

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AIRE EN LA SEDE DE POSTGRADO DE LA UNELLEZ SAN CARLOS

(Assessment of microbiological air quality at UNELLEZ-San Carlos Graduate School)

Javier Ruiz¹, Miguel Torrealba²

¹Programa de Maestría Ingeniería Ambiental, UNELLEZ-San Carlos, estado Cojedes, Venezuela. E-mail: javianruiz@gmail.com

²Programa Ciencias del Agro y del Mar, UNELLEZ-San Carlos, estado Cojedes, Venezuela. Email: torrealbap38@hotmail.com

Recibido: 14/01/16 Aceptado: 31/06/2016

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la calidad microbiológica del aire en la sede de Postgrado de la UNELLEZ, San Carlos, Cojedes, Venezuela; para el cual se trabajó con metodología cuantitativa, aplicando un diseño experimental generado bajo una matriz tipo Box Behnken, cuya intención fue establecer la cantidad de unidades formadoras de colonias por debajo de los parámetros permisibles, utilizando el tiempo de exposición, pH y ácido acético como variables, bajo la técnica de sedimentación en placas de Petri, y de esta manera comparar las Normas Industriales COVENIN con la Organización Mundial de la Salud (OMS), a fin de interpretar si se considera un edificio enfermo. Una vez aisladas estas colonias, se procedió a su identificación microbiana, principalmente por pruebas bioquímicas acompañadas con tinciones simples y diferenciales, para así establecer una propuesta de control de estos agentes, con políticas de calidad asertivas. Se concluye que el edificio estudiado no está enfermo desde el punto de vista microbiológico, dado que los niveles obtenidos están por debajo de los valores establecidos por la OMS y que estos sirvieron para la comparación.

Palabras Claves: Calidad microbiológica, análisis microbiológico del aire, evaluación fisicoquímica del aire.

SUMMARY

This research aimed to evaluate the microbiological quality of air at the headquarters of Graduate UNELLEZ, San Carlos, Cojedes, Venezuela; for which we worked with quantitative methodology, using an experimental design generated under a matrix type Box Behnken, whose intention was to establish the number of colony forming units below the permissible parameters, using the exposure time, pH and acetic acid as variables under the sedimentation technique in Petri dishes, and thus compare the Industrial Standards COVENIN with the World Health Organization (WHO), to interpret considering a sick building. Once isolated these colonies, it proceeded to microbial identification, accompanied mainly by biochemical tests with simple and differential staining, in order to establish a proposal for control of these agents, assertive quality policies. It is concluded that the building studied is not sick from the microbiological point of view, since the levels obtained are below the values set by WHO and that these were used for comparison.

Keywords: Microbiological quality, microbiological analysis of air, air physicochemical evaluation.

INTRODUCCION

La necesidad de investigar en el área de calidad microbiológica del aire, principalmente en edificios, se ha convertido en un requerimiento imperante para garantizar salubridad de las personas que de alguna forma hace presencia en este tipo de ambiente. La sede de postgrado de la UNELLEZ San Carlos, es una estructura que data de más de 20 años de funcionamiento, por lo que aunque se considere relativamente nueva, no escapa a la presencia de agentes microbianos, propios del ambiente como tal. El comportamiento del aire como vehículo, hace que se pueda transportar en él, esporas de hongos y también bacterias adheridas a partículas de polvo o contenidas en gotitas microscópicas de líquido (aerosoles) denominados bioaerosoles (De la Rosa y otros, 2000).

La expresión calidad de aire puede tener varios significados para las personas, dependiendo del contexto. Según la OMS la definición de la calidad del aire interior, se refiere a la naturaleza del aire que afecta a la salud y el bienestar de sus ocupantes (Farrás, 1998). La idea principal fue identificar los agentes microbiológicos allí presentes y su asociación con algunas enfermedades adquiridas por las personas que lo visitan, para así plantear la alternativa más viable que se considere. El estudio estuvo delimitado a evaluar la calidad microbiológica en cada una de las diferentes oficinas que prestan servicios en esta sede en función a determinar la presencia de mohos, levaduras, aerobios totales y coliformes fecales y totales, dado a que son ambientes de humedad artificial.

METODOLOGÍA

La toma de muestra se realizó el día jueves 16 de junio de 2015 a partir de las 14:30 todos las instalaciones del área de postgrado de la Universidad Nacional Experimental de Los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora (UNELLEZ), San Carlos estado, Cojedes, Venezuela, efectuándose tres repeticiones en cada una de ellas por un intervalo de 30 minutos.

Las determinaciones de mohos y levaduras se llevaron a cabo mediante uso de la Norma COVENIN 1337-909 y aerobios Norma COVENIN 902-87. Se colocó una placa de Petri con agar Papa dextrosa acidificado en el ambiente donde se obtuvieron los mayores resultados de presencia de microorganismos, a fin de aplicarle los tratamientos definidos en la investigación.

Tabla 1. Espacios físicos evaluados In Situ.

	1era corrida	2da corrida	3era corrida	T. Exp	Microorganismo
Aula 3	15	16	X	30'	Mohos (<i>As. y P.</i>)
Control Est	26	X	22	30'	Mohos (<i>As. y P.</i>)
Cub Prf MT	12	13	13	30'	Mohos (<i>As. y P.</i>)

Tabla 2. Valores límites de microorganismos permitidos por la OMS.

Niveles de contaminación	Concentración de hongos (ufc/m ³)
Muy baja	≤ 25
Baja	26-100
Intermedia	101-500
Alta	501-2000

Fuente: Adaptado de Wanner y otros. 1993

Para la aplicación del análisis de varianza (ANAVAR) se cumplió con los supuestos estadísticos que sustentan la validez de las conclusiones de esta prueba: respuestas normalmente distribuidas, homogeneidad de varianzas, error experimental distribuido homogéneamente y un modelo matemático conocido.

Un polinomio de segundo grado fue calculado con el Software STATISTICA v.7.0, para estimar la respuesta de las variables dependientes:

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_1^1 X_1^2 + b_2^2 X_2^2 + b_3^3 X_3^2 + b_1^2 X_1 X_2 + b_2^3 X_2 X_3 + b_1^3 X_1 X_3 \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde, Y es la respuesta predicha para hongos, X_1 , X_2 y X_3 son las variables independientes, b_0 es el intercepto, los términos b_1 , b_2 y b_3 son los efectos lineales, b_1^2 , b_2^3 y b_1^3 son los términos de las interacciones.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un modelo experimental Box-Bhenken, con tres factores experimentales expresados en unidades de pH (X_1), %Acidez Titulable (X_2) y Tiempo de Exposición en horas (X_3), con 12 corridas y 3 puntos centrales para un total de 15 tratamientos y dos replicaciones, para finalmente obtener 30 tratamientos totalmente aleatorizados. Se seleccionó este modelo por ser uno de los más económicos para la investigación. Y los software utilizados fueron, STATISTICA v.7.0 y JMP v.4.0, para realizar los análisis de Superficie de Respuesta y Co-optimización de las variables en estudio, con tres niveles experimentales para cada variable, estableciendo los rangos de máximos y mínimos para la

construcción de la Matriz de Diseño.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza (ANAVAR) para las respuestas Mohos (Y_1). Se puede observar en la Tabla 3 que los tratamientos, la interacción $X_1 * X_2$ y el error puro fueron significativos ($p \leq 0,05$); la regresión y las interacciones $X_1 * X_1$ y $X_1 * X_3$ fueron altamente significativas, indicando que ejercieron un efecto sobre el modelo de regresión generado. La falta de ajuste fue no significativa ($p \geq 0,05$) indicando que el modelo de regresión ajusta los datos experimentales con un R^2 igual a 0,708, lo cual puede considerarse bueno.

Tabla 3. Análisis de varianza (ANAVAR) para la respuesta $Y_1 =$ Mohos.

Fuente de Variación	GL	SC	SCM	F	p	
Tratamiento	13	171795,39	13215,03	3,024	0,019	*
Regresión	9	171142,34	19015,82	4,352	0,005	**
X_1	1	846,41	846,41	0,194	0,666	ns
X_2	1	90,39	90,39	0,021	0,887	ns
X_3	1	454,00	454,00	0,104	0,751	ns
$X_1 * X_1$	1	44954,22	44954,22	10,289	0,005	**
$X_2 * X_2$	1	1899,90	1899,90	0,435	0,519	ns
$X_3 * X_3$	1	120,13	120,13	0,027	0,872	ns
$X_1 * X_2$	1	19551,86	19551,86	4,475	0,050	*
$X_1 * X_3$	1	91332,10	91332,10	20,903	0,000	**
$X_2 * X_3$	1	11893,34	11893,34	2,722	0,118	ns
Falta Ajuste	4	653,05	163,26	0,037	0,997	ns
Error Puro	5	69256,58	13851,32	3,170	0,035	**
Error Experimental	16	69909,63	4369,35			
Total	29	241705,02				
		$R^2 =$	0,708			

La Tabla 4, muestra los coeficientes regresores del modelo obtenido para la respuesta Y_1

(Mohos), indicando que el factor cuadrático X_1^2 y la interacción $X_2 * X_3$ (acidez titulable*tiempo de exposición) son altamente significativos ($p < 0,0001$), es decir lo demás factores no ejercieron ningún efecto significativo sobre la respuesta mohos a $p > 0,05$.

Tabla 4. Coeficientes regresores (B_i) del modelo para la respuesta $Y_1 = \text{Mohos (ufc/m}^3\text{)}$.

Termino	B_i	Error Estd.	t Ratio	Prob> t
Intercepto	89,789234	74,01793	1,21	0,2392
X_1	-10,87605	22,10218	-0,49	0,6280
X_2	-3,217971	20,0118	-0,16	0,8739
X_3	0,6508247	1,805879	0,36	0,7223
X_1^2	-150,4117	41,94207	-3,59	0,0018
$X_1 * X_2$	-29,92348	40,58822	-0,74	0,4695
$X_1 * X_3$	0,5166667	2,787066	0,19	0,8548
X_2^2	68,962169	29,15885	2,37	0,0282
$X_2 * X_3$	-16,10795	3,151245	-5,11	<.0001
X_3^2	0,4264456	0,231188	1,84	0,0800

$$\text{Mohos (Y}_1\text{)} = 89,7892 - 10,8761X_1 - 3,21791X_2 + 0,6508X_3 - 150,4117X_1^2 - 29,9235X_1 * X_2 + 0,51667X_1 * X_3 + 68,9622X_2^2 - 16,10795X_2 * X_3 + 0,42645X_3^2 \quad (\text{Ec.2})$$

Análisis de Superficie de Respuesta (ASR)

Los valores críticos para el desarrollo de los mohos se muestran en la Tabla 5: X_1 (pH) = 2,7086, X_2 (Acidez Titulable) = 2,4992 % y X_3 (Tiempo de exposición) = 21,72 minutos, lo cual arroja una solución para la repuesta Mohos (Y_1) de una silla de caballo, indicando un valor predicho por el modelo de regresión de $Y_1 = 66,1894$ mohos (ufc/m^3).

Tabla 5. Solución de la Superficie de Respuesta (RSM) para la respuesta $Y_1 = \text{Mohos (ufc/m}^3\text{)}$.

Variable	Valores críticos
X_1	2,7086
X_2	2,4923
X_3	21,7207

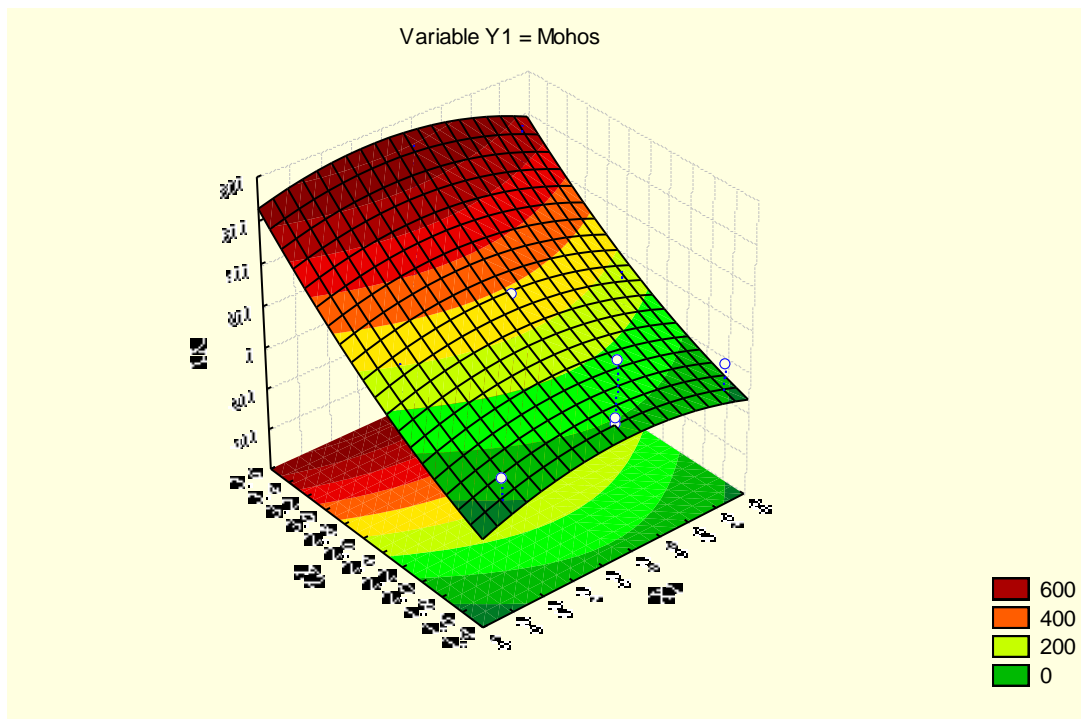


Figura 1. Gráfica de superficie de respuesta para la respuesta Y1 = Mohos (ufc/m³).

En relación a la respuesta Y2 (Levaduras), los valores predichos (ufc/m³) se obtuvieron mediante uso de la ecuación (1). Los coeficientes para el modelo de regresión de las levaduras y los términos lineales y cuadráticos se indican en el modelo obtenido (ecuación 3). Se determinó que sólo el término intercepto ejerció un efecto significativo ($p \leq 0,050$) sobre la respuesta levaduras (Y₂), mientras que los términos lineales, cuadráticos e interacciones no afectaron dicha respuesta a $p > 0,050$.

$$\text{Levaduras (Y}_2\text{)} = 192,5549 + 15,080 X_1 + 33,2568 X_2 - 0,6982 X_3 - 32,5892 X_1^2 - 70,0441 X_1 * X_2 + 1,701e^{-13} X_1 * X_3 - 3,8191 X_2^2 - 2,6818 X_2 * X_3 + 0,17397 X_3^2 \quad (\text{Ec. 3})$$

El ajuste del modelo fue verificado por la determinación del coeficiente (R^2), el cual es igual a 0,363 lo que revela que el 36,3% de la variación de la muestra en el desarrollo de las levaduras es atribuido a las variables independientes. El análisis de superficie de respuesta, arrojó una solución para Y₂ de una silla de caballo, indicando un valor predicho para el modelo de regresión de Y₂ = 299,6496 levaduras (ufc/m³).

Tabla 6. Solución de la Superficie de Respuesta (RSM) para la respuesta Y₂ = Levaduras

(ufc/m³).

Variable	Valores críticos
X ₁	3,2483
X ₂	2,1848
X ₃	21,2447

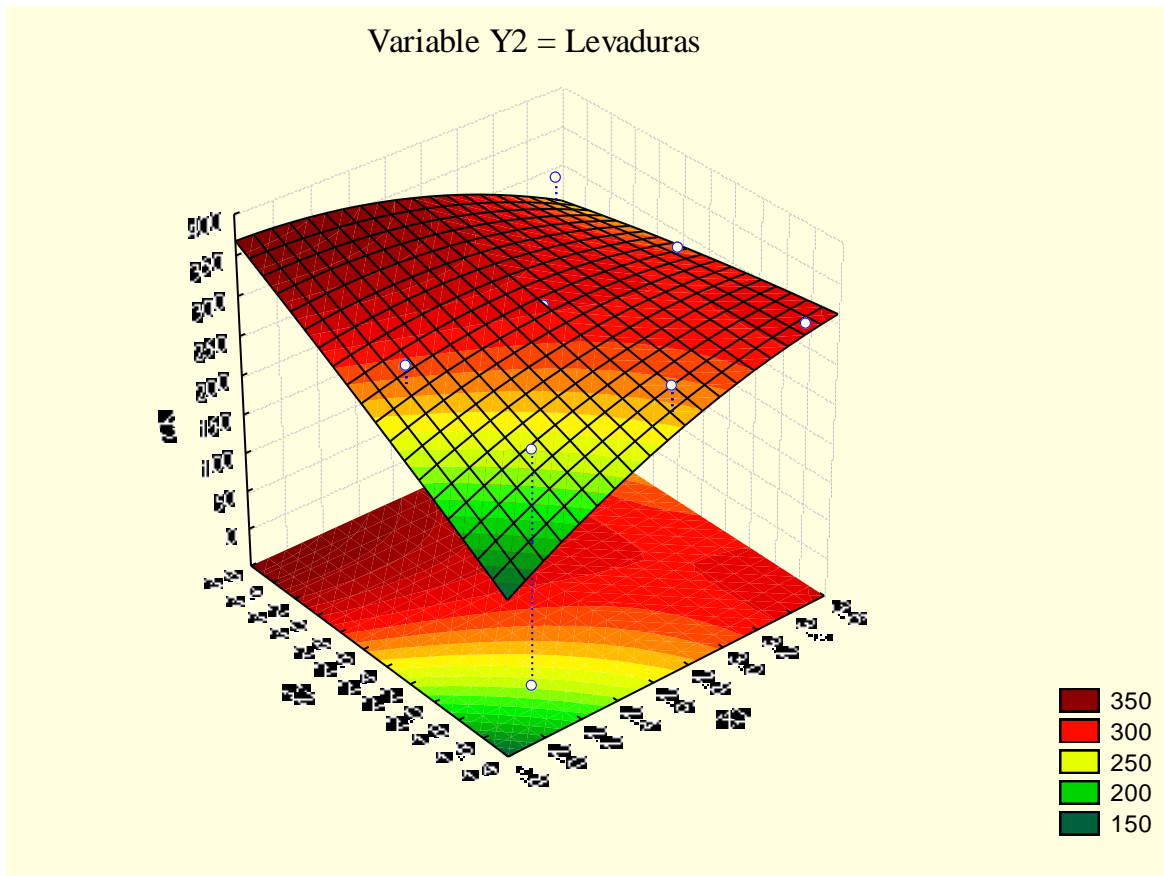


Figura 2. Grafica de superficie de respuesta para la respuesta Y₂ = Levaduras (ufc/m³).

Análisis de co-optimización de las variables

En la Fig. 3, se muestran los perfiles de respuestas múltiples dinámicas, las cuales incorporan la función de deseabilidad, estas son manejadas por las funciones de control de pérdida de calidad. Las funciones de control indicadas fueron: minimizar la biomasa Y₁ (moho, ufc/m³) y Y₂ (levaduras, ufc/m³), para ello se muestra la función de control a la derecha de la gráfica, indicando que “mientras menor sea el valor de u.f.c/ml mejor”. Las

gráficas de perfiles dinámicos de la Figura 3, muestran un valor mínimo de mohos de 60,9394 ufc/m³ y un valor mínimo de levaduras de 293,0671 ufc/m³. En la misma figura se observan los valores minimizados de las variables independientes: X₁ (pH) = 2,65; X₂ (Acidez Titulable) = 2,25% y X₃ (Tiempo de exposición) = 18,2 min.

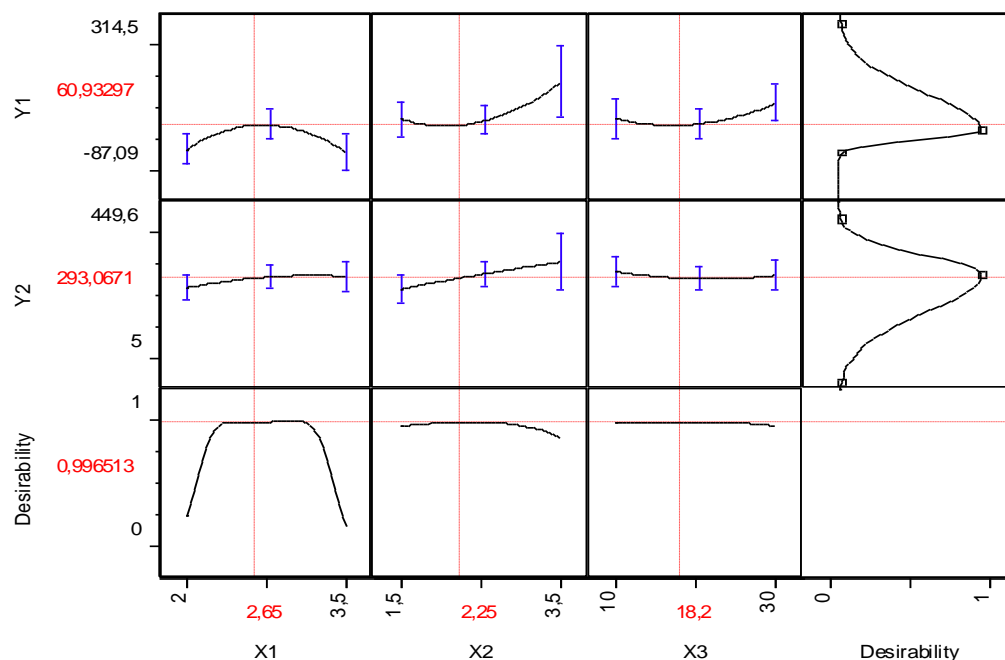


Figura 3. Perfiles de respuestas múltiples y de deseabilidad de las variables X1 = pH, X2 = % Acidez, X3 = Temperatura de Exposición, Y1 = ufc/ml (mohos), Y2 = ufc/ml (Levaduras).

CONCLUSIONES

- De acuerdo a los resultados obtenidos en la toma de muestras In Situ, se logra comparar la tabla 1 con la tabla 2, y el edificio se considera no enfermo debido a que no supera los índices establecidos por la OMS.
- En el caso de mohos, el ajuste del modelo fue verificado por la determinación del coeficiente (R^2), el cual es igual a 0,708 lo que revela que el 70,80% de la variación de la muestra en el desarrollo mohos es atribuido a las variables independientes.

- Los valores críticos para el óptimo se determinaron con el software STATISTICA V.7.0, y JMP v. 4.0, utilizando la técnica de co-optimización dinámica multirespuesta, obteniéndose valores de: pH= 2,65, %A.A= 2,25%; TExp. = 18,20 minutos; Se obtuvieron contajes de mohos de aproximadamente 60,9394 ufc/m³ y para levaduras el valor obtenido fue 293 ufc/m³, estos valores están por debajo de del rango permitido por la OMS.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

De La Rosa M del C, Mosso M de los A, Ullán C. 2002. El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. Col 5: 375-402. Chile. [Revista en línea] www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716. [Consulta: Octubre 2015].

FARRÁS, J. 1998. Control ambiental en interiores pág. 45. En: Enciclopedia de seguridad y salud en el trabajo. CINTERFOR.

JMP.1989. Design of Experiment. Release 4.0. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA

Organización Mundial de la Salud (OMS). 1989. Indoor Air Quality: Organic Pollutants. Copenhague: Oficina Regional de la OMS para Europa.

STATISITICA. 1984-2004. Statsoft. V.7.0. USA.

Venezuela. 1987. Norma N° 902: Método para el recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de Petri. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Caracas.

Venezuela. 1990. Norma N° 1337: Método para el recuento de colonias de mohos y levaduras en placas de Petri. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1ra Revisión. Caracas.

Wanner, H-U, AP Verhoeff, A Colombi, B Flannigan, S Gravesen, A Mouilleseux, A Nevalainen, J Papadakis, K Seidel. 1993. Biological Particles in Indoor Environments. Indoor Air Quality and Its Impact On Man. Bruselas: Comisión Europea.