de éstos con la topografía local (Jones y Harrison, 2004).

La contaminación del aire, se evalúa bajo parámetros convencionales identificados como contaminantes criterio: partículas, gases, metales y contaminantes secundarios formados en el aire, una vez son emitidos a la atmósfera (Pérez et al., 2006).

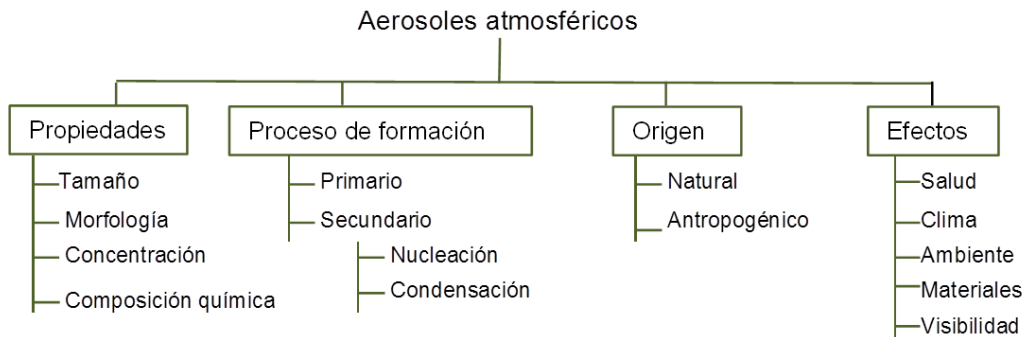
## II.2. Aerosoles

El aire atmosférico es más que una mezcla de nitrógeno, oxígeno, dióxido de carbono y otros gases, existen también numerosas partículas pequeñas, así como elementos vivos que están asociadas al polvo inerte en suspensión, incluyendo el polen, virus, esporas y células de bacterias así como hongos (De la Rosa et al., 2002).

El aerosol atmosférico se refiere a cualquier líquido a excepción del agua pura, y a las partículas sólidas suspendidas en la atmósfera. Los aerosoles atmosféricos son heterogéneos, que consisten en una gran variedad de partículas con diferentes propiedades físico-químicas, proceso de formación y origen. Este tipo de aerosol cae en los rangos de tamaño de 0.001-100  $\mu\text{m}$  (Willeke y Barón, 1993). Pueden ser emitidos directamente llamándolos aerosoles primarios o formado de una conversión de gas de partículas que se denominan aerosoles secundarios y provienen de fuentes naturales o antropogénicas.

Los aerosoles atmosféricos se clasifican de acuerdo a sus diferentes características como: propiedades físico-químicas, proceso de formación, origen y efectos (Figura 1).

**Figura 1.** Clasificación de los aerosoles atmosféricos



*Adaptado de: Caracterización Química y Morfológica del Aerosol Ambiental en las Fracciones PM10 y PM2.5 mediante Microscopía Electrónica de Barrido en Episodios de Contaminación Atmosférica de Origen Diverso. Coz Diego Esther.2008*

## II.2.1. Bioaerosoles.

Los bioaerosoles se pueden definir como partículas transportadas por el aire, constituidos por partículas finas, moléculas de tamaño grande, compuestos orgánicos volátiles, materiales vivos o que proceden de un organismo vivo. Estas partículas suspendidas en el aire varían en tamaños que van desde 0.1 a 100 micras de diámetro. Los materiales biológicos pueden ser desde bacterias, virus, hongos y sus productos metabólicos, hasta polen, pequeños insectos y sus residuos., algunos ejemplos se mencionan en la Tabla 1 (Urbano, 2011).

Tabla 1. Composición biológica de los bioaerosoles

Organismo	Unidad transportada	Ejemplo de organismos	Efectos humanos primarios	Tipos de vida	Fuentes
Bacteria	Organismos	<i>Legionella</i>	Neumonía	Parásitos facultativos	Torres de refrigeración
	Esporas	<i>Termoactinomyces</i>	Neumonía	Saprotitos	Fuente de agua caliente
	Productos	Endotoxinas Proteasas	Fiebre, escalofríos Asma	-	Reservorio agua estancada Procesos industriales
Hongos	Organismos	<i>Sporobolomyces</i>	Neumonía	Saprotitos	Superficies ambientales húmedas
	Esporas	<i>Alternaria</i> <i>Histoplasma</i>	Asma (Rinitis) Infección sistémica	Saprotitos Facultativo	Aire exterior Excremento aves
	Antígenos	Glicoproteínas	Asma (Rinitis)	-	Aire exterior
	Toxinas Volátiles	Aflatoxinas Aldehídos	Cáncer Irritación mucosas	-	Superficies mojadas Superficies mojadas
Protozoos	Organismos	<i>Naoglersis</i>	Infección	Parásito	Reservorio agua contaminada
	Antígenos	<i>Acarnihamaebs</i>	Neumonía	-	
Virus	Organismos	Gripe	Infección resp.	Parásito	Hospedero humano
Algas	Organismos	<i>Chlorococcus</i>	Asma, rinitis	Autótrofo	Aire exterior
Plantas verdes	Polen	<i>Ambrosia spp.</i>	Asma, rinitis	Autótrofo	Aire exterior
Artrópodos	Heces	<i>Dermatophagoides</i>	Asma, rinitis	Fagótrofo	Polvo casero
Mamíferos	Escamas de piel, saliva	Caballos Gatos	Asma, rinitis	Autótrofo	Caballos y gatos

Adaptado de: NTP 288. Síndrome del edificio enfermo: enfermedades relacionadas y papel de los bioaerosoles. Ministerio de trabajo y asuntos sociales. España (2003).

En los bioaerosoles se pueden encontrar los microorganismos tanto viables como no viables, cultivables o no cultivables, fragmentos de estos, toxinas y productos de su metabolismo (Amann, Ludwig y Schleifer KH., 1995).

El aire no puede considerarse como un simple medio de dispersión y transporte de estos bioaerosoles, ya que algunos microorganismos han desarrollado adaptaciones que favorecen su supervivencia y dispersión a través de los movimientos del aire. La troposfera puede proporcionar un hábitat temporal para los microorganismos (Atlas y Bartha, 2002).

Los bioaerosoles se transportan unidos a otras partículas, tales como escamas, piel, tierra, polvo, saliva y gotitas de agua (Nasir y Colbeck, 2010), siendo las principales vías de exposición para el ser humano la inhalación, ingestión y contacto con la piel (Sánchez-Monedero, Roig, Cayuela y Stentiford, 2006).

La humedad proporciona el agua que necesitan, la intensidad lumínica y la concentración de dióxido de carbono presente en la troposfera es suficiente para el crecimiento de organismos fotoautótrofos, y en el caso de los organismos heterótrofos los nutrientes minerales los proporciona el material particulado que se encuentre conformando el bioaerosol. (Wu et al., 2003).

La concentración de microorganismos presentes en el aire se expresa como unidades formadoras de colonia por metro cúbico de aire succionado ( $\text{UFC}/\text{m}^3$ ), la viabilidad de que estén presentes depende de factores climáticos tales como temperatura, brillo solar y viento. (Sánchez-Monedero, Roig, Cayuela y Stentiford, 2006).

## II.2.2. Fuentes de generación de bioaerosoles

Los bioaerosoles son parte de la biosfera de los seres humanos y se encuentran en todas partes en el aire ambiental. Para que se llegue a producir un aerosol a partir de un organismo o sus partes, se requieren tres condiciones: la presencia de un reservorio, un proceso de amplificación, y la diseminación o aerosolización (Dungan y Leytem 2009).

El reservorio es el lugar donde, de forma natural, se encuentra un organismo. Existen microorganismos parásitos obligados y parásitos facultativos, los primeros son aquellos como los virus que solo pueden crecer en hospederos vivos, algunas bacterias y determinados hongos también son parásitos obligados, por lo cual no pueden sobrevivir en reservorios ambientales (Coz et al., 2008).

Los parásitos facultativos como la mayoría de las bacterias y hongos pueden desarrollarse en materia orgánica no viva, por lo tanto pueden sobrevivir y multiplicarse en reservorios ambientales (Dungan y Leytem 2009).

La amplificación o multiplicación es el aumento en número o en concentración de los organismos, sus partes o componentes. Proceso imprescindible para la dispersión de las partículas del bioaerosol. En los parásitos obligados la amplificación se lleva dentro del hospedero como es el caso del virus de la gripe, y se disemina en el ambiente a partir de microcápsulas de saliva expulsadas en la tos y estornudos del hospedero.

En el caso de los parásitos facultativos como *Legionella pneumophila* que se encuentra en corrientes de agua natural, o estancadas se puede amplificar en torres de enfriamiento y se disemina por los efluentes de estas, teniendo contacto con los seres

humanos provocando una infección sistémica conocida como la enfermedad del legionario (Chang y Chou, 2011).

Algunos organismos como los saprófitos que se multiplican en materia orgánica muerta, se encuentran en reservorios ambientales, generalmente materia vegetal muerta en el exterior de edificios, se amplifican y diseminan a partir de estos reservorios (Chang y Chou, 2011).

Las fuentes de bioaerosoles pueden ser naturales o antropogénicas, las primeras son por la descomposición microbiana de material orgánico en todos los procesos que ocurren naturalmente y/o la dispersión atmosférica de bioaerosoles, y las segundas son como consecuencia de una multitud de procesos asociados con las actividades humanas que conducen a emisiones de bioaerosoles (Soto et al., 2009). Estas actividades antropogénicas asociadas con descomposición microbiana de materia orgánica generan emisiones de bioaerosoles, donde las principales fuentes potenciales son los sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales, los rellenos sanitarios la producción agrícola y ganadera entre otras (Coccia et al., 2010).

En la Tabla 2 se ofrece una visión general sobre las principales fuentes de producción de bioaerosoles.

Tabla 2: Fuentes potenciales de producción de bioaerosoles

Fuente	Lugar o sitio	Concentración (UFC/m <sup>3</sup> )
Natural	○ Costa	ND-560
	○ Bosques	385-1.2x10 <sup>3</sup>
	○ Pastizales	127-587
	○ Matorral desértico	2-283
Antropogénica	○ Zona urbana	539-7.2 x10 <sup>3</sup>
	○ Calle transitada	100-13x10 <sup>3</sup>
	○ Parques	100-2.5x10 <sup>3</sup>
	○ Estación de transferencia de basura	350-14x10 <sup>3</sup>
	○ Planta recicladora de basura	1.1x10 <sup>3</sup> -2.8x10 <sup>7</sup>
	○ Planta de composteo	1x10 <sup>3</sup> -11x10 <sup>6</sup>
	○ Planta de tratamiento de aguas residuales	1x10 <sup>2</sup> - 2x10 <sup>5</sup>
	○ Zona rural	202-3.4 x10 <sup>3</sup>
	○ Campo agrícola	46-6.5x10 <sup>3</sup>
	○ Empacadora de algodón	3.3x10 <sup>6</sup> -19x10 <sup>6</sup>

UFC: Unidades formadoras de colonias. ND: no detectable. Fuente: Rojas et al., 2005.

### II.2.2.1. Tratamiento de aguas residuales

La aerosolización de patógenos microbianos, endotoxinas, y olores es una consecuencia inevitable de la generación y tratamiento de aguas residuales. Las aguas residuales suelen contener grandes cantidades de diversos organismos como los virus, bacterias, hongos y protozoos procedentes de reservorios humanos y animales (Paez et al., 2005). Las plantas de tratamiento de aguas residuales representan una importante fuente de aerosoles, en particular las partes con mecanismos de movimiento y donde exista aireación forzada de las aguas residuales (tanques de aireación). Los bioaerosoles pueden ser un vehículo para la difusión de patógenos humanos y animales (Nicas y Sun, 2006). Muchos estudios se han llevado a cabo para evaluar los riesgos biológicos de bioaerosoles generados en las plantas tratadoras de

aguas residuales mediante la determinación de la concentraciones de microorganismos viables (Fierrer et al., 2008), utilizando diferentes métodos de muestreo y detección (Lighthart, 2000; Pascual et al., 2003; Dungan y Leytem, 2009). Otras investigaciones han reportado la presencia de bacterias, hongos y virus aerotransportables resultado del tratamiento de aguas residuales (Pascual et al., 2003; Sánchez- Monedero et al., 2007; Coccia, 2010).

Los aerosoles formados de esta manera contienen una gran variedad de microorganismos, incluyendo saprófitos predominantes, patógenos capaces de infectar al hombre a través de inhalación, contacto e ingestión.

#### *II.2.2.2. Rellenos sanitarios.*

Los patógenos primarios o aerobacterias desarrollados durante el proceso de degradación de los residuos sólidos orgánicos que se disponen en los rellenos sanitarios, pueden ser dispersados como bioaerosoles y causar infecciones, alergias o incluso intoxicaciones, tanto a los operarios de la planta que manejan dichos residuos como a los habitantes de las zonas aledañas (Clark et al., 198; Malmros et al., 1992) Operación de rellenos sanitarios (Swan, et al., 2003; Flores et al., 2007) y plantas de compostaje (Epstein, 2001).

### *II.2.2.3. Producción agrícola y ganadera.*

El crecimiento acelerado de las poblaciones en los últimos años, ha conllevado, entre otras cosas al aumento de la producción ganadera intensiva, lo que lleva a su vez a una serie de efectos perjudiciales para el medio ambiente (Chen et al., 2012). Las emisiones que una granja puede originar pueden ser durante el almacenamiento, tratamiento, alimentación o sacrificios de los animales, y estas pueden ser tanto emisiones directas al suelo y agua subterránea o superficial como también emisiones al aire en forma de gases, bioaerosoles, olores y polvo (Revilla, 2004). Dentro de los bioaerosoles que se pueden producir en una granja se incluyen bacterias, hongos, levaduras, esporas, virus, restos de células y productos de los microorganismos, pienso, partículas de piel, pelo, plumas y polvo mineral (Brooks, Gerba y Pepper, 2004).

Los microorganismos pueden ser saprófitos, de origen epidémico, fecal o patógeno, por lo que los bioaerosoles pueden contribuir a la diseminación de enfermedades infecciosas. Algunos estudios han demostrado que las concentraciones microbianas en granjas oscila entre 100,000 y 10,000,000 UFC/m<sup>3</sup> (Brook et al., 2005). A partir de una concentración de 430,000 UFC/m<sup>3</sup> se considera nocivo para la salud de los animales, por lo tanto también se considera nocivo para el hombre (Cambra-López et al., 2010).

### **II.3. Composición de los bioaerosoles.**

Los bioaerosoles son estructuras complejas en cuanto a la naturaleza de sus componentes, pueden estar constituidos por bacterias, hongos, protozoos, virus, y compuestos químicos (Gregory, 1973).

Algunos de los microorganismos de la hidrosfera y la litosfera pueden encontrarse en el aire, y se denominan microorganismos alóctonos procedentes del suelo, agua y de los mismos seres vivos que se integran al aire debido a los movimientos del aire, los movimientos de dehiscencia y diseminación de las plantas, los movimientos respiratorios de los animales tales como respiración, estornudos y gotas de Flügge, (gotitas de saliva que se expulsan al hablar, toser y estornudar) (Atlas y Bartha, 2002), además de la lluvia y los movimientos del agua en los ríos y mares. Los microorganismos en el aire se encuentran asociados a dos tipos de partículas: núcleos de pequeñas gotas, que son residuos de líquidos evaporados de la exhalación y las partículas de polvo que son las más frecuentes. Estos dos tipos de partículas se diferencian en cuanto a su origen, manera de depositarse, importancia en las enfermedades y a los métodos con los que deben ser valoradas y controladas (Rojas, 2005).

#### **II.3.1. Microorganismos**

El aire contiene en suspensión diferentes tipos de microorganismos, especialmente bacterias y hongos. Se introducen a la atmósfera una gran variedad de partículas de origen biológico, como granos de polen, esporas fúngicas, bacterias, algas,

protozoarios, insectos y, ocasionalmente, virus (De la Rosa et al., 2002). En general, las partículas predominan en las partes bajas de la atmósfera cerca de las fuentes locales de generación (Kazutaka y Daizhou, 2011). Sin embargo, algunas esporas de hongos y bacterias se han recuperado a 48-77 Km. de altura. La presencia de los diferentes géneros, especies o tipo de microorganismos depende de la fuente de origen, así como de la dirección e intensidad de las corrientes de aire y de la capacidad de supervivencia del microorganismo (Stelzenbach, 2002).

#### *II.3.1.1. Bacterias.*

Las bacterias constituyen uno de los grupos más abundantes en el ambiente. En condiciones naturales se les encuentra en el suelo, el agua, y las plantas, principalmente como organismos saprófitos. Las bacterias son organismos unicelulares y la mayoría de ellos son capaces de vivir, en un medio adecuado, sin la necesidad de un huésped para completar su desarrollo. Otras tienen además la capacidad de elaborar esporas que les permiten ser resistentes a condiciones adversas (De la Rosa, 2002).

Las bacterias se clasifican en dos grandes grupos según su reacción a la tinción de Gram, bacterias Gram positivas y Gram negativas. Las bacterias Gram positivas tienen una pared más resistente que las Gram negativas, las cuales tienen una pared celular frágil que no tolera bien la deshidratación en exposiciones prolongadas al aire. Así mismo algunas bacterias Gram positivas producen esporas, lo que le da mayor resistencia a las condiciones ambientales (Goyer, Levoie, Lazure y Marchand, 2001).

Pueden resistir, durante años incluso, altas temperaturas, sequedad, falta de nutrientes, etc., recuperando su estado normal y capacidad infectiva al entrar en contacto con un medio adecuado para su desarrollo (Stelzenbach, 2002).

Debido a que carecen de mecanismos activos de liberación, son introducidas a la atmósfera por algunos procesos mecánicos, tanto directos como indirectos, algunos ejemplos de estos son; la acción del viento y la lluvia sobre el suelo, los cuerpos de agua y la superficie de las hojas, e indirectamente por la acción de las olas y la formación de burbujas sobre los sistemas acuáticos. Además las actividades antropogénicas como el tráfico vehicular, los tratamientos de composta, reciclaje y aguas residuales incorporan una gran cantidad de bacterias a la atmosfera por la aerosolización (Goyer, Levoie, Lazure y Marchand, 2001). Los géneros bacterianos más aislados de los bioaerosoles se encuentran en la tabla 3.

Tabla 3. Géneros bacterianos más aislados de bioaerosoles.

#### Bacterias Gram Negativas

<i>Acinetobacter</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Salmonella</i>
<i>Escherichia</i>	<i>Shigella</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>Legionella</i>
<i>Moraxella</i>	<i>Xanthomonas</i>

#### Bacterias Gram Positivas

<i>Staphylococcus</i>	<i>Kocuria</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Micrococcus</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>Streptococcus</i>

#### Otras bacterias

<i>Corynebacterium</i>	<i>Nocardias</i>
<i>Micobacterium</i>	<i>Streptomyces</i>
<i>Saccharopolyspora</i>	<i>Thermactinomyces</i>

Adaptado de: Goyer Levoie, Lazure & Marchand, 2001

### *II.3.1.2. Hongos*

Los hongos son formas más complejas de vida que las bacterias, poseen una estructura vegetativa llamada micelio, formada a su vez de estructuras filiformes denominadas hifas (Lin y Li, 2000). Esta estructura vegetativa surge de la germinación de sus células reproductoras o esporas. Su hábitat natural comúnmente es el suelo, pero algunos son parásitos tanto de hombres y animales como de vegetales. (Amend et al., 2010).

### *II.3.1.3. Virus*

Los virus son las formas de vida más simples. Están constituidas únicamente por material genético, que puede ser ADN (Ácido desoxirribonucleico) o ARN (Ácido ribonucleico), además poseen una cápside o cubierta proteica. Son parásitos obligados, ya que precisan de un huésped para poder reproducirse (Otten y Burge, 1999).

## **II.4. Viabilidad de los bioaerosoles**

La viabilidad de los microorganismos en los bioaerosoles es la capacidad que tienen estos, de sobrevivir al estrés ambiental, bajando su tasa metabólica, entrando a un estado de inactivación durante su dispersión en el aire, los cuales al impactar en un medio con las condiciones y nutrientes necesarios, crecen, se multiplican y pueden infectar o contaminar al tener todas sus funciones vitales reincorporadas (Velez y Camargo, 2008).

Los organismos expuestos a estrés ambiental pueden no sobrevivir o ser afectados en alguna de sus funciones vitales, pero algunos otros pueden permanecer aparentemente sin efectos negativos, por lo tanto la supervivencia de estos microorganismos dependerá de su capacidad de reparar sus funciones biológicas afectas, para ello cuenta con dos procesos fisicoquímicos y enzimáticos para realizarlo (Vélez y Camargo, 2008).

## **II.5. Factores ambientales y temporales que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los bioaerosoles.**

La mayoría de las bacterias que penetran a la atmósfera proviene de fuentes naturales como la vegetación, el suelo, los cuerpos de agua y en menor proporción, de las actividades antropogénicas (Jones y Harrinson, 2004). Su supervivencia y distribución están moduladas por factores biológicos, meteorológicos y la química atmosférica, y son transportadas formando parte de los bioaerosoles, los cuales están relacionados con el material particulado que también se ve influenciado por las condiciones meteorológicas y topográficas (Prospero, 2002).

La atmósfera superior es un medio hostil para la vida, por lo que los microorganismos se ven afectados de igual manera, la parte alta de la troposfera presenta temperaturas que oscilan entre - 43 y - 83 °C, el oxígeno disponible es escaso, lo mismo con el carbono orgánico y el vapor de agua. Por eso es imposible el crecimiento de microorganismos en la alta atmósfera (Bei et al., 2013). La estratosfera presenta barreras en el transporte de microorganismos vivos, que vienen de la troposfera y se caracteriza por un lento proceso de mezcla. Los altos niveles de ozono y radiación UV

hace imposible la supervivencia de los Bioaerosoles. La troposfera ofrece condiciones más favorables para los microorganismos, existe un número significativo de ellos, que se ven favorecidos por gradientes térmicos que producen una mezcla de aire rápida (Gregory, 1973). Las adaptaciones que ellos han desarrollado les han favorecido la supervivencia y dispersión a través de los movimientos del aire. En las nubes hay concentraciones de agua que permiten su crecimiento y su viabilidad. La intensidad lumínica y la concentración de dióxido de carbono de las nubes son suficientes para favorecer el crecimiento de organismos fotoautótrofos, y los núcleos de condensación (material particulado) suministran algunos nutrientes minerales (Christner et al., 2008).

El número de microorganismos del aire en las zonas pobladas depende de las actividades antropogénicas de la zona, tanto industriales o agrícolas, y la cantidad de polvo que se genere. Se encuentra mayor número de microorganismos en las zonas más pobladas, seguida por las zonas cercanas al mar, las de menor densidad microbiana son las zonas desérticas y en los casquetes polares se considera casi nula la población microbiana en el aire (Vélez y Camargo, 2008).

La supervivencia, reproducción y dispersión en el aire de virus, bacterias, hongos y otros contaminantes biológicos, dependen, en gran medida, de las condiciones del entorno en que se encuentran, estas condiciones o factores son tales como, la radiación solar, la humedad relativa, la precipitación, presión atmosférica, la temperatura, y las fuentes de nutrientes (Dimmick, 1979; Pyankov et al., 2007).

### **II.5.1. Radiación Solar.**

Es el flujo de energía que recibimos del Sol en forma de ondas electromagnéticas de diferentes frecuencias (luz visible, infrarroja y ultravioleta), con longitudes de onda entre 0.4 y 0.8  $\mu\text{m}$ . Esta energía actúa como un factor que disminuye las posibilidades de vida de los bioaerosoles, ya que inactiva los fosfolípidos, proteínas y ácidos nucleicos de las células bacterianas. Las longitudes de onda corta, contienen más energía y son generalmente más dañinas para los microorganismos. Estudios han demostrado que la mayor concentración de microorganismos es en la noche que en el día (Balasubramanian, et al., 2003, Blais et al., 2012 y De León et al. 2013). Riley y Kaufmann (1972) encontraron que dicha inactivación sucede igual para las bacterias Gram positivas y Gram negativas.

### **II.5.2. Humedad Relativa (HR).**

La humedad relativa, es la relación entre el contenido real de vapor en la atmósfera y la cantidad de vapor que saturaría el aire a la misma temperatura. El contenido de agua en aire, es un factor fundamental que influye en el destino y viabilidad de los microorganismos contenidos en los Bioaerosoles. Cuando la HR disminuye, las células microbianas se deshidratan, causando su inactivación. La humedad relativa es el parámetro meteorológico medible más importante para determinar la estabilidad de los aerosoles; Israeli, Gitelman y Lighthart, (1994) determinaron que la membrana celular constituida por dos capas de fosfolípidos, sufre cambios en su estructura cristalina

cuando pierde agua; de esta forma se dañan sus proteínas y hace menos viable un microorganismo.

### **II.5.3. Precipitación.**

La precipitación es cualquier producto de la condensación del vapor de agua atmosférico que se deposita en la superficie de la Tierra. Ocurre cuando la atmósfera se satura con el vapor de agua, y el agua se condensa y cae de la solución. La lluvia permite renovar la calidad del aire ya que arrastra las partículas y las deposita en el suelo. En el caso de los bioaerosoles, la lluvia los elimina del aire, precipitándolos hacia el suelo donde se depositan y tienen menos posibilidades de tener contacto con las vías aéreas de los humanos (Dimmick, 1979; Pyankov et al., 2007).

### **II.5.4. Presión atmosférica.**

La presión atmosférica es la ejercida por el peso de la columna de aire. En general, los cambios en la presión atmosférica no afectan a los microorganismos, pero presiones extremadamente bajas, como en la atmósfera superior, el agua puede evaporarse y el oxígeno se vuelve limitante, dejando a los microorganismos metabólicamente inactivos, en cambio en sistemas de alta presión los microorganismos tienden a permanecer estables por períodos largos de tiempo, puesto que hay menor circulación de aire (Vélez y Camargo, 2008).

### **II.5.5. Temperatura.**

La presión de vapor y la Humedad relativa (HR) de un sistema dependen de la temperatura. Estudios han determinado que los incrementos de la temperatura, muestran disminución en la viabilidad de los bioaerosoles en el aire debido a que las altas temperaturas tiende a lisar las membranas de los microorganismos, y las células congeladas pierden la actividad proteica debido a que se gelatiniza su membrana celular (Griffin, 2007).

Los nutrientes de estos microorganismos son muy variados, diferentes sustratos pueden suplir sus necesidades. De manera general los compuestos esenciales para su desarrollo son agua y materia orgánica; en otras palabras cualquier compuesto que tenga estas características es una zona colonizable para ellos (Brodie et al., 2007).

Estos factores ambientales junto con las propiedades físicas de los bioaerosoles (tamaño, forma y densidad) determinar su rendimiento aerodinámico que a su vez determina el tiempo que los microorganismos permanecen suspendidas en el aire antes de la sedimentación (Griffin, 2007). Brodie et al. (2007) han reportado una relación entre las condiciones ambientales y la dispersión de bacterias, y el cambio climático podría alterar potencialmente la composición microbiana de la zona, el aumento de la presencia de ciertos componentes patógenos o alérgicos.

### **II.5.6. Factores temporales.**

La concentración de los bioaerosoles y su composición, varían a lo largo del día, así mismo la variación estacional afecta la concentración de los bioaerosoles, por lo

general son más altas las concentraciones en los meses cálidos (primavera, verano e incluso otoño) y son menores en invierno. La activación de la polinización de las plantas es más alta en los meses de verano que coincide con las condiciones más favorables para la supervivencia de los microorganismos. Además los efectos convectivos del aire son más frecuentes en los meses cálidos, propiciando la suspensión de los bioaerosoles (Deguillaume et al., 2008).

## **II.6. Mecanismos Atmosféricos de Dispersión.**

La carga microbiana de la atmósfera cambia según la altura a la que se esté midiendo, la concentración más alta de estos se obtiene junto al suelo, en el microclima humano es decir a una altura máxima de 2 metros, disminuyendo hasta los 200 metros y luego más escasos hasta los 5,000 metros. Su presencia es rara hasta el límite de la troposfera y no se encuentran en la estratosfera (Draxler y Hess, 1998).

La carga microbiana contenida en la atmósfera se debe principalmente al transporte aéreo desde el suelo y otros reservorios como función de las condiciones ambientales. La persistencia temporal de la contaminación del aire es debida a factores físicos como formación de aerosoles, temperatura y humedad los que influyen en gran medida la supervivencia microbiana. Por otra parte, otros factores mecánicos, tales como la lluvia o el viento, también afectan el mantenimiento de la suspensión transitoria de contaminantes, favoreciendo tanto su sedimentación o su dispersión como en el caso de los Vientos de Santana (Griffin, 2007).

El estudio del comportamiento de los bioaerosoles se lleva bajo dos perspectivas diferentes. La primera es sobre el transporte y dispersión, debido al movimiento de las masas de aire y la segunda explica los mecanismos atmosféricos por los cuales los microorganismos presentes en el aire son viables o no viables. (Hervàs et al., 2009).

### **II.6.1. Viento.**

Muchas de las enfermedades víricas, bacterianas y fúngicas se diseminan a través de la atmósfera y los brotes epidémicos causados por estos microorganismos se ha observado que siguen la cuenca atmosférica de esa zona. Los vientos locales son el resultado de diferencias de temperatura local. Los movimientos verticales ocurren cuando se calientan las masas de aire y ascienden por pérdida de densidad (Smith et al., 2011).

### **II.6.2. Estabilidad.**

Es una de las características más importantes de la atmósfera, es la tendencia a resistir el moviendo vertical, o evitar la turbulencia y que no muestra mezclado o movimiento vertical. El grado de estabilidad de la atmósfera, determina su capacidad para dispersar contaminantes. De esta forma los bioaerosoles permanecen a nivel del suelo y representan una amenaza a la población. Si hay inestabilidad tiene un efecto negativo para los microorganismos, puesto que los expone a niveles de cambios bruscos de temperatura, presión y escasa humedad (Vélez y Camargo, 2008).

### **II.6.3. Altura máxima de mezclado.**

El movimiento del viento convectivo y la turbulencia ayuda a la dispersión de contaminantes en la atmósfera baja, el alcance vertical de mezclado varía en función de la hora del día y las características topográficas. A mayor alcance vertical, mayor volumen de mezclado. La altura de mezcla es baja de noche y alta de día (Smith et al., 2011).

### **II.6.4. Rosa de vientos.**

La dispersión horizontal de los contaminantes biológicos depende del movimiento advectivo del viento; éste puede estudiarse conociendo su frecuencia de distribución, de dirección y velocidad. La rosa de vientos, es muy útil para predecir la dispersión de los contaminantes en la atmósfera local, en un período de tiempo (Wark, 2002).

### **II.6.5. Turbulencia.**

La turbulencia es el resultado de dos efectos específicos; el calentamiento atmosférico, causante de las corrientes de convección naturales y la turbulencia mecánica, que es el resultado de los esfuerzos cortantes del viento. Las turbulencias térmicas (convectivas) prevalecen en los días soleados, cuando soplan vientos ligeros y el gradiente de temperatura es altamente negativo. Las turbulencias mecánicas predominan junto a la estabilidad neutral, en las noches con viento. La turbulencia mecánica es el resultado del movimiento del aire sobre la superficie terrestre y está influida por la ubicación de

los edificios y la rugosidad del terreno. Éste es el mecanismo más importante que se debe considerar al evaluar el transporte de microorganismos en las zonas metropolitanas (Vélez y Camargo, 2008).

#### **II.6.6. Efecto de la topografía.**

Las características físicas de la superficie del terreno se describen como topografía, esta se agrupa en varias categorías: llanos, montañas-valles, campos, cuerpos de agua y urbano. La topografía causa turbulencia térmica debido al calentamiento diferencial y turbulencia mecánica como resultado del flujo de viento en medio de diferentes estructuras y tamaños de edificios (Smith et al., 2011).

#### **II.7 Efectos de los bioaerosoles sobre la salud.**

Es sabido que el medio ambiente no es estéril o libre de agentes biológicos, por lo que la presencia de los microorganismos a niveles bajos o microorganismos ubicuos se puede considerar como un fenómeno común y normal (Nevalainen y Morawska, 2009).

La exposición humana y la respuesta a agentes biológicos en el aire pueden estar mediados por las interacciones con los aerosoles de interior y exterior, el cambio climático global, y las actividades antropogénicas que emiten patógenos directamente en el aire a través de los bioaerosoles, y los riesgos biológicos para el hombre se deben a la exposición a altas concentraciones, a bioaerosoles desconocidos o patógenos (Yu et al., 2004).

Los Bioaerosoles se componen de microorganismos viables y no viables, partículas alergénicas, plantas y residuos de insectos, toxinas microbianas y virus. Sus concentraciones en la atmósfera son significativas ya que se estima que el 16% de la masa de los aerosoles atmosféricos primarios son de fuentes biológicas, y que del 4, al 11% de la masa total de PM2.5 son contenido biológico (Montoya et al., 2004) por lo que se considera una amplia gama de efectos potenciales para la salud.

La preocupación con respecto a la exposición a los bioaerosoles surge debido a su potencial de causar efectos adversos para la salud en los empleados de los sitios productores de bioaerosoles y la comunidad que vive en las proximidades a dichas instalaciones (Soloans et al., 2007).

A través de las alergias, el asma y las enfermedades infecciosas, los aerosoles biológicos están asociados con un gran porcentaje de efectos negativos en la salud global (Gavidia, Pronczuk y Sly, 2009).

Los cambios en los ecosistemas globales también pueden causar la emisión de bioaerosoles que afectan tanto a la salud humana como a la degradación ambiental. Un ejemplo importante es la prolongada sequía, el pastoreo excesivo, y el secado del lago Chad, que ha contribuido a la enorme emisión de polvo cargado con bioaerosoles de las regiones del Sahel de África (Garrison et al., 2003). Este polvo es transportado por los vientos predominantes en el Caribe, donde se le ha relacionado con el aumento de las tasas de asma en los seres humanos y la introducción de patógenos sospechosos en mortandad de corales del mar (Griffin et al., 2003). Un estudio ecológico estima que aproximadamente el 20% de las especies identificadas en estas

tormentas de polvo podría causar enfermedades en plantas y animales y el 10% son patógenos oportunistas para los humanos (Hua et al., 2007; Douwes et al., 2003).

Existen diversos efectos a la salud asociadas con la exposición a bioaerosoles:

- a) Enfermedades infecciosas
- b) Enfermedades respiratorias y alérgicas
- c) Efectos tóxicos agudos
- d) Enfermedades oncológicas

### **II.7.1. Enfermedades infecciosas**

Las enfermedades infecciosas tienen agentes etiológicos desde virus, bacterias, hongos, protozoos hasta helmintos y la transmisión de un agente infeccioso a partir de un depósito a un hospedero susceptible puede ser a través del contacto directo, un vehículo común, la transmisión aérea o la transmisión vectorial (Committee on Acute Respiratory Infections. Acute Respiratory Infections, 1998).

Estas pueden ser atribuibles diversos mecanismos como:

- a) Exposiciones – Debido a una ocupación específica, como puede ocurrir en los trabajadores de la salud (tuberculosis, gripe estomacal, sarampión), los agricultores, los mataderos trabajadores, veterinarios (fiebre Q, la gripe porcina, ántrax) y trabajadores forestales (tularemia).
- b) Agrupación o hacinamiento- La agrupación de personas en el lugar de trabajo como en el caso de oficina, militares o trabajadores de la aviación (influenza,

invierno gripe estomacal, la tuberculosis, etc.) (Committee on Acute Respiratory Infections. *Acute Respiratory Infections*, 1998). Además, los legionarios la enfermedad y la fiebre de Pontiac son de alto perfil bioaerosol infecciones de transmisión que son causadas por ocupacional (así como no ocupacional) exposiciones frente a *Legionella*. (Srikanth, Sudharsanam, y Steinberg, 2008)

De las 10 principales causas de muerte en los países en desarrollo, 3 están vinculados a los microorganismos patógenos transportados por el aire. Las infecciones respiratorias agudas (IRA) (incluyendo la neumonía bacteriana y viral, la gripe, la tuberculosis y el sarampión) son causa de muerte, superando tanto el SIDA y las enfermedades diarreicas, y los niños menores de cinco son los más afectados (Chen y Hildemann, 2009).

Las infecciones respiratorias en los países desarrollados son rara vez fatales y los agentes etiológicos son diferentes; sin embargo, hay tasas similares de infección (4-6 por niño por año). Más de 1 mil millones de infecciones respiratorias agudas se producen por año en los EE UU. Este nivel de morbilidad es muy superior a los de las infecciones causadas por patógenos transmitidos por los alimentos (por 10 veces) y patógenos transmitidos por el agua (por 10,000 veces) (Downes, 2003; Perdomo, 2009).

#### *II.7.1.2. Enfermedades infecciosas bacterianas*

Existen diversas infecciones bacterianas que están asociadas a los bioaerosoles, de las cuales las principales son las siguientes:

- Legionelosis: Causada por *Legionella pneumophila*, ya sea nosocomial o comunitaria, ocupacional o no ocupacional, suele transportarse por el aire a partir de aerosolización de agua contaminada, puede habitar en sistemas acuáticos naturales, pero también en sistemas de enfriamiento y aire acondicionado (Srikanth, Sudharsanam y Steinberg, 2008).
- Tuberculosis: La transmisión es aérea, a través de la inhalación de pequeñas gotitas de la expectoración de personas infectadas por *Mycobacterium tuberculosis*, al toser, estornudas y hablar. Aproximadamente un tercio (más de 2 mil millones de personas) están infectados con la bacteria que causa la tuberculosis (Chen y Li, 2005).
- Antrax: La transmisión se debe a la inhalación de esporas de *Bacillus anthracis* y los brotes suelen relacionarse con el bioterrorismo (Marks, 2003).

#### II.7.1.2. Infecciones fungicas.

La mayoría de las infecciones fungicas ocasionadas por hongos transportados en el aire, suelen ser en personas inmunosuprimidas o como una infección secundaria, los principales generos de hongos que se encuentran en el ambiente y pueden producir infecciones respiratorias o reacciones alergicas incluyen a *Penicillum*, *Aspergillus*, *Acremonium*, *Paecilomyces*, *Mucor* y *Cladosporium*. Tambien se encuentran las enfermedades producidas por micotoxinas, las cuales son absorbidas por la mucosa intestinal, las vias respiratorias y la piel (Douwne, 2003; Perdomono, 2009).

#### *II.7.1.3. Infecciones virales.*

Los virus son los más fácilmente propagados por vía aérea, tales como el virus del SARS (Síndrome Respiratorio Agudo Severo), virus entericos emitidos al aire por las instalaciones de tratamiento de aguas residuales, RSV (Virus Respiratorio Sincitial), Hantavirus de las heces de los roedores, Varicela-Zoster, sarampión, papera y rubeola (Tellier, 2006).

#### *II.7.1.4. Infecciones parasitarias y por Actinomicetos.*

Otras de las infecciones que pueden ser atribuibles a los bioaerosoles son las causadas por las amebas de vida libre como *Acanthamoeba* y *Naegleria fowleri*, que se suspenden en forma de aerosoles de aguas naturales y artificiales. Así mismo las algas y algunos actinomicetos como los *Streptomyces* son relacionados con alergias, procesos inflamatorios y neumonitis hipersensible (Seagler et al., 2007).

### **II.7.2. Enfermedades respiratorias.**

En los países desarrollados, las alergias y el asma son una causa importante de enfermedad y discapacidad. Hasta 35 millones de los 40-50 millones de estadounidenses que sufren de alergias son sensibles a los alérgenos en el aire. Alérgenos biológicos en el aire pueden desencadenar ataques de asma en el 60-90% de los niños asmáticos y el 50% de los adultos asmáticos (Masoli et al., 2004), y existe un amplio consenso de que la alergia y la prevalencia del asma aumentaron durante las

últimas décadas. Las áreas de mayor prevalencia de asma y mayor incremento son el medio urbano (Bornehag, 2005). Con la fracción de la población urbana mundial proyectado para aumentar del 45 al 59% para el año 2025, la asociación entre el asma y el entorno urbano pueden llegar a ser aún más profundo (Masoli et al., 2004). Los síntomas respiratorios y deterioro de la función pulmonar son probablemente el más estudiado entre efectos en la salud de la exposición a polvos. Existe una gama de condiciones desde casi no afectar la vida diaria, o imperceptibles hasta una condición crónica grave de enfermedades respiratorias que requieren atención especializada.

Una distinción entre una afección respiratoria alérgica y no alérgica se puede hacer, de acuerdo a los síntomas. En una enfermedad respiratoria no alérgica sus síntomas reflejan una vía aérea específica no inmune con o sin inflamación, mientras que los síntomas de una enfermedad respiratoria alérgica reflejan una inflamación específica inmune en el cual diversos anticuerpos (IgE, IgG) pueden jugar un papel importante en la respuesta inflamatoria (Griffin, 2007).

- Asma: Enfermedad inflamatoria de las vías respiratorias, con limitado flujo aéreo, reversible. La exposición ambiental a una amplia gama de productores de bioaerosoles, tales como ácaros, pelo de mascotas, cucarachas, alérgenos, endotoxinas bacterianas y hongos es la principal causa asociada a esta enfermedad (Masoli et al., 2004) .
- Rinitis: Inflamación alérgica o no alérgica de la mucosa del tracto respiratorio superior, la rinitis alérgica está asociada a la exposición al polen y a los hongos, mientras la no alérgica está asociada a la presencia de endotoxinas bacterianas, polvo no orgánico, humo y vapores (Masoli et al., 2004).

- Síndrome tóxico por polvo orgánico (ODTS): Enfermedad febril aguda caracterizada por fiebre, escalofríos, tos seca, opresión en el pecho, disnea, dolor de cabeza y musculares. Muy común en lugares de trabajo donde el personal es expuesto a los bioaerosoles que contienen microorganismos y endotoxinas bacterianas (Blais, 2007).
- Neumonía por hipersensibilidad (HP): Conocida como “pulmón de granjero”, enfermedad pulmonar tardía, poco frecuente, se ha asociado con la exposición a cuatro bacterias termófilas: *Saccharopolyspora rectivirgula*, *Saccharomonospora viridis*, *Thermoactinomyces sacchari* y *Thermoactinomyces vulgaris* que crecen en el heno y la paja (Blais, 2012).
- Bronquitis crónica: Tos con flema, por un periodo de al menos tres meses, aunque el tabaquismo es la principal causa de esta enfermedad, algunos casos se han asociado a la exposición a aerosoles, sobre todo en la agricultura, a la industria algodonera, industrias con polvo orgánico y no orgánico y en el compostaje (Colbeck y Nasir, 2010).
- Síndrome del Edificio Enfermo (SBS) Es la combinación de síntomas no específicos en la ausencia de una enfermedad diagnosticada relacionada con el edificio donde viven o trabajan las personas que lo manifiestan, el SBS puede estar relacionado con los efectos de las bacterias y hongos o sus componentes o productos que causan inflamaciones no específicas locales o sistémicas (Colbeck y Nasir, 2010).

### **II.7.3. Enfermedades Oncológicas.**

El cáncer puede ser causado por una variedad de factores incluyendo virus oncogénicos y otros agentes biológicos. Hasta la fecha, el único agente establecido claramente no viral como carcinógenos biológicos son las micotoxinas. Estas se producen en industrias en las que los materiales que se manejan se contaminan con hongos. La más conocida es la aflatoxina de *Aspergillus flavus*, que es un carcinógeno humano establecido en particular con respecto al cáncer de hígado (Braun-Fahrländer et al., 2002). La ocratoxina A es también considerada como un posible carcinógeno humano. La ruta más relevante de la exposición a la aflatoxina y ocratoxina es por ingestión, pero la exposición también puede producirse por inhalación en industrias, tales como procesamiento de cacahuete o la alimentación del ganado en las industrias de transformación y en el que el polvo de granos (Bray y Ryan, 1991). Estudios han demostrado un exceso constante de cáncer de pulmón asociado con trabajadores de mataderos y carnicerías (Demers y Boffetta, 1998). Otros también indican un mayor riesgo de leucemia con el empleo en las industrias de la carne (Bethwaite et al., 2001). Adicionalmente, Diversos estudios han encontrado asociaciones entre la exposición al polvo de madera y diversos tipos de cáncer específicos, en particular el cáncer nasal en la fabricación de muebles, ebanistería, carpintería y en otros puestos de trabajo relacionadas con la madera, incluyendo los aserraderos (Demers y Boffetta, 1998). Por último, los trabajadores de varias otras industrias que procesan materiales biológicos están en riesgo de desarrollar varios tipos de cáncer, como los trabajadores del caucho, textil, cuero y sectores de arranque y del calzado. Sin embargo, actualmente se desconoce si el exceso de riesgo de estos se producen a partir de la exposición a

biológica agentes o se deben a diversos productos químicos utilizados en estas industrias (Demers y Boffetta, 1998).

## **II.8. Muestreo de bioaerosoles.**

Para muestrear los bioaerosoles, es necesario removerlos del aire y retenerlos en una matriz, para ser analizados posteriormente, ningún método de muestreo de bioaerosoles puede recolectar, identificar y cuantificar todos los componentes de los bioaerosoles en un ambiente en particular (Mandall y Brandi, 2011).

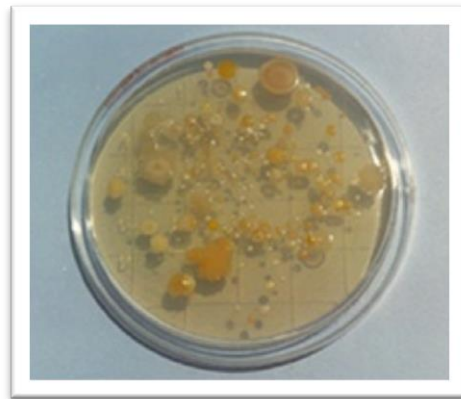
### II.8.1 Equipos de muestreo de bioaerosoles.

Los equipos de muestreo estan basados en el procedimiento de toma de muestra, recuperacion y cultivo de microorganismos e incluye metodos como gravitacion, succión, centrifugación, filtración y burbujeo. Los equipos mas empleados son los siguientes (Dungan, 2009):

#### *II.8.1.1. Gravitación o impactación natural.*

La forma mas simple de toma de muestra de bioaerosoles, aprovechando la capacidad de estos de sedimentar por gravedad, las particulas biologicas presentes en el aire son recogidas sobre una superficie adherente como es una caja Petri, Portaobjetos o Placa Rodac con agar (INSHT, 1997).

**Figura 2.** Placa RODAC para muestreo gravitacional o impactacion natural (INSHT, 1997).



#### *II.8.1.2. Impactación.*

El equipo está adaptado con una bomba de vacío que aspira el aire, el cual es dirigido a través de un orificio a la superficie del medio de cultivo contenido en una placa depositada en el interior del equipo, las partículas con suficiente inercia, se impactaran sobre la superficie del medio de cultivo. El orificio puede ser una rejilla con numerosos orificios de igual diámetro.

##### *II.8.1.2.1. Muestreador Andersen.*

Es uno de los mejores muestreadores por impactación conocidos, es una unidad tamiz con multietapas de cascada, con perforaciones progresivamente más pequeñas en cada etapa, que permite separar las partículas por tamaños (Andersen, 1958).

**Figura 3.** Muestreador Andersen

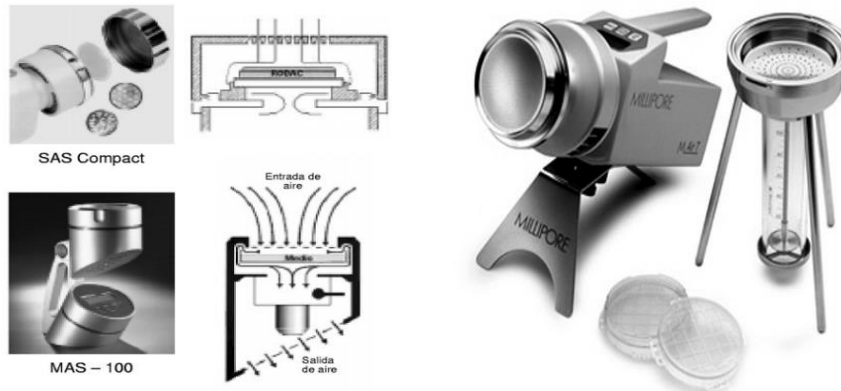


Fuente: Andersen 1958

#### *II.8.1.2.2. Muestreadores multiorificio.*

El muestreador SAS (Surface air system) es un equipo portátil con un único nivel de captación basada, en la inercia de las partículas. La captación de las partículas tiene lugar en una placa RODAC con medio de cultivo. Existen dos modelos calibrados a dos caudales de aire (90 l/min y 180 l/min). El equipo dispone de un cabezal con 219 orificios, un ventilador y un programador del tiempo de muestreo, permitiendo un mínimo de 20 segundos y un máximo de 5 minutos. En la figura 4 se muestran los dos modelos de este tipo de muestreador, el muestreador M air T (Millipore) o el muestreador MAS-100 (Merck).

**Figura 4.** Muestreadores multiorificio



Fuente: Manual Millipore M air T, Manual Merck MAS-100

### *II.8.1.3. Centrifugación o Muestreador RCS (Reuter Centrifugal Sampler).*

Es un equipo portátil en el que la impactación de las partículas se lleva a cabo por la acción de la fuerza centrífuga de un ventilador en la zona frontal del equipo, donde el aire aspirado pasa por él y las partículas son recogidas en cintas flexibles con pocillos que contienen medio de cultivo. El caudal de aire de este equipo es de 40 L/min y dispone de un programador de tiempo (entre 30 segundos y 8 minutos) que determina el volumen de aire muestreado. En la figura 5 se muestra un esquema de este muestreador.

**Figura 5.** Muestreador RCS (Reuter Centrifugal Sampler).



#### *II.8.1.4. Frascos borboteadores (Impingers).*

Se conduce una corriente de aire al interior de un frasco que contiene un medio de captación, normalmente, líquido, puede ser solución salina, amortiguadora o medio de cultivo líquido. Las partículas son transferidas al líquido siguiendo los principios de la impactación inercial ayudada por la dispersión de las partículas en las burbujas formadas en la zona de impactación. Se utiliza un volumen que oscila entre 15 y 20 ml. Este volumen puede verse reducido por la evaporación, lo que tiene como consecuencia una modificación de la concentración de sales que podría afectar la supervivencia de los microorganismos captados. Las muestras obtenidas permiten el recuento del número total de partículas. Mediante filtración del líquido se pueden concentrar las partículas y la muestra puede ser utilizada en la realización de otros tipos de ensayo. Uno de los modelos más ampliamente utilizados en la captación de bioaerosoles es el AGI-30 (All glass impinger). En la figura 6 se muestra un esquema de estos muestreadores (Agranovski et al., 2002).

**Figura 6.** Muestrador AGI-30 (All glass impinger).



Fuente: Agranovski et al. (2002).

## **II.9. Normativa relacionada con bioaerosoles y niveles máximos permisibles.**

A nivel internacional no existe una normativa aceptada con respecto a los bioaerosoles, cabe señalar que algunos organismos internacionales y extranjeros reconocidos a nivel mundial, han emitido recomendaciones sobre el uso de algunas guías de la NIOSH y de la NASA, pero aun así, no hay un consenso sobre los valores permisibles de bioaerosoles, ya que por otro lado, ni las técnicas de muestreo, ni los métodos de identificación y cultivo se han estandarizado a nivel internacional, por lo que es difícil la comparabilidad de los datos (Mandal y Brandi, 2011).

---

### III. Justificación

---

Como consecuencia de la actividad antropogénica se ha generado gran cantidad de residuos, que en su mayoría van a parar a los ecosistemas acuáticos y terrestres, que posteriormente se resuspenden y dispersan por los vientos ocasionando contaminación del aire y deterioro progresivo del equilibrio natural del ecosistema. Los contaminantes, provienen mayoritariamente de los vertidos de aguas residuales sin depurar, de las actividades antropogénicas y del desarrollo industrial y manufacturero.

Las bacterias, hongos y virus sobreviven a largos viajes en el aire, suspendidos en partículas de polvo y bioaerosoles; transportándose a miles de kilómetros de distancia que movilizan anualmente unos 10 trillones de microorganismos, que se reparten por todo el planeta. Las rutas de exposición humana a los bioaerosoles son la inhalación, ingestión y contacto con la piel, y debido a que los riesgos de los bioaerosoles para la salud no sólo afectan directamente a la comunidad expuesta a ellos en el punto de origen, sino que puede afectar a comunidades vecinas a través del transporte aéreo, es imperativo su estudio.

La evaluación microbiológica de la atmósfera ha atraído la atención en los últimos años, sin embargo, el número de los estudios recientemente publicados que tratan con hongos, contaminación bacteriana o de muestreo de aire en las zonas urbanas es más bien escaso. A pesar de la baja concentración de materia orgánica en el aire los microorganismos han logrado sobrevivir y adaptarse, sabiendo que más de 10,000 litros de aire se inhala diario por un adulto humano, la exposición a agentes microbianos en el aire puede dar lugar a infecciones respiratorias y otros efectos adversos para la salud.

La evaluación microbiológica de la atmósfera ha sido complicada ya que la gran mayoría de los microorganismos ambientales son difícilmente cultivables con métodos de cultivo convencionales, limitando la posibilidad de explorar su diversidad genética, mecanismos de biodegradación de las sustancias contaminantes, y poder establecer un mecanismo de transporte y viabilidad, lo que hace imperativo la evaluación del contenido microbiológico del ambiente aéreo.

---

#### IV. Planteamiento del problema

---

Debido a que la composición de la atmósfera sobre la región fronteriza de EU-México está afectada por el transporte de emisiones en ambas direcciones de la frontera, el Centro Molina para Estudios Estratégicos sobre Energía y Medio Ambiente (MCE2) y la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la UABC, establecieron un proyecto binacional que ofrece una oportunidad única de colaboración. California y Baja California comparten una cuenca atmosférica común a lo largo de aproximadamente 200 km. En la frontera entre San Diego y Tijuana, existe una mutua influencia en sus actividades económicas, las intensas actividades antropogénicas en la región fronteriza, junto con la presencia de importantes fuentes biogénicas y geológicas, contribuyen significativamente a los altos niveles de contaminantes comúnmente observados en esta región fronteriza. En este marco de colaboración el presente estudio se encuentra circunscrito a dicho proyecto, con la búsqueda de consorcios microbianos en la cuenta atmosférica de esta frontera, su relación con el clima y ecosistemas, determinando la variabilidad espacial y temporal de la carga microbiana, y por último identificando aquellos microorganismos que en pruebas preliminares indiquen que son patógenos y poder evaluar el posible impacto de estas en la calidad del aire, en la salud humana y en el cambio climático a nivel local y regional.

---

## V. Hipótesis y Objetivos

---

### **Hipótesis**

Los consorcios microbianos en el aire son transportados por resuspensión de biopartículas y este transporte es dependiente de las condiciones ambientales.

### **Objetivo General.**

Estudiar la variación espacio-temporal de consorcios microbianos en la cuenca atmosférica de la Ciudad de Tijuana, B. C., sus posibles correlaciones con las variables meteorológicas, para contribuir a la comprensión del efecto de la composición biológica en la calidad del aire.

### **Objetivos Específicos.**

1. Determinar la variación estacional y espacial de los consorcios microbianos presentes en la cuenca atmosférica de la ciudad de Tijuana, B. C.
2. Estimar el gradiente de la población de microorganismos en el aire utilizando el método de impactación.
3. Identificar las posibles fuentes de bioaerosoles en la zona.

---

## VI. Metodología

---

Esta investigación se realizó de acuerdo a la siguiente metodología, cumpliendo con las condiciones de estudio que permitirán cumplir los objetivos de investigación planteados en este proyecto.

### **VI.1. Tipo de estudio**

Experimental y Prospectivo.

### **VI.2. Espacio-Temporal**

El estudio se llevó a cabo en 12 sitios seleccionados por conveniencia que representen las condiciones que permitan establecer los diversos escenarios de la ciudad, las variables tales como, temporal, primavera-verano, otoño-invierno. En el periodo de Mayo a Junio de 2010 y Noviembre de 2011 a Febrero de 2013.

### **VI.3. Tipo de Muestra**

Se tomaron muestras de aire atmosférico (100 Litros/minuto) en 12 sitios diferentes de la ciudad.

### **VI.4. Análisis estadístico**

Para el análisis de datos se utilizó estadística descriptiva, para la observación de la distribución de microorganismos aislados e identificados, así como, las condiciones ambientales de cada muestreo.

## **VI.5. Límite de estudio**

Se tomaron muestreos mensuales en dos tiempos diferentes de 7:00 a 8:00 horas y de 12:00 a 14:00 horas para cada sitio.

## **VI.6. Variables del Estudio**

- Concentración microbiana
- Condiciones ambientales

## **VI.7. Materiales y Métodos**

### **VI.7.1 Sitios de muestreo**

Tijuana, México, está situado en las coordenadas geográficas 32 ° 31'30 " norte y 117 ° 04'31" oeste, y cuenta con una población de 1.559.683 personas. Es la sexta ciudad metropolitana más grande de México, con una superficie de 1.239 kilómetros cuadrados, enclavado entre colinas, cañones, barrancos y arroyos. Tijuana tiene un clima mediterráneo seco, con inviernos suaves y húmedos y veranos cálidos y secos. Las elevaciones varían de 0 metros en Playas de Tijuana hasta 552 metros sobre el nivel del mar en Cerro Colorado. El río Tijuana cruza la ciudad por un longitud de 195 kilómetro, debido a la migración y una población flotante hay asentamientos informales a la orilla de este, de acuerdo con la Secretaria de Protección Ambiental (SPA), se estima que estos asentamientos generan un flujo de 450 litros por segundo de aguas residuales crudas, que desemboca en el río, en consecuencia, el río Tijuana es considerada entre las 31 cuencas más contaminadas del país (CNA 2012).

Para analizar la microbiota bacteriana en suspensión en el aire exterior de Tijuana, México (Figura 7), las muestras se obtuvieron de los sitios representativos seleccionados de acuerdo a las características generales de los puntos de muestreo que se muestran en la Tabla 4. El muestreo se realizó en el período comprendido entre mayo de 2010 a febrero de 2013.

**Figura 7.** Mapa de sitios de muestreo



**Tabla 4.** Sitios de muestreo en la ciudad de Tijuana

No. de sitio	Nombre	Descripción	Coordenadas geográficas
CM1	Biblioteca UABC	Área escolar	32°3150'N, 116°5744'W
CM2	Parque Morelos	Área verde	32°5158'N, 116°9762'W
CM3	Blvd 2000	Zona suburbana	32°2950'N, 116°8115'W
1	Playas de Tijuana	Sitio de referencia	32°5328'N, 117°1235'W
2	Zona Centro	Alto flujo vehicular y densidad poblacional	32°5379'N, 117°0373'W
3	Distrito gastronómico	Alto flujo vehicular y zona comercial	32°5129'N, 117°0036'W
4	Río Tijuana	Zona del río	32°5158'N, 116°9762'W
5	Parque de la Amistad	Zona residencial y recreacional	32°5331'N, 116°9442'W
6	Zona Industrial	Flujo vehicular pesado y zona industrial	32°5385'N, 116°9142'W
7	PTAR	Planta tratadora de aguas residuales	32°4660'N, 116°8462'W
8	Blvd 2000 zona rural	Zona rural, y actividad ganadera	32°4571'N, 116°9076'W
9	Relleno sanitario	Residuos sólidos y lixiviados	32°4923'N, 116°7898'W

### **VI.7.2. Toma de muestras y datos meteorológicos**

En cada uno de los sitios, el muestreador se montó en una plataforma de 1.5 m sobre el nivel del suelo. Se tomaron dos muestras independientes, por cada recogida de muestra, se tomaron en dos periodos de tiempo diferentes cada día (7:00-8:00 para la recolección de mañana y 12:00-14:00 para la recolección de la tarde). Las muestras se obtuvieron dos veces a la semana durante la campaña CAL- MEX (31 mayo a 30 junio 2010) y una vez al mes para noviembre de 2011 a febrero de 2013.

Los bioaerosoles fueron recogidos con el uso de un muestreador de aire portátil (M AirT, Millipore, Billerica, MA, EE UU). El tamiz microperforado del muestreador posee una placa con 400 agujeros de diámetro uniforme a través de la cual el aire pasa a razón de 100 L/ min para impactar en placas Rodac que contenían agar tripticasa de soja (TSA). La tasa de impacto fue equivalente a 11 m/seg con un corte de tamaño de 8.8 micras, lo que permite reducir la pérdida de viabilidad debido a un estrés por impacto (Meier y Zingre, 2000).

El período de muestreo fue de 1 minuto. Todas las muestras se realizaron por duplicado tomando el promedio del resultado para el cálculo. La concentración microbiana se expresa en unidades formadoras de colonias (UFC) por m<sup>3</sup> de aire analizado. El muestreo se realizó de acuerdo con Soto et al. (2009) y Dungan et al. (2010). Antes del muestreo, el tamiz microperforado del muestreador de aire se esterilizó por autoclave, y la superficie del muestreador fue descontaminado con sal de amonio cuaternario. Las mediciones meteorológicas (temperatura, humedad relativa, velocidad y dirección del viento) se tomaron de forma

simultánea en cada sitio de muestreo con el equipo Thermo-Hygro (VWR Radnor, PA, EE UU) y la estación móvil (Acurite, Lake Geneva, WI, EE UU).

### **VI.7.3. Análisis bacteriano.**

Después del muestreo, las placas RODAC con TSA fueron inmediatamente transportadas al laboratorio y se incubaron a 35-37°C durante 48 horas. Después del período de incubación, se examinaron las placas para los recuentos de UFC. Las concentraciones de las bacterias y hongos del aire, fueron reportadas como unidades formadoras de colonias UFC/m<sup>3</sup>, se calcularon dividiendo el número de colonias visibles en las placas por el volumen de aire muestreado. A los cultivos con crecimiento se les realizó la tinción de Gram para su clasificación, cocos y bacilos Gram positivos, y cocos y bacilos Gram-negativos, y en función de su tinción y morfología se cultivaron en medios selectivos, como Agar MacConkey (Difco, Sparks, MD. EEUU) para el aislamiento de las enterobacterias. Agar Cetrimida (Difco, Sparks, MD. EE UU) para *Pseudomonas*, agar sal manitol (DIFCO, Sparks, MD, EE UU) para *Staphylococcus*, agar bilis esculina azida de sodio (DIFCO, Sparks, MD. EE UU) para *Enterococcus* y PALCAM (DIFCO, Sparks, MD. EE UU) para *Listeria*. Se les realizó la prueba de Oxidasa y Catalasa, la actividad hemolítica se ensayó en Agar sangre Columbia (Difco, Sparks, MD. EE UU). Por último para género y determinación de especies, se utilizó el Software de BBL Crystal MIND (BBL Sparks, MD. EE UU) con los kits The BBL Crystal Gram-Positive Kits and BBL Crystal Enteric/Nonfermenter ID Kit (Solans et al., 2007).

---

## VII. Resultados

---

### VII.1. Concentración microbiana

Los resultados de las determinaciones de concentraciones microbianas en muestras de aire a través de Tijuana se resumen en las Tablas 5 y 6. No se observaron variaciones extremas en la concentración de UFC, se obtuvo el recuento más bajo en el Sitio 1 Playas de Tijuana, con un promedio de  $230 \pm 130$  CFU / m<sup>3</sup>. El Sitio 1 tiene un uso restringido a peatones, el cual es también un sitio contra el viento, y por lo tanto es un buen sitio de referencia. Se encontró que las concentraciones más altas fueron para el Sitio 4 (Río Tijuana), que tuvo un promedio de 40.100 UFC /m<sup>3</sup>. El Río Tijuana (Sitio 4) ha ampliado los asentamientos irregulares en la orilla del río junto con una amplia variedad de plantas, aves y animales domésticos (principalmente perros), además de los escurrimientos de agua de uso doméstico e industrial. En segundo lugar de concentraciones bacterianas altas se encuentran los sitios 7, 8 y 9, coincidiendo con las zonas marginales de la ciudad con condiciones generales sanitarias bajas, tratamiento de aguas residuales, rellenos sanitarios y zonas suburbanas con operaciones ganaderas (Tabla 5 y 6).

**Tabla 5.** Promedio de la concentración microbiana en el aire en los diferentes sitios estudiados (Mañana)

Sitio.	Número de muestras	UFC/m <sup>3</sup> Mañana (Media)	DS	Rango	Gram positiva (%)	Gram negativa (%)
CM1	14	1,400	630	425-2900	62	38
CM2	14	11,750	4789	2970-8700	60	40
CM3	12	17,950	7386	6850-9300	58	42
1	16	230	130	100-550	61	39
2	16	1,700	595	800-2830	62	38
3	16	1,880	736	1000-3400	64	36
4	16	40,100	21689	17800-86700	59	41
5	16	850	310	230-1600	69	31
6	16	825	1152	120-4300	70	30
7	16	9,400	4565	2000-19200	55	45
8	16	2,000	6782	12000-39700	58	42
9	16	19,000	7715	9700-31400	61	39

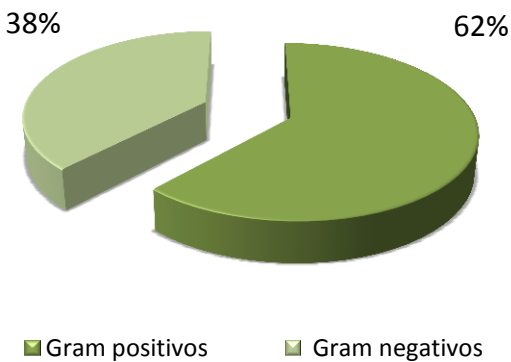
**Tabla 6.** Promedio de la concentración microbiana en el aire en los diferentes sitios estudiados (Tarde)

Sitio	Número de muestras	UFC /m <sup>3</sup> Tarde (Media)	DS	Rango	Gram Positiva (%)	Gram negativa (%)
CM1	14	1,430	671	830-2100	60	40
CM2	14	12,420	5942	3010-17300	62	38
CM3	12	19,450	8090	7200-21300	64	36
1	16	450	280	110-890	52	48
2	16	1,950	768	900-3800	65	35
3	16	1,435	1059	300-4300	68	32
4	16	38,800	1502	15700-63450	59	41
5	16	2,320	2670	420-9000	61	39
6	16	700	791	200-2900	69	31
7	16	28,700	9908	12800-49000	64	36
8	16	25,700	5663	17200-34000	64	36
9	16	28,100	9403	17500-51000	61	39

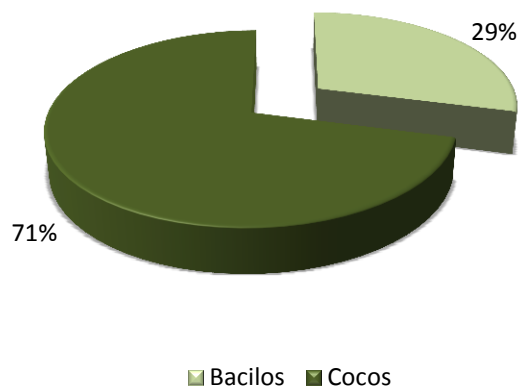
## VII.2. Diversidad bacteriana.

Después de analizar la morfología colonial (macroscópica) de las UFC de cada muestra, se agruparon por características macroscópicas, y se procedió a realizar la tinción de Gram para identificar la morfología microscópica de cada grupo de UFC. En general, el 62% de las bacterias fueron Gram positivas y 38% Gram negativas (Gráfica 1). Cuando se examinó la morfología celular, la incidencia de células en forma de cocos fue del 71%, predominando sobre aquellos con forma de bacilo que representan el 29% (Gráfica 2).

**Gráfica 1.** Porcentajes de bacterias Gram positivas y Gram negativas encontradas en las muestras.



**Gráfica 2.** Morfología celular de las bacterias encontradas en las muestras de aire.



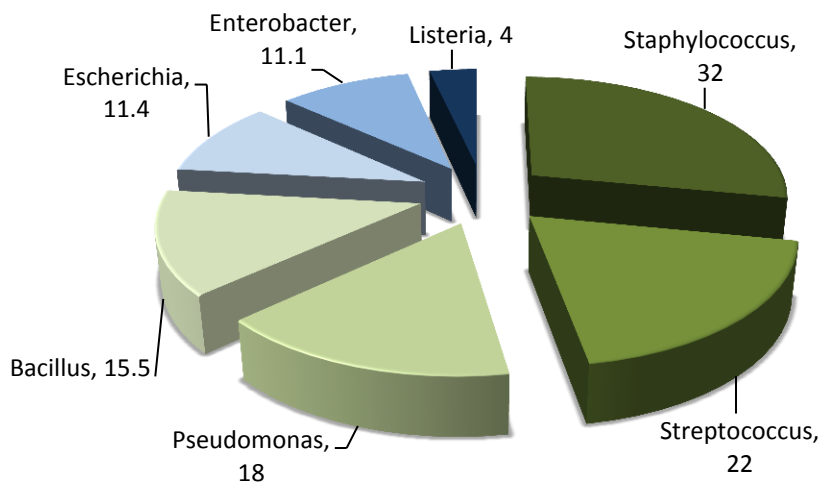
También se realizó la caracterización bioquímica de bacterias aisladas para la identificación a nivel de género. Los resultados se resumen en la Tabla 7, donde en promedio de todos los sitios muestreados, *Staphylococcus* representa la frecuencia más alta de la población bacteriana en el aire, seguido de *Enterococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacterias* y *Listeria spp.* La distribución se muestra en la gráfica 3.

**Tabla 7.** Frecuencias de géneros bacterianos más comunes de bacterias patógenas aisladas (Gram negativo y Gram positivo).

Género bacteriano	Promedio (%)	Rango (%)	Dosis infectiva (células viables)*	Sitio con mayor incidencia Promedio (UFC/m <sup>3</sup> )
<i>Staphylococcus</i>	32	25-34	10 <sup>6</sup>	Sitio 8 (8,738)
<i>Streptococcus</i>	22	20-24	< 10 <sup>3</sup>	Sitio 9 (6,744)
<i>Pseudomonas</i>	18	14-21	10 <sup>2</sup>	Sitio 4 (8,422)
<i>Bacillus</i>	15	10-16	10 <sup>4</sup>	Sitio 8 (4,112)
<i>Escherichia</i>	11	8-17	> 10 <sup>4</sup>	Sitio 4 (6,817)
<i>Enterobacter</i>	11	8-15	>10 <sup>4</sup>	Sitio 7 (4,305)
<i>Listeria</i>	4	0-8	>10 <sup>4</sup> -10 <sup>6</sup>	Sitio 9 (562)

\*Gerardi Michael, Zimmerman Mel, Wastewater Pathogens, Wiley, 2005

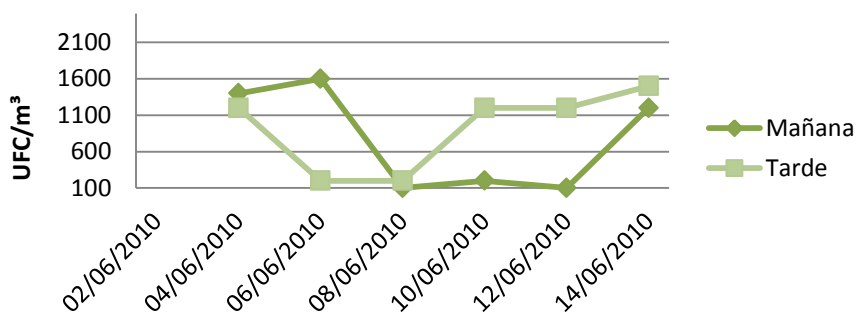
**Gráfica 3.** Porcentaje de Géneros bacterianos presentes en el aire.



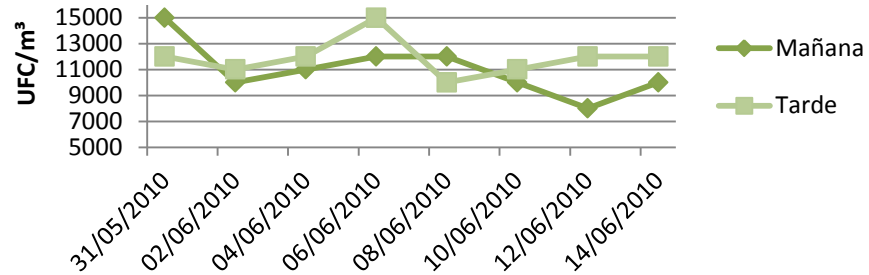
### VII.3. La variación estacional en la contaminación microbiana del aire.

Durante la campaña de Cal-Mex 2010, (fechas de muestreo de bacterias aerotransportadas de mayo-junio, 2010), la concentración microbiana en el sitio CM1 fue 94% menor en comparación con los otros dos sitios (CM2 y CM3), CM1 se encuentra en el oeste de la ciudad y a mayor altitud, mientras que los sitios CM2 y CM3 se encuentran al este de la ciudad (Gráfica 4, 5 y 6). En el sitio CM3 tenía la carga microbiana más alta tanto en la mañana como en la noche y es el sitio más alejado hacia el este de la ciudad, con un promedio de  $17.950 \pm 7.386 \text{CFU} / \text{m}^3$  en el muestreo matutino y  $19.450 \pm 8.090 \text{UFC} / \text{m}^3$  en el muestreo vespertino (Tablas 5 y 6).

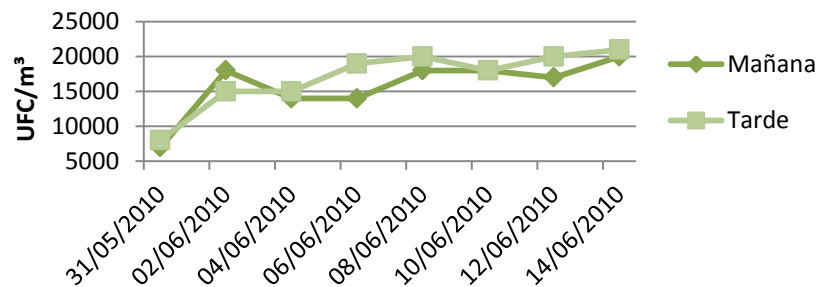
**Gráfica 4.** Concentración microbiana en el sitio CM1 muestreado durante la campaña Cal-Mex 2010.



**Gráfica 5.** Concentración microbiana en el sitio CM2 muestreado durante la campaña Cal-Mex 2010.

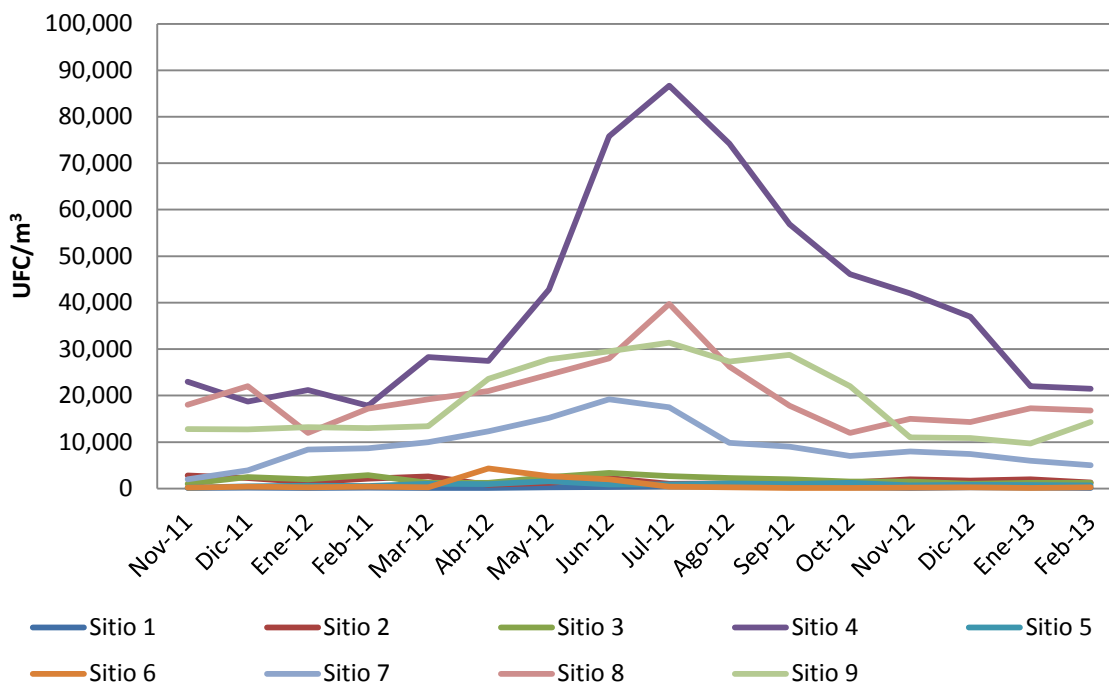


**Gráfica 6.** Concentración microbiana en el sitio CM3 muestreado durante la campaña Cal-Mex 2010

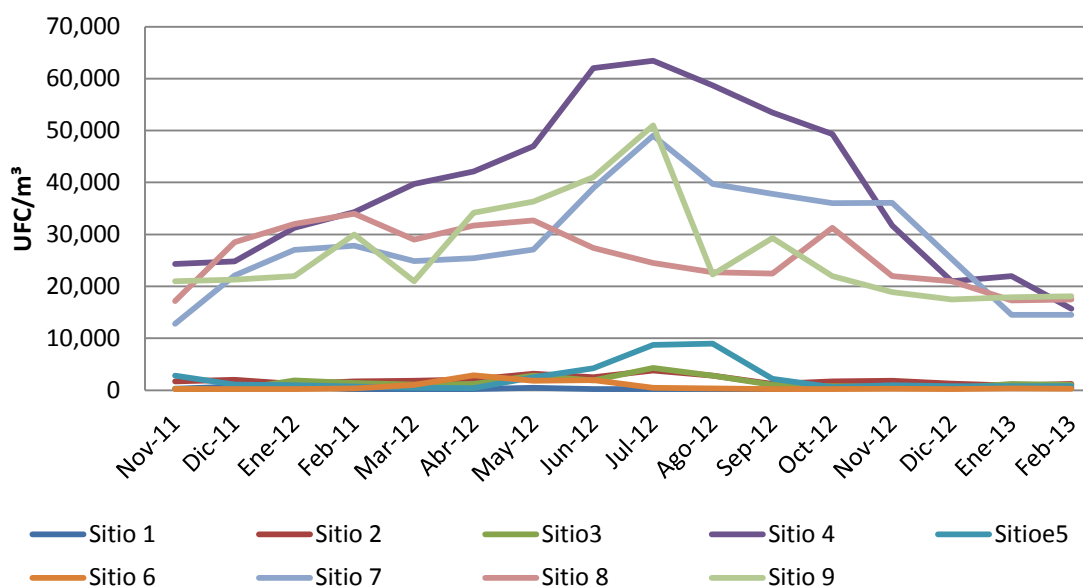


Durante el muestreo mensual, se puede observar que la carga bacteriana en el aire fue mayor durante el período de junio a agosto y la más baja en los meses de invierno para todos los sitios (Gráficas 7 y 8).

**Gráfica 7.** Distribución estacional de la concentración de bacterias en el aire de las zonas muestreadas en Tijuana durante el período de un año 2011-2013 (Mañana).

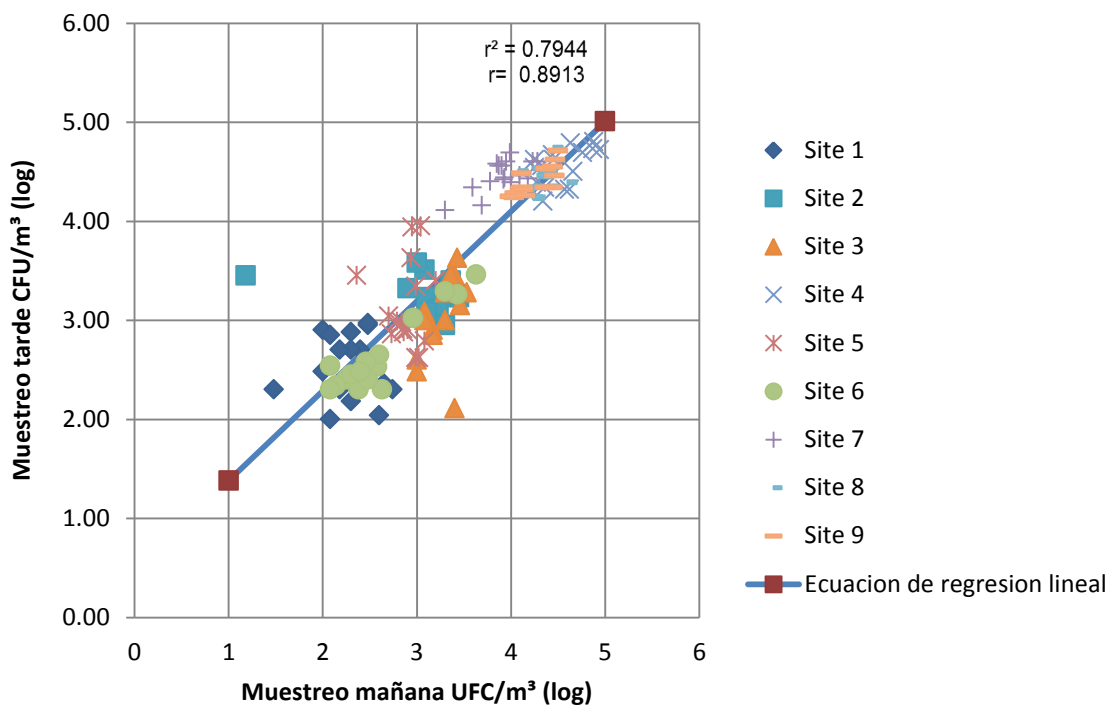


**Gráfica 8.** Distribución estacional de la concentración de bacterias en el aire de las zonas muestreadas en Tijuana durante el período de un año 2011-2013 (Tarde).



El muestreo de la mañana y la tarde fueron relativamente bien correlacionados para cada sitio. Los niveles de UFC en el Sitio 1 a 9 están altamente correlacionados entre la mañana y la tarde ( $r^2 = 0,794$ ) (Gráfica 9), con una mayor concentración de UFC por la tarde en la mayoría de los sitios (Tabla 2, Gráfica 9).

**Gráfica 9.** Gráfico de dispersión entre el muestreo de mañana y tarde de un mismo sitio



#### VII. 4. Condiciones meteorológicas.

Durante todos los muestreos, se midieron las condiciones meteorológicas del sitio, las cuales no tuvieron variaciones muy significativas, por la mañana la dirección del viento venía del sur, suroeste, y en las tardes cambia la dirección del viento del noroeste principalmente (Tabla 8).

**Tabla 8.** Promedio de las condiciones meteorológicas por sitio de muestreo

	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5	Sitio 6	Sitio 7	Sitio 8	Sitio 9
Flujo (Litros por minute) lpm	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Promedio de T°AM	10	24	23	12	18	20	23	25	23
Promedio de T°PM	15	30	23	26	23	32	30	30	22
Promedio Dirección viento AM del	E/O	SE/N	SE/N	SO/NE	S/N	S/N	SO/NE	SO/NE	SE/NO
Promedio dirección viento PM del	NE/SE	SO/NE	SO/NE	NE/SE	NO/SE	NO/SE	NO/SE	NO/SE	NO/SE
Promedio velocidad viento AM del	11	3	5	3	2	4	3	4	2
Promedio velocidad viento PM del	10	2	3	4	4	4	5	4	3
Promedio AM HR	25	39	39	41	49	34	39	40	32
Promedio PM HR	55	41	41	42	30	24	47	47	33

---

## VIII. Discusión

---

Las concentraciones microbianas en todo Tijuana indican un nivel significativo de contaminación microbiana en el aire urbano, sobre todo en la zona del río Tijuana, que presento concentraciones 200 veces mayor que el área de referencia (Playas de Tijuana). Los niveles de bioaerosoles bacterianos reportados por otros autores, han variado mucho según la región y el sitio (Atlas y Bartha, 2002). En un estudio en Marsella, Francia, Di Giorgio et al. (1996), reportó una concentración media de microorganismos viables en el aire de  $791 \pm 598$  CFU / m<sup>3</sup>, que son más bajos de los que se encontraron en este estudio (230 - 40 100 UFC / m<sup>3</sup>). Lighthart (2000) llevó a cabo una revisión de los estudios de medición de bacterias en el aire, la estimación de un número medio de bacterias totales fue de  $1,9 \times 10^5$ /m<sup>3</sup>, de los cuales aproximadamente el 1% son cultivables (1900 células/ m<sup>3</sup>). Los niveles de bioaerosoles bacterianos encontrados en Tijuana para los sitios 4, 7, 8 y 9 son superiores a los 4,000 UFC/m<sup>3</sup> reportado en Arizona por Zhu et al. (2003) en sitios similares a estos y más alto que la mayoría de los valores medidos reportados por Chen et al. (2012) a partir de muestras de aire en China.

La carga microbiana fue más alta durante junio a septiembre en Tijuana, que igualmente ha sido informado en estudios realizados en París, Moscú y Montreal (Lighthart, 2000). La abundancia relativa de las células bacterianas Gram positivos especialmente cocos frente a los bacilos Gram negativos, puede ser se explicada en base a la composición estructural de su pared celular, que es más resistente a ambientes hostiles tales como la desecación y los niveles de radiación solar que se encuentran en la atmósfera (Lighthart, 2000). Esto puede permitir que las bacterias

Gram positivas puedan permanecer viables en el aire por un periodo de tiempo mayor y mantengan su poder patógeno y ser capaces de causar enfermedades infecciosas en los seres humanos cuando se inhala o se ingiere en los alimentos y el agua (Kaushik y Balasubramanian, 2013). Los seres humanos inhalan más de 10 m<sup>3</sup> de aire por día y se han reportado en promedio que puede llegar a inhalar 532 organismos por metro cubico de aire, (Amman et al., 1995). Sobre la base de estos cálculos, los datos obtenidos en este estudio revelan que los residentes en la población del sitio 4, que resultó el sitio más altamente contaminado y aquellas poblaciones vecinas podrían inhalar aproximadamente 377,000 microorganismos por día. La mayoría de las bacterias recogidas en el aire en China eran de tamaño respirable (PM10), lo que indica que podrían llegar hasta los pulmones (Chen et al., 2012).

La mayor densidad microbiana total correspondió a la zona urbana cercana al río (sitio 4) que presenta actividades humanas relativamente intensas, asentamientos humanos y la presencia de numerosos animales, mientras que la contaminación microbiana menor fue encontrada cerca de la zona industrial. De especial preocupación fue la identificación de organismos patógenos en el aire Tijuana como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Estos también fueron encontrados en el aire anteriormente por otros autores, (Coccia et al., 2010; Pérez et al., 2006; Soto et al., 2009; Kaushik y Balasubramanian, 2013). *Escherichia coli* es un patógeno oportunista y se encuentra en números muy altos en la materia fecal de las aguas residuales, por lo que se incluye con las bacterias patógenas importantes. *Pseudomonas aeruginosa* se encuentran típicamente colonizando la superficie del cuerpo humano, en el agua y en algunos animales, típicamente no causa

enfermedades a menos que el sistema inmunológico del cuerpo esté debilitado por una lesión, aunque en los últimos años *Pseudomonas aeruginosa* es de los patógenos oportunistas más importantes a nivel nosocomial (Cardona, 2003) Varias bacterias patógenas tales como *Staphylococcus spp.* y *Streptococcus spp.* pueden causar enfermedades de la piel, el tracto respiratorio superior y la cavidad oral (Cardona, 2003).

La prevalencia de la dirección del viento del Noroeste, hace que el este de la ciudad de Tijuana el receptor de los contaminantes del aire (Bei et al., 2013), y también por consiguiente, de los bioaerosoles. Las medición durante Cal- Mex 2010 (mayo-junio de 2010) demostraron la variabilidad temporal y espacial entre los sitios de muestreo, lo que indica la importancia de las fuentes locales de bioaerosoles.

Los niveles que se reportan en el presente estudio para el sitio ubicado cerca del relleno sanitario es similar a los niveles reportados cerca de vertederos en Aguascalientes, México (Flores et al., 2007) y Santa Marta, Colombia (Vélez et al., 2010). Las concentraciones de los sitios 2, 3 y 5 (en el centro de la ciudad, distrito gastronómico y una zona verde) son muy similares a los obtenidos en Guangzhou, China (Chen et al., 2012) (Tabla 9). En los sitios 4, 7, 8 y 9, se obtuvieron las más altas concentraciones durante la mañana y la tarde, y no hay variaciones estacionales considerables, lo que indica que estos sitios son potencialmente fuentes generadoras de bioaerosoles para la ciudad de Tijuana.

**Tabla 9.** Comparación de las concentraciones en el aire de bacterias obtenidas en Tijuana con otros lugares del mundo.

Lugar, año	Niveles (Promedio) UFC/m <sup>3</sup>	Sitio (principales características)	Referencia
Aguascalientes, México 2004-2005	800	Relleno sanitario	Flores et al 2007
Yucatán, México, 2007	4303	Tratamiento de aguas residuales	Sanchez et al 2007
Barcelona, España, 2006	5800	Planta recicladora	Solans et al 2007
Murcia España, 2007-2008	137	Laguna	Soto et al,2009
	194	Area verde	
	245	Centro de la ciudad	
	60	Area peatonal	
Santa Marta, Colombia 2009	820	Relleno sanitario	Vélez et al 2010
Roma, Italia, 2010	900	Tratamiento de aguas residuales	Coccia et al 2010
Kumamoto, Japón 2010	1.6 x 10 <sup>7</sup>	Polvo	Kazutaka Hara & Daizhou Zhang, 2011
Guangzhou, China 2008-2010	1413	Centro de la ciudad	Chen et al, 2012
	2092	Área verde	
	689	Lago	
Tijuana, México 2010 - 2013	340	Sitio de referencia (Playas de Tijuana)	Hurtado et al 2014
	23550	Relleno sanitario	
	19050	Tratamiento de aguas residuales	
	1825	Centro de la ciudad	
	39450	Rio Tijuana	
	1415	Distrito gastronómico y área comercial	
	1585	Área verde	
	13850	Zona rural ganadera	
763	Zona industrial		

---

## IX. Conclusiones

---

Los resultados indican que los niveles de bioaerosoles en el aire variaron en la ciudad de Tijuana, y que los niveles fueron más altos en verano. Las concentraciones de bioaerosoles fueron más altas en el Río Tijuana (Sitio 4), las operaciones ganaderas (sitio 8), en el relleno sanitario (sitio 9) y en la planta de tratamiento de aguas residuales (sitio 7). También se identificaron microorganismos patógenos que pueden causar enfermedades en las personas expuestas a estos organismos. La presencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en muestras de Río Tijuana (sitio 4) y el tratamiento de aguas residuales (sitio 7) sugiere que son una fuente puntual de contaminación biológica atmosférica, por la emisión de bioaerosoles.

Las fuentes de aerosoles biológicos son tanto ambiental como humana, la vía de exposición a estos aún no está totalmente establecida, por lo que la evaluación cuantitativa de la exposición de los agentes etiológicos en el aire, es importante, ya que el tratamiento de aerosol puede sólo parcialmente interrumpir la exposición, y no hay regulaciones ambientales para orientar y promover la investigación y la intervención en este campo. La falta de regulaciones pueden haber dado lugar a la falta de desarrollo en el pasado de la investigación en bioaerosoles, pero el bioterrorismo, los agentes infecciosos respiratorios emergentes, y en menor medida los incrementos en las alergias y el asma están conduciendo a un nuevo y significativo progreso para este campo.

Es necesaria la utilización de nuevas tecnologías para medir la exposición a los bioaerosoles, para describir la identidad, concentración y destino ambiental de agentes biológicos en el aire, así mismo para la predicción de la exposición en el aire, la

estimación del riesgo, y mejorar la comprensión de la interacción de los bioaerosoles con el entorno.

Sin embargo, hasta la fecha no se han estudiado estos efectos extensamente y, por tanto, la información en estos temas es limitada. Por lo que es de suma importancia la investigación adicional de bioaerosoles en cuanto a las fuentes, el transporte, la exposición de la población y los riesgos potenciales para la salud en Tijuana.

---

## X. Referencias

---

1. Agranovski, I. E., Agranovski, V., Grinshpun, S. A., Reponen, T., y Willeke, K. 2002. Collection of Airborne Microorganisms into Liquid by Bubbling through Porous Medium. *Aerosol Science and Technology*, 502-509.
2. Amann RI, Ludwig W & Schleifer KH. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews* 59: 143-169.
3. Amend AS, Seifert KA, Samson R, Bruns TD. 2010. Indoor fungal composition is geographically patterned and more diverse in temperate zones than in the tropics. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 13748–13753.
4. Andersen. A, 1958. New sampler for the collection, sizing, and enumeration of viable airborne particles. *Journal of Bacteriology*. 76: 471-484 p.
5. Atlas R & Bartha R. 2002. *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Ed. Pearson Educación, Madrid.
6. Balasubramanian, R., Qian, W.B., Decesari, S., Facchini, M.C., Fuzzi, S., 2003. Comprehensive characterization of PM<sub>2.5</sub> aerosols in Singapore. *Journal of Geophysical Research* 108, 4523
7. Bauer, H., Giebl, H., Hitzemberger, R., Kasper-Giebl, A., Reischl, G., Zibuschka, F., Puxbaum, H., 2003. Airborne bacteria as cloud condensation nuclei. *Journal of Geophysical Research* 108. Doi: 10.1029/2003JD003545.
8. Bethwaite P, McLean D, Kennedy J, Pearce N. 2001. Adultonset acute leukaemia and employment in the meat industry: a New Zealand case-control study. *Cancer Causes Control*; 12: 635–43.

9. Bei, N., Li, G., Zavala, M., Barrera, H., Torres, R., Grutter, M., Gutiérrez, W., Garcia, M., Ruiz-Suarez, L. G., Ortinez, A., Gutiérrez, Y., Alvarado, C., Flores, I., Molina, L. T. 2013. Meteorological overview and plume transport patterns during Cal-Mex 2010. *Atmospheric Environment*, 70, 477-489.
10. Bernstein J. A., Alexis N., Bacchus H., Bernstein L., Fritz P., Horner E., Li N. Mason S., Nel A., Oullette J., Reijula K., Reponen T., Seltzer J., Smith A. Tarlo S. M. 2008. The health effects of nonindustrial indoor air pollution. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 121(3), 585-591.
11. Blais Lecours Pascale, Veillette Marc, Marsolais David, and Duchainea Caroline (2012). Characterization of Bioaerosols from Dairy Barns: Reconstructing the Puzzle of Occupational Respiratory Diseases by Using Molecular Approaches. *Applied and Environmental Microbiology* p. 3242–324.
12. Bornehag, C. G.; et al. 2005. Dampness at Home and Its Association with Airway, Nose, and Skin Symptoms among 10,851 Preschool Children in Sweden; A Cross-Sectional Study. *Indoor Air*, 15, 48–55
13. Braun-Fahrlander C, Riedler J, Herz U et al. 2002. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med*; 347: 869–77
14. Bray GA, Ryan DH. 1991. *Mycotoxins, cancer, and health*. Baton Rouge, LA: Louisiana State University Press.
15. Brooks, J. P., C. P. Gerba, and I. L. Pepper. 2004. Biological aerosol emission, fate, and transport from municipal and animal wastes. *J. Resid. Sci. Technol.* 1:15-28.

16. Brooks, J. P., B. D. Tanner, C. P. Gerba, C. N. Haas, and I. L. Pepper. 2005a. Estimation of bioaerosol risk of infection to residents adjacent to a land applied biosolids site using an empirically derived transport model. *J. Appl. Microbiol.* 98:397-405.
17. Brodie Eoin L., DeSantis Todd Z., Moberg Parker Jordan P., Zubieta Ingrid X., Piceno Yvette M., and Andersen Gary L. 2007. Urban aerosols harbor diverse and dynamic bacterial populations. *PNAS* vol. 104 no. 1 299–304
18. Cambra-López, M., A. J. A. Aarnink, Y. Zhao, S. Calvet, A. G. Torres. 2010. Airborne particulate matter from livestock production systems: A review of an air pollution problem. *Environ. Poll.* 158:1-17.
19. Cardona JD. 2003. Contaminación ambiental y enfermedad respiratoria. *Revista de Neumología* 15: 1-4.
20. Chen, P.-S.; Li, C.-S. 2005. Quantification of Airborne Mycobacterium tuberculosis in Health Care Setting Using Real-Time qPCR Coupled to an Air-Sampling Filter Method. *Aerosol Sci. Technol.* 2005, 39, 371–376.
21. Chen Xinyu, Ran Pixin, Ho Kin Fai, Lu Wenju, Li Bing, Gu Zhongpeng, Song Chaojie, Wang Jian. 2012. Concentrations and size distributions of airborne microorganisms in Guangzhou during summer aerosol and air quality research, Vol.12, No. (6), P.1336–1344.
22. Chang, C. y Chou, F. 2011. Methodologies for quantifying culturable, viable, and total *Legionella pneumophila* in indoor air. *Indoor Air*, 21(4), 291-299. doi:10.1111/j.1600-0668.2010.00701.x

23. Chen, Q., & Hildemann, L. M. 2009. The Effects of Human Activities on Exposure to Particulate Matter and Bioaerosols in Residential Homes. *Environmental Science & Technology*, 4641-4646.
24. Christner, B.C., C.E. Morris, C.M. Foreman, Rongman Cai, and D.C. Sands 2008. Ubiquity of Biological Ice Nucleators in Snowfall, *Science*, Vol.319, 1214.
25. Clark C.S., Bjornson H.S., Schwartz-Fulton J. et al 1984. Biological health risks associated with the composting of wastewater treatment plant sludge. *Journal WPCF*, 56, 1269-1276. en Breum N.O., Nielsen B.H., Müller Nielsen E., Poulsen O.M. (1996). BioAerosols Exposure During Collection of Mixed Domestic Waste. An Intervention Study on Compactor Truck Desing. *Waste Management and Research*, 14, 527-536.
26. Coccia, Anna Maria, Gucci Paola Margherita, Lacchetti Ines, Paradiso Rosa and Scaini Federica 2010. Airborne microorganisms associated with waste management and recovery: biomonitoring methodologies. *Ann Ist Super Sanità* Vol. 46, No. 3: 288-292 DOI: 10.4415/ANN\_10\_03\_11
27. Colbeck I. 2008. *Environmental Chemistry of Aerosols*. Blackwell Publishing. U.K. 255 pp.
28. Colbeck, I., y Nasir, Z. 2010. Indoor Air Pollution Chapter 2. En *Human Exposure to Pollutants via Dermal Absorption and Inhalation - Environmental Pollution* (págs. 41- 72). Springer Science
29. Committee on Acute Respiratory Infections. *Acute Respiratory Infections: The Forgotten Pandemic*. Communiqué from the International Conference on

- Acute Respiratory Infections held in Canberra, Australia, July 7–10, 1997. *Int. J. Tuberculosis Lung Dis.* 1998, 2, 2–4
30. Coz, E., Artíñano, B. a., Robinson, A. L., Casuccio, G. S., Lersch, T. L. and Pandis, S. N. (2008). Individual Particle Morphology and Acidity. *Aerosol Science and Technology* 42:224 - 232.
  31. De la Rosa M. C., Mosso M.A., Ullan, 2002. El aire: Habitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio ambiental Vol. 5: 375-402.*
  32. De Leon-Rodriguez Natasha, Lathemb Terry L., Rodriguez-Ra Luis M., Barazeshc James M., Andersond Bruce E., Beyersdorfd Andreas J., Ziembad Luke D., Berginb Michael, Nenesb Athanasios, and Konstantinidisa Konstantinos T; 2013. Microbiome of the upper troposphere: Species composition and prevalence, effects of tropical storms, and atmospheric implications. *PNAS. Vol. 110 no. 7 2575–2580.*
  33. Deguillaume, L., Leriche, M., Amato, P., Ariya, P. A., Delort, A.-M., Pöschl, U., Chaumerliac, N. Bauer, H., Flossmann, A. I., and Morris, C. E.: 2008. Microbiology and atmospheric processes: chemical interactions of primary biological aerosols, *Biogeosciences*, 5, 1073-1084.
  34. Demers PA, Boffetta P. 1998. Cancer risk from occupational exposure to wood dust. *IARC Technical Report no. 32. Lyon: IARC.*
  35. Di Giorgio C, Krempff A, Guiraud H, Binder H, Tiret C & Dumenil G. 1996. Atmospheric pollution by airborne microorganisms in the city of Marseille. *Atmospheric Environment* 30: 155-160.

36. Dimmick, R.L., Wolochow, H.G., 1979 Evidence for more than one division of bacteria within airborne particles. *Applied and Environmental Microbiology*, 38 4:642-343.
37. Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N., & Heederik, D., 2003. Bioaerosols: health effects and exposure assessment: Progress and prospects. *Ann. Occup. Hyg.* 47 3: 187-200.
38. Draxler, R.R. and Hess G.D. 1998b. An overview of HYSPLIT\_4 system for trajectories, dispersion and deposition. *Australian Meteorological Magazine*, 47, 295-308
39. Dungan, R. S., & Leytem, A. B. (2009b). Qualitative and quantitative methodologies for determination of airborne microorganisms at concentrated animal-feeding operations. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 1505–1518.
40. Epstein E., Wu N., Youngberg C., Croteau G. (2001). Controlling dust and bioaerosols at a biosolids composting facility. *BioCycle*, 42(4), 50-54.
41. Fierer, Noah, Zongzhi Liu, Mari Rodriguez-Hernandez, Rob Knight, Matthew Henn, and Mark T. Hernandez 2008. Short-Term Temporal Variability in Airborne Bacterial and Fungal Populations. *App. Environm. Microb.*, Vol. 74., No.1, 200-207.
42. Flores-Tena FJ, Pardavé LM & Valenzuela I. 2007. Estudio aerobiológico de la zona San Nicolás, municipio de Aguascalientes, México. *Investigación y Ciencia* 15: 13-18.

43. Garrison, V. H.; et al. African and Asian Dust: From Desert Soils to Coral Reefs. *BioScience* 2003, 53, 469–480.
44. Gavidia, T., Pronczuk, J., Sly, P., 2009. Environmental impacts on the respiratory health of children: Global burden of pediatric respiratory diseases linked to the environment. *Rev Chil. Enf. Respir.* 25: 99-108.
45. Gerardi Michael, Zimmerman Mel, *Wastewater Pathogens*, Wiley, 2005
46. Goyer, N., Levoie, J., Lazure, L., & Marchand, G. (2001). *Bioaerosols in the Workplace: Evaluation, Control and Prevention Guide. Études et Reserches.*
47. Gregory PH. 1973. *The microbiology of the atmosphere*. Ed. John Wiley and Sons, New York.
48. Griffin, D.W., Kellogg, C.A., Garrison, V.H., Lisle, J.T., Borden, T.C., Shinn, E.A., 2003. Atmospheric microbiology in the northern Caribbean during African dust events. *Aerobiologia* 19, 143e157.
49. Griffin DW. 2007. Atmospheric movement of microorganisms in clouds of desert dust and implications for human health. *Clinical Microbiological Reviews* 20: 459-477.
50. Hervàs, A., Camarero, L., Reche, I., Casamayor, E.O., 2009. Viability and potential for immigration of airborne bacteria from Africa that reach high mountain lakes in Europe. *Environmental Microbiology* 11, 1612e1623.
51. Hua, N.-P., Kobayashi, F., Iwasaka, Y., Shi, G., Naganuma, T., 2007. Detailed identification of desert-originated bacteria carried by Asian dust storms to Japan. *Aerobiologia* 23, 291e298.

52. Hurtado Lilia, Rodríguez Guillermo, López Jonathan, Castillo Javier, Molina Luisa, Zavala Miguel, Quintana Penélope 2014. Characterization of Atmospheric Bioaerosols at 9 sites in the Cal-Mex Region, Tijuana, Mexico. *Atmospheric Environment* 96 (2014) 430-436
53. INSHT. 1997. Guía Técnica Para La Evaluación y Prevención De Los Riesgos Relacionados Con La Exposición A Riesgos Biológicos. España: Ministerio del Trabajo y Asuntos Sociales-Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo.
54. Israeli, E.; Gitelman, J.; Lighthart, B. 1994. Death Mechanisms in Bioaerosols. In *Atmospheric Microbial Aerosols, Theory and Applications*, Lighthart, B., Mohr, A. J. (Eds.); Chapman and Hall: New York, p 166-191.
55. Jones Alan M. and Harrison M Roy. 2004. The Effects of Meteorological Factors on Atmospheric Bioaerosol Concentrations A Review, 2004. *Sci. Tot. Environ.*, 326, 151-180
56. Kazutaka Hara, Daizhou Zhang, 2011. Bacterial abundance and viability in long-range transported dust. *Atmospheric Environment* 47 p 20-25
57. Karra, S., Katsivella, E., 2007. Microorganisms in bioaerosols emissions from wastewater treatment plants during summer at a Mediterranean site. *Water Research* 41, 1355e1365.
58. Kaushik Rajni & Balasubramanian Rajasekhar; 2012, Assessment of bacterial pathogens in fresh rainwater and airborne particulate matter using Real-Time PCR. *Atmospheric Environment* 46 131-139

59. Kaushik Rajni, Balasubramanian Rajasekhar 2013. Discrimination of viable from non-viable Gram-negative bacterial pathogens in airborne particles using propidium monoazide-assisted qPCR. *Science of the Total Environment* 449 237–243
60. Lighthart B. 2000. Mini-review of the concentration variations found in the alfresco atmospheric bacterial populations. *Aerobiologia* 16: 7-16.
61. Lin W-H, Li C-S. 2000. Associations of fungal aerosols, air pollutants, and meteorological factors. *Aerosol Sci Technol*; 32: 359-368.
62. Malmros P, Sigsgaard T & Bach B. (1992). Occupational health problems due to garbage sorting. *Waste management & research*, 10, 227-234. en Breum N.O.
63. Mandal, J., & Brandl, H. 2011. Bioaerosols in Indoor Environment - A Review with Special Reference to Residential and Occupational Locations. *The Open Environmental & Biological Monitoring Journal*, 83-96.
64. Manual de HYCON Muestreador RCS (Reuter Centrifugal Sampler)
65. Marks, P. J.; et al. 2003. A School Outbreak of Norwalk-like Virus: Evidence of Airborne Transmission. *Epidemiol. Infect.*, 131, 727–736.
66. Masoli, M.; et al. 2004. The Global Burden of Asthma: Executive Summary of GINA Dissemination Committee Report. *Allergy*, 59, 469–478.
67. Meier R & Zingre H. 2000. Qualification of air sampler systems: the MAS-100, *Swiss Pharma* 22: 15-21.
68. MERCK COMPANY. Manual 02 del MAS-100
69. Millipore, Manual de usuario M air T 2010.

70. Montoya, L., Lawrence, J., Krishna, G., Sarnat, J., Godleski, J., & Koutrakis, P., 2004 Continuous Measurements of Ambient Particle Deposition in Human Subjects, *Aerosol Science and Technology*, 38:10, 980-990.
71. Nasir ZA, Colbeck I, 2010. Assessment of bacterial and fungal aerosol in different residential settings *Water, Air, & Soil Pollution* 211 (1-4), 367-377.
72. Nevalainen, A., & Morawska, L. 2009. Biological Agents in Indoor Environments Assessment of Health Risks. WHO, QUT, 1-206
73. Nicas, M.; Sun, G. An Integrated Model of Infection Risk. *Risk Anal.* 2006, 26, 1085–1096.
74. NTP 288. Síndrome del edificio enfermo: enfermedades relacionadas y papel de los bioaerosoles. Ministerio de trabajo y asuntos sociales. España (2003).
75. Otten, J.A. and Burge, H.A.1999. Viruses. In Macher, J. (ed.) *Bioaerosols: Assessment and Control*. American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Cincinnati, OH, pp. 211 - 216.
76. Paez-Rubio Tania, Viau Emily, Romero-Hernandez Socorro, and Peccia Jordan. 2005 Source bioaerosol concentration and rRNA gene-based identification of microorganisms aerosolized at a flood irrigation wastewater reuse site. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 71, No. 2 p. 804–810
77. Pascual Leonor, Pérez Sara, Yáñez M. Adela, Santamaría Ana, Gibert Karina Salgot Miguel, Apraiz David & Catalán Vicente, 2003. Bioaerosol emission from wastewater treatment plants. Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona, Spain; Departamento de Productos Naturales, Biología Vegetal

- Sanitaria y Edafología, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, Barcelona, 2003
78. Perdomo, D., 2009 Contaminantes aéreos y sus efectos en pacientes alérgicos del Valle de Caracas. *Gaceta Medica Caracas*, 117 4:274-313
  79. Perez Fabio, Olaya David, Sarmiento Hugo y Pachon Jorge. 2006. Caracterización cualitativa-cuantitativa de bioaerosoles relacionados con factores meteorológicos y material particulado en puente aranda bogotá D.C. Tesis Universidad de La Salle Colombia.
  80. Prospero, J., P. Ginoux, O. Torres, and S. E. Nicholson 2002, Environmental Characterization of Global sources of atmospheric soil dust derived from the NIMBUS-7 TOMS absorbing aerosol product, *Rev. Geophys.*, 40(1), 1002, doi:10.1029/20000GR000095.
  81. Pyankov Oleg V; Agranovski Igor E., Pyankova Olga, Mokhonova Ekaterina, Mokhonov Vlad, Safatov Alexander S. and Khromykh Alexander A., 2007. Using a bioaerosol personal sampler in combination with real-time PCR analysis for rapid detection of airborne viruses *Environmental Microbiology* 9(4), 992–1000.
  82. Revilla, E. 2004. Contaminantes ambientales aéreos y su repercusión en la salud y productividad de los cerdos. En: DSM Jornada Técnica de Porcino.
  83. Rojas, N. 2005. Generalidades sobre material particulado y su caracterización. Una introducción a la problemática de la contaminación del aire. 1: 1-5.

84. Riley, R.L, and Kaufmann, J.E. 1972. Effect of relative humidity on the inactivation of airborne *serratia marcensens* by ultraviolet radiation. *Appl. Microbiol.*, 23, 1113-1120 p.
85. Sánchez Monedero, M. A., Aguilar, M. I., Fenoll, R. y Roig, A. 2007. Generación de bioaerolses en estaciones depuradoras de aguas residuales. *Ingenieria Revista Academica de la FI-UADY*, 11-1, p 37-42.
86. Seager, R.; et al 2007. Model Predictions of an Imminent Transition to a More Arid Climate in Southwestern North America. *Science*, 361, 1181.
87. Smith, D.J., Griffin, D.W., McPeters, R.D., Ward, P.D., Schuerger, A.C., 2011. Microbial survival in the stratosphere and implications for global dispersal. *Aerobiologia*. doi:10.1007/s10453-011-9203-5.
88. Solans Xavier, Alonso Rosa María, Constans Angelina, Mansilla Alfonso, 2007. Occupational exposure to airborne fungi and bacteria in a sorting source-separated packages household waste plant. *Revista Iberoamericana de Micología*. Volume 24, Issue 2, Pages 131–135
89. Soto, T, Lozano, M, Vicente-Soler, J, Cansado, J & Gacto, M. 2009. Microbiological survey of the aerial contamination in urban areas of the city of Murcia, Spain, *Anales de Biología* 31: 7-13
90. Srikanth, P., Sudharsanam, S., & Steinberg, R. 2008. Bio-Aerosols In Indoor Environment: Composition, Health Effects And Analysis. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 302-312

91. Stelzenbach, L.D., 2002. Introduction to aerobiology. In: Hurst, C.J., et al. (Eds.), *Manual of Environmental Microbiology*. ASM Press, Washington, DC, pp. 801–813.
92. Swan, J.R.M., Kelsey, A., Crook, B., Gilbert, E.J. 2003. “Occupational and environmental exposure to bioaerosols from composts and potential health effects – A critical review of published data”. Research Report 130, HSE Books, Health and Safety Executive, Suffolk, UK.
93. Tellier, R. 2006. Perspective: Review of Aerosol Transmission of Influenza A Virus. *Emerging Infect. Dis.*, 12, 1557–1661.
94. Toivola, M., Alm, S., Reponen, T., Kolari, S., & Nevalainen, A., 2002. Personal exposure and microenvironmental concentrations of particles and bioaerosols. *Journal of Environmental Monitoring*, 4:166-174
95. Urbano, R., Palenik, B., Gaston, C. J., and Prather, K. A. 2011. Detection and phylogenetic analysis of coastal bioaerosols using culture dependent and independent techniques, *Biogeosciences*, 8, 301-309, doi:10.5194/bg-8-301-2011.
96. Vélez Pereira Andrés, Camargo Caicedo Yiniva, Balaguera Rincones Sandra Rocío, 2010. Spatio-temporal distribution of aerobacterias in the palangana’s landfill, Santa Marta (Colombia) *Rev. Intropica* Vol. 5 p. 7 – 18.
97. WARK, Kenneth. *Contaminación del aire: origen y control*. Mexico: Editorial Limusa, 2002. 46 p.
98. WHO, Fact sheet N°292: Indoor air pollution and health: Scope of the problem. 2005.

99. Willeke, K., & Baron, P. 1993. In Van Norstrand R. (Ed.), Aerosol measurement: Principles, techniques and applications. (1st Ed.). United States of America: Van Norstrand Reinhold.
100. Wu Yi-Hua, Chan Chang-Chuan, Chew Ginger L., Shih Po-Wen, Lee Chung-Te y Chao H. Jasmine. 2003. Meteorological factors and ambient bacterial levels in a subtropical urban environment. Int J Biometeorol DOI 10.1007/s00484-011-0514-6.
101. Yu, I. T. S.; et al. 2004. Evidence of Airborne Transmission of the Severe Acute Respiratory Syndrome Virus. New Engl. J. Med. 350, 1731–1739.
102. Zhu H., Phelan PE, Duan T, Raupp GB, Fernando H & Che F. 2003. Experimental study of indoor and outdoor airborne bacterial concentrations in Tempe, Arizona, USA. Aerobiologia 19: 201-211

#### CIBERGRAFIA

103. Web site MCE2. <http://mce2.org/es/campanas/cal-mex-2010>
104. Web site CAN. [http://www.conagua.gob.mx/sina/sitios fuertemente contaminados 2013](http://www.conagua.gob.mx/sina/sitios_fuertemente_contaminados_2013).
105. [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/monitoring/jmp2012/fr/](http://www.who.int/water_sanitation_health/monitoring/jmp2012/fr/)
106. [http://www.who.int/phe/about\\_us/es/](http://www.who.int/phe/about_us/es/)
107. [http://www.epa.gov/sciencenotebook/asthma/index\\_files/LTG\\_3-12\\_Ward.pdf](http://www.epa.gov/sciencenotebook/asthma/index_files/LTG_3-12_Ward.pdf)

---

## XI. Anexos

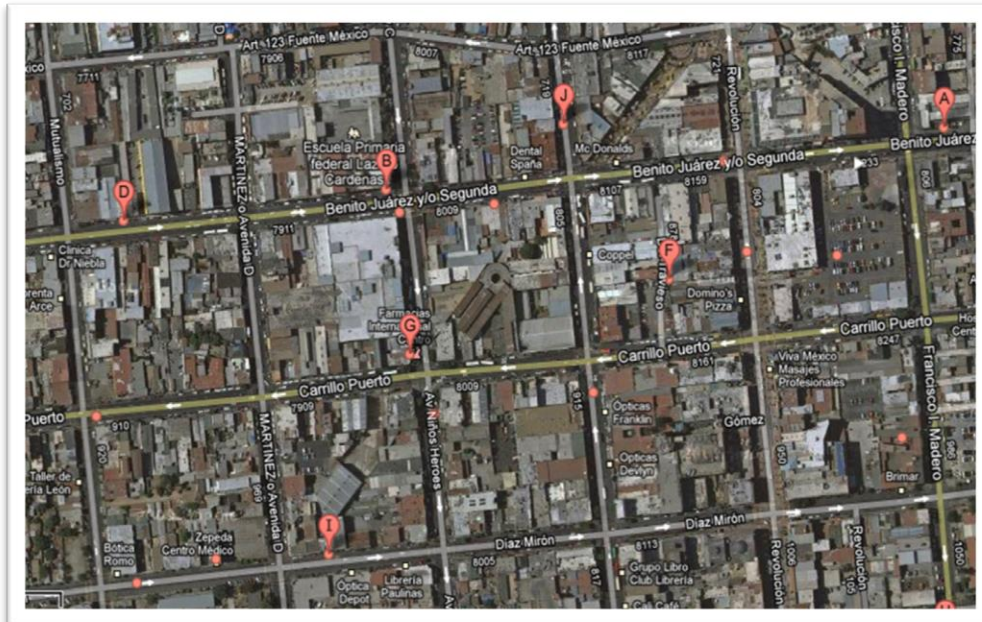
---

### Anexo 1. Zonas de los Sitios de muestreo

#### 1. Zona Playas de Tijuana (Blanco)



#### 2. Zona comercial con flujo vehicular (Calle 2da. Centro de Tijuana)



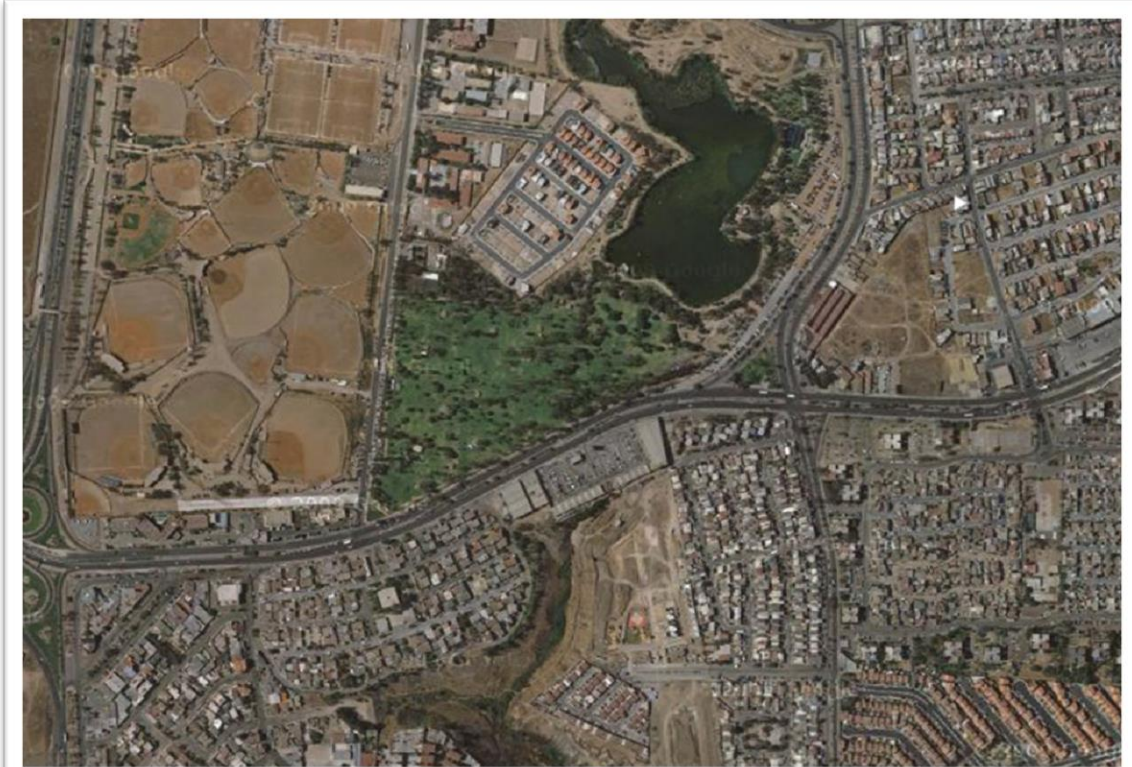
### 3. Zona comercial y escolar (Distrito gastronómico de Tijuana)



### 4. Zona canalización del Rio Tijuana



5. Zona de Área verde y habitacional (parque de la Amistad)



6. Zona Industrial (Parque industrial Mesa de Otay)



7. Zona suburbana (Blvd. 2000)



8. Zona de Planta tratadora de Aguas residuales (PTAR Monte de los Olivos)

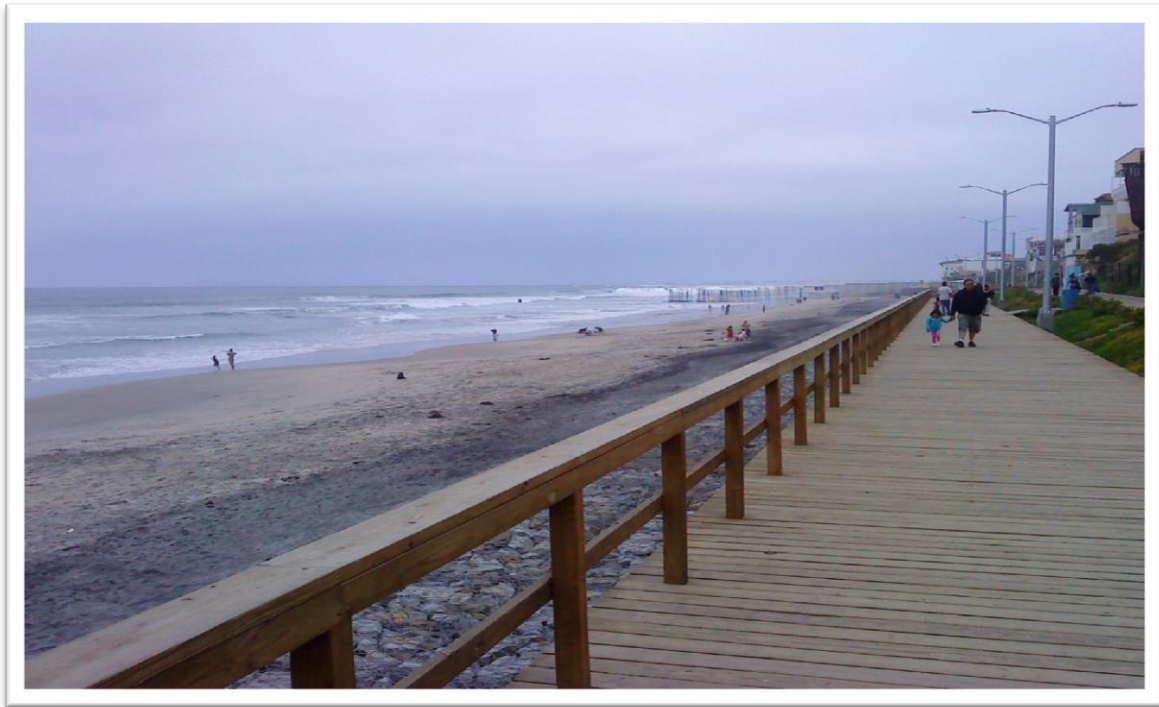


9. Zona de Relleno sanitario

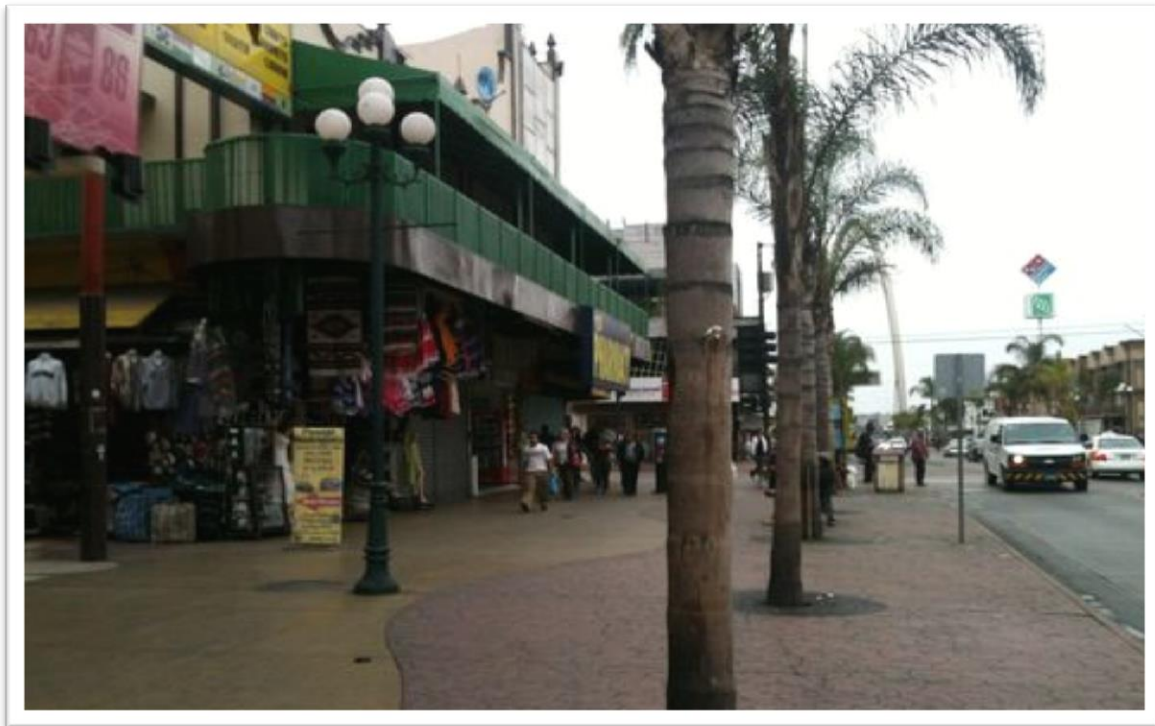


## Anexo 2. Fotografías de los sitios de muestreo

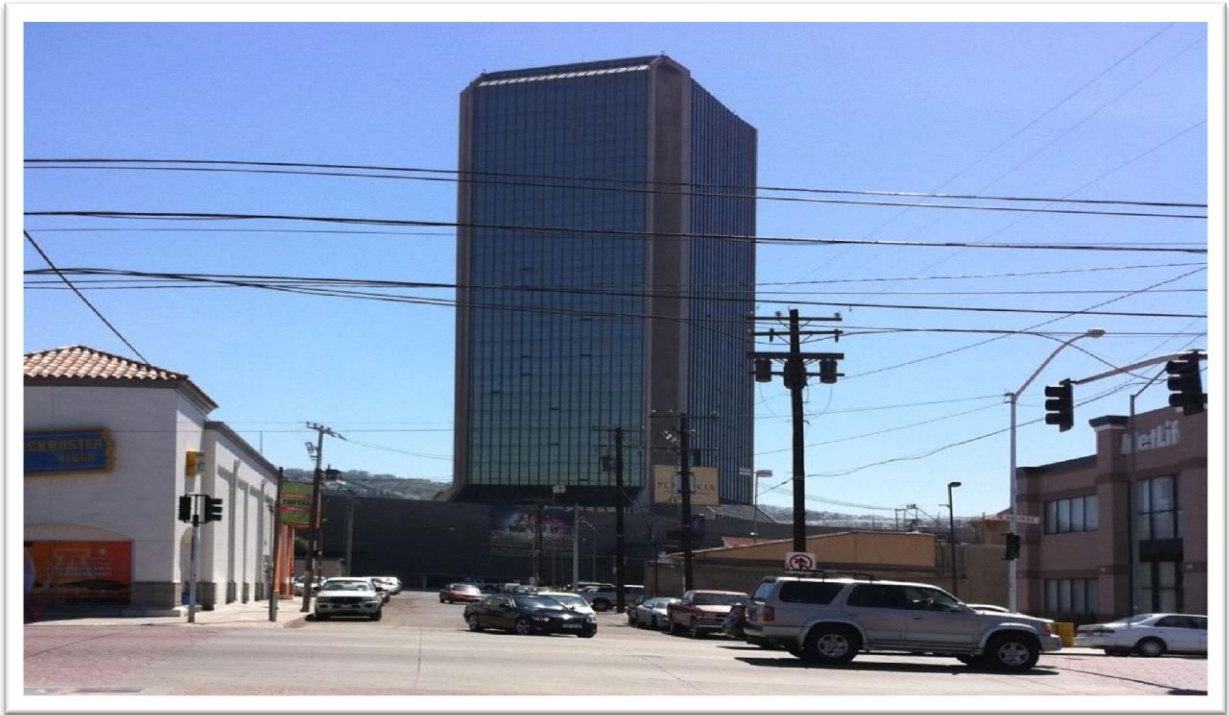
### 1. Playas de Tijuana



### 2. Calle Segunda Centro de Tijuana



3. Boulevard Aguacaliente (Distrito gastronómico de Tijuana)



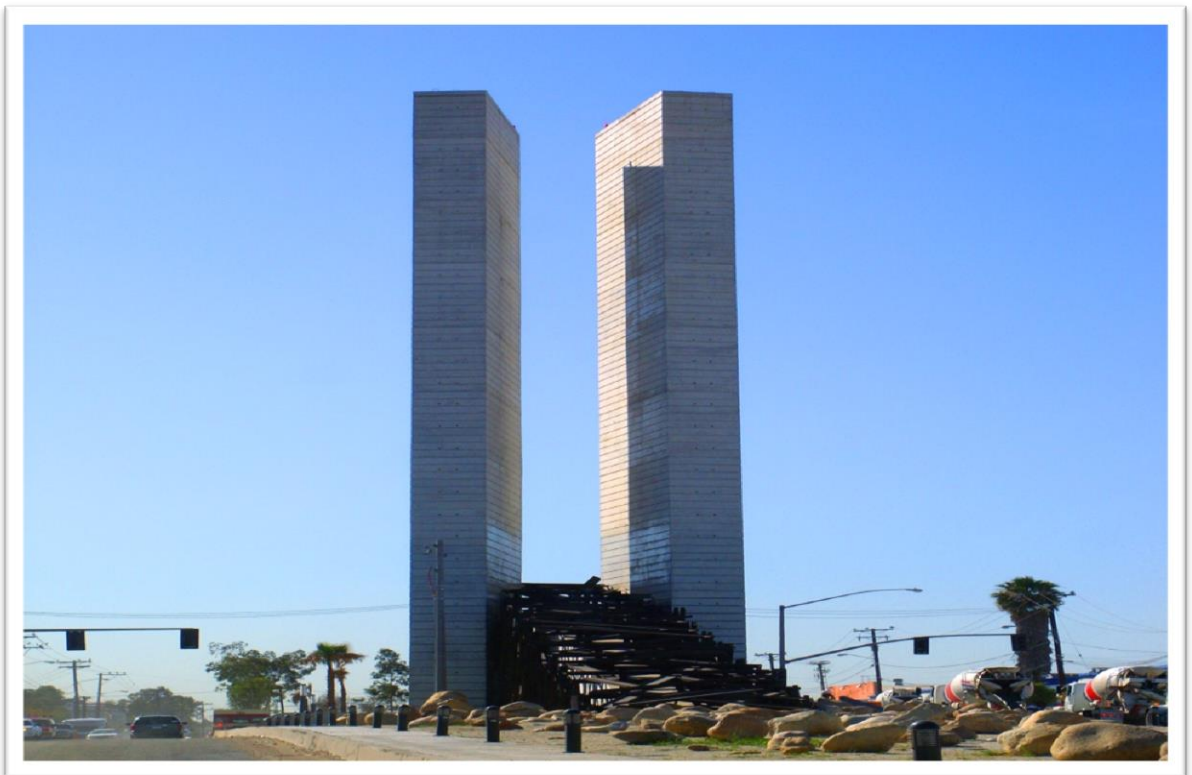
4. Zona de Canalización Rio Tijuana.



5. Parque de la Amistad



6. Parque industrial Mesa de Otay



7. PTAR Monte de los Olivos.



8. Boulevard 2000



## 9. Relleno sanitario



### Anexo 3. Tabla de corrección estadística de Feller para tapa del orificio

Tabla de conversión orificios positivos MAS-100

Tapa de Impactación 300 x 0.6

MBV AG, 8712 Stäfa

r = Número de unidades formadoras de colonias contadas en la placa Petri de 90 mm

Pr = Total estadístico probable

r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr
1	1	51	56	101	123	151	209	201	332	251	541
2	2	52	57	102	124	152	211	202	335	252	547
3	3	53	58	103	126	153	213	203	338	253	553
4	4	54	59	104	127	154	216	204	341	254	560
5	5	55	61	105	129	155	218	205	344	255	566
6	6	56	62	106	131	156	220	206	347	256	573
7	7	57	63	107	132	157	222	207	350	257	580
8	8	58	64	108	134	158	224	208	353	258	587
9	9	59	66	109	135	159	226	209	357	259	594
10	10	60	67	110	137	160	228	210	360	260	601
11	11	61	68	111	138	161	230	211	363	261	609
12	12	62	69	112	140	162	232	212	367	262	616
13	13	63	71	113	142	163	235	213	370	263	624
14	14	64	72	114	143	164	237	214	374	264	632
15	15	65	73	115	145	165	239	215	377	265	641
16	16	66	74	116	146	166	241	216	381	266	649
17	17	67	76	117	148	167	243	217	384	267	658
18	19	68	77	118	150	168	246	218	388	268	667
19	20	69	78	119	151	169	248	219	391	269	677
20	21	70	80	120	153	170	250	220	395	270	686
21	22	71	81	121	155	171	253	221	399	271	696
22	23	72	82	122	156	172	255	222	403	272	707
23	24	73	83	123	158	173	257	223	407	273	717
24	25	74	85	124	160	174	260	224	410	274	728
25	26	75	86	125	161	175	262	225	414	275	740
26	27	76	87	126	163	176	264	226	418	276	752
27	28	77	89	127	165	177	267	227	422	277	765
28	29	78	90	128	167	178	269	228	427	278	778
29	30	79	92	129	168	179	272	229	431	279	791
30	32	80	93	130	170	180	274	230	435	280	805
31	33	81	94	131	172	181	277	231	439	281	820
32	34	82	96	132	174	182	279	232	444	282	836
33	35	83	97	133	175	183	282	233	448	283	853
34	36	84	98	134	177	184	284	234	452	284	871
35	37	85	100	135	179	185	287	235	457	285	889
36	38	86	101	136	181	186	289	236	462	286	909
37	39	87	103	137	183	187	292	237	466	287	931
38	41	88	104	138	184	188	295	238	471	288	954
39	42	89	105	139	186	189	297	239	476	289	979
40	43	90	107	140	188	190	300	240	481	290	1006
41	44	91	108	141	190	191	303	241	486	291	1036
42	45	92	110	142	192	192	306	242	491	292	1069
43	46	93	111	143	194	193	308	243	496	293	1107
44	47	94	113	144	196	194	311	244	501	294	1150
45	49	95	114	145	198	195	314	245	507	295	1200
46	50	96	115	146	200	196	317	246	512	296	1260
47	51	97	117	147	202	197	320	247	518	297	1335
48	52	98	118	148	203	198	323	248	523	298	1435
49	53	99	120	149	205	199	326	249	529	299	1585
50	55	100	121	150	207	200	329	250	535	300	1885

## Anexo 4. Equipos

Incubadora



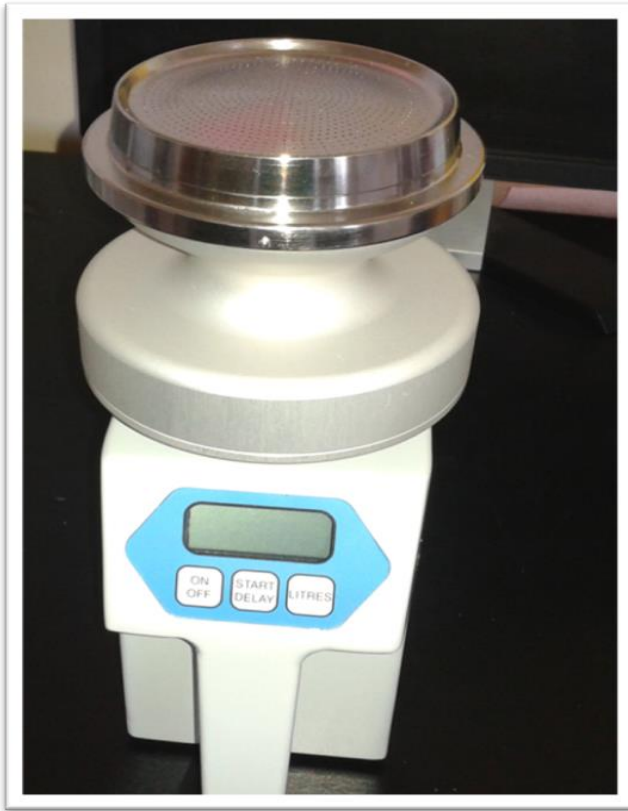
Microscopio



Campana de flujo laminar



Muestreador M Air T Millipore



Muestreador Biotest Hycon® RCS



Thermo-Hygro VWR



Estación móvil Acurite



## Anexo 5. Resultados

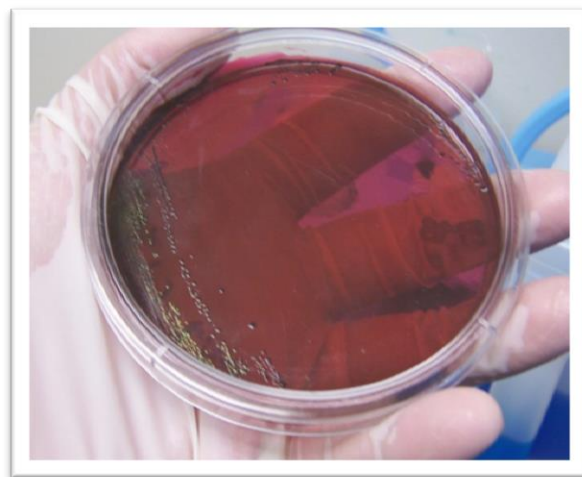
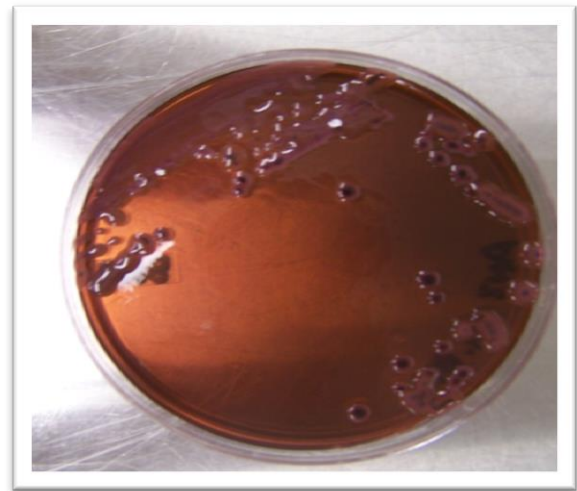
Resultados del conteo de Placas Rodac y Tiras biotest por sitio de muestreo

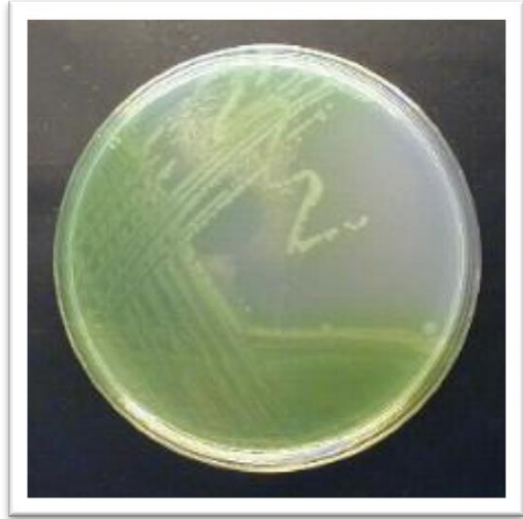
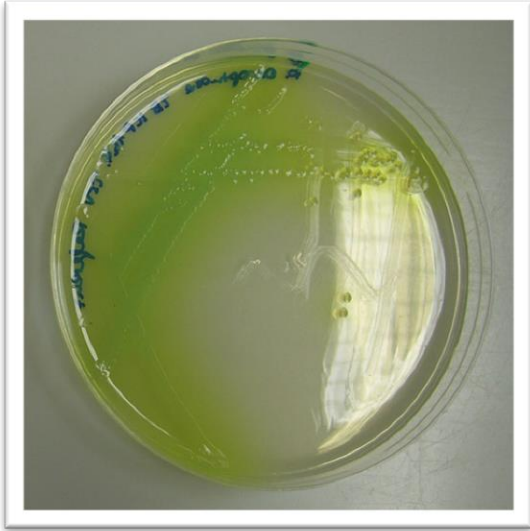


## BBL Crystal para la identificación de especies



## Identificación de Enterobacterias y Bacilos Gram Negativos No Fermentadores (BGNNF)





Identificación de Staphylococcus y Streptococcus

