

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



“ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL  
AIRE EN DIFERENTES MUNICIPIOS DEL ÁREA  
METROPOLITANA DE MONTERREY”

Por

RENEE GAMBOA QUEZADA

Como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS con orientación en  
MICROBIOLOGÍA APLICADA

“ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AIRE EN  
DIFERENTES MUNICIPIOS DEL ÁREA METROPOLITANA DE  
MONTERREY”

Tesis realizada por la alumna Renee Gamboa Quezada, matrícula  
1980920, como opción al grado de Maestro en Ciencias con  
Orientación en Microbiología Aplicada.

**Dirección de Tesis:**

---

Dr. Ulrico Javier López Chuken  
**Director de Tesis**

---

Dra. Evangelina Ramírez Lara  
**Codirectora**

---

Dr. Carlos Macouzet Sánchez  
**Codirector externo**

## RESUMEN

Renee Gamboa Quezada.  
Universidad Autónoma de Nuevo León.  
Facultad de Ciencias Químicas.

Título del Estudio: **Estudio de la calidad microbiológica del aire en diferentes municipios del Área Metropolitana de Monterrey.**

Número de páginas: **66**

Candidato para el grado de Maestría en  
Ciencias con orientación en Microbiología Aplicada.

**Área de Estudio: Aerobiología**

**Propósito:** Identificar y caracterizar preliminarmente la diversidad microbiológica presente en aire ambiente de interiores y exteriores en cuatro zonas del Área Metropolitana de Monterrey (AMM), así como su variación estacional, por parámetros atmosféricos y por las características de los edificios muestreados.

**Metodología:** Los muestreos fueron en cuatro diferentes zonas del AMM (denominadas zonas A (sur), B (poniente), C (norte) y D (oriente) a partir del día 45 del inicio de cada estación, realizando así cuatro muestreos en el año, correspondientes a primavera (mayo 2019), verano (agosto 2019), otoño (noviembre 2019) e invierno (febrero 2020). Los muestreos en exteriores tuvieron una duración de 24 horas usando un muestreador de alto volumen y filtros de fibra de vidrio para la captura de partículas suspendidas totales (PST). Los filtros fueron tratados para obtener muestras microbiológicas, suspendiendo 0.1 g de filtro en agua estéril para luego ser sembrados en agar nutritivo (AN) para la obtención de bacterias y agar de papa dextrosa (PDA) para la obtención de hongos. Los muestreos en ambientes interiores consistieron en exponer cajas Petri al ambiente por media hora, usando los mismos agares que se usaron para las muestras de exteriores. Una vez obtenidas las unidades formadoras de colonias (UFC) de cada muestreo, estas fueron caracterizadas preliminarmente mediante tinción de Gram y microscopía óptica y finalmente se identificaron por medio de secuenciación de ADNr de la región 16S. Por otra parte, los hongos fueron caracterizados por microscopía y morfología macroscópica, haciendo comparaciones con estudios publicados.

**Resultados:** Se encontró que otoño fue la estación que presentó mayor cantidad de UFC bacterianas en ambientes interiores en las cuatro zonas de muestreo, presentando un máximo de 87 UFC en un tiempo de exposición de 30 minutos. La zona A siendo que en verano, primavera e invierno se obtuvieron 1, 28 y 35 UFC respectivamente. En la zona B de muestreo se presentó el mismo caso, 84 UFC en otoño, 40 UFC en primavera, 1 en verano y 17 en invierno. En las dos zonas de muestreo restantes, los resultados se mantuvieron entre 1 y 3 UFC en las tres estaciones. En cambio, para las UFC fúngicas, las bajas temperaturas y los altos porcentajes de humedad relativa de invierno fueron más favorables para su crecimiento, pues el número de éstas aumentó considerablemente en todas las zonas a excepción de la zona D.

**Conclusiones:** La concentración de UFC bacterianas se ve afectada por la concentración de PST (acarreadoras de bioaerosoles), mientras que las mejores condiciones para el crecimiento de UFC fúngicas son alto porcentaje de humedad relativa y temperaturas bajas.

Firma del asesor: \_\_\_\_\_

Dr. Ulrico Javier López Chuken

## **AGRADECIMIENTOS**

A CONACyT por la beca otorgada.

A la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL por abrirme sus puertas y permitirme conocer un campo de estudio totalmente diferente a lo que estaba acostumbrada.

A mis asesores por sus enseñanzas y ayudarme a cubrir las necesidades del proyecto, así como a mis compañeros de laboratorio Alexia y Edwin, que se mostraron siempre serviciales conmigo.

A la Facultad de Ciencias Químicas de la UACH por permitirme realizar mis estancias en el laboratorio de Biotecnología IV. Especialmente al Dr. Francisco Javier Zavala Díaz de la Serna y la Dra. Blanca Rivera, por recibirme de una manera tan amable y siempre estar al pendiente de mi trabajo. Y a su tesista Nohemí Reza que además de compartirme todo su conocimiento, aceptó formar una amistad muy bonita conmigo y me siguió ayudando con mi trabajo incluso al haber dejado sus instalaciones.

A Rogelio, porque de no ser por ti, no estaría donde estoy ahora, gracias por impulsarme y creer en mí. Todo lo que he logrado durante estos casi 10 años ha sido gracias a ti, jamás tengas duda de ello.

A mi familia que me apoyó siempre a pesar de lo difícil que nos fue el separarnos, gracias por siempre ser mi pilar.

A mis amigos más cercanos que siempre estuvieron al pendiente de mi bienestar y me dieron ánimos para continuar cuando quería renunciar. A Pablo y Paco por hablarnos los domingos durante el primer año y alegrarnos el día, además de alegrarnos 4 días de verano que estuvieron con nosotros. A Miguel por siempre aconsejarme y decirme lo orgulloso que está de mí. Andrea por siempre abrirme su corazón y comprenderme como pocos, visitarme y llenarme de felicidad. Karla y Mariana por impulsarme cuando sabían que me estaba rindiendo y me dieron su apoyo, gracias por su larga amistad. César, gracias por ayudarme durante ya casi un año, por enseñarme a estar agradecida con lo que tengo, ayudarme a saber mi valor y ser un apoyo incondicional en cualquier tipo de situación, además de recordarme lo cerca que estoy de llegar a la meta y hacerme saber lo orgulloso que estás de mí. Laura, muchísimas gracias por ser mi amiga en este trayecto y hacerme más dulce mi estancia en Monterrey.

Finalmente, pero no las menos importantes, mis maestras de ambiental Itzel Palacios y Gabby Pineda, muchísimas gracias por todo su apoyo, por ser un ejemplo y por enseñarme lo que vale una mujer en la ciencia.

## DEDICATORIA

*A mis padres por darme todo lo que  
está en sus manos, aun cuando soy  
independiente, los sigo necesitando  
tanto como desde mi nacimiento.*

*Los amo.*

*A mis hermanas, espero ser  
un buen ejemplo en su vida,  
pueden confiar en mí siempre.*

*Las amo.*

## **TABLA DE ABREVIACIONES Y SÍMBOLOS USADOS**

---

AMM	Área Metropolitana de Monterrey
$G_f$	Peso del filtro después de muestreo
$G_i$	Peso del filtro antes del muestreo
ICP-MS	Espectrometría de masas con Plasma Acoplado Inductivamente
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PM <sub>10</sub>	Partículas con diámetro menor a 10 micrómetros
PM <sub>2.5</sub>	Partículas con diámetro menor a 2.5 micrómetros
PST	Partículas suspendidas totales
SIMA	Sistema Integral de Monitoreo Ambiental
Pb	Pares de bases

# ÍNDICE

---

Capítulo 1 .....	5
INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN .....	5
1.1.- Introducción.....	5
1.2.- Justificación.....	7
Capítulo 2 .....	8
ANTECEDENTES .....	8
2.1.- Área Metropolitana de Monterrey (AMM).....	8
2.1.1.- Clima representativo.....	9
2.1.2.- Sistema Integral de Monitoreo Ambiental.....	10
2.2.- Atmósfera .....	11
2.2.1.- Contaminación atmosférica .....	11
2.3.- Bioaerosoles en ambientes interiores .....	14
2.3.1.- Métodos de muestreo de aire en ambientes interiores.....	15
2.4.- Caracterización de microorganismos transportados por el aire.....	17
2.5.- Microorganismos comúnmente transportados por el aire en ambientes interiores.....	18
Capítulo 3 .....	19
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	19
3.1.- Hipótesis.....	19
3.2.- Objetivos.....	19
3.2.1.- Objetivo general .....	19
3.2.2.- Objetivos específicos.....	19
Capítulo 4 .....	20
MATERIALES Y MÉTODOS .....	20
4.1.- Área de trabajo .....	20
4.2.- Disposición de residuos.....	20
4.3.- Muestreos.....	20
4.3.1 Muestreos en exteriores .....	21
4.3.2 Muestreo en interiores .....	25
4.4 Caracterización molecular .....	27
4.4.1 Extracción de ADN .....	27
4.4.2 Amplificación de ADN por PCR .....	28
4.4.3 Secuenciación e identificación.....	29
Capítulo 5 .....	29

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
5.1 Muestreos .....	29
5.1.1 Muestreos en exteriores (concentración de PST, PM <sub>10</sub> y PM <sub>2.5</sub> )	29
5.1.2 Bioaerosoles en exteriores.....	36
5.1.3 Muestreos en interiores. ....	38
5.2 Caracterización molecular.....	46
5.2.1 Extracción de ADN.....	46
5.2.2 Amplificación de ADN por PCR.....	47
Capítulo 6.....	51
CONCLUSIONES.....	51
RECOMENDACIONES .....	52
REFERENCIAS .....	54

## LISTA DE TABLAS

---

Tabla 1. Normas Oficiales Mexicanas de salud ambiental vigentes. Reimpresión de Calidad de aire, una práctica de vida (SEMARNAT, 2013). . .	5
Tabla 2. Enfermedades causadas por contaminantes atmosféricos (Seoanez Calvo, 2002).....	6
Tabla 3. Cantidad de habitantes en los municipios del AMM en 2015. Tabla adaptada de INEGI. Recuperado de: <a href="http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/nl/poblacion/">cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/nl/poblacion/</a> .....	9
Tabla 4. Composición gaseosa básica de la atmósfera. Tabla adaptada de Seoanez, 2002.....	11
Tabla 5. Microorganismos encontrados en estudios recientes.....	14
Tabla 6. Afectaciones a la salud por algunos géneros microbiológicos. ....	15
Tabla 7. Concentraciones de PST por zonas de muestreo de exteriores del AMM en las diferentes estaciones del año 2019-2020.....	30
Tabla 8. Concentraciones estimadas de PM <sub>10</sub> y PM <sub>2.5</sub> y parámetros climáticos en primavera.....	30
Tabla 9. Concentraciones estimadas de PM <sub>10</sub> y PM <sub>2.5</sub> y parámetros climáticos en verano. ....	31
Tabla 10. Concentraciones estimadas de PM <sub>10</sub> y PM <sub>2.5</sub> y parámetros climáticos en otoño. ....	31
Tabla 11. Concentraciones estimadas de PM <sub>10</sub> y PM <sub>2.5</sub> y parámetros climáticos en invierno. ....	32
Tabla 12. UFC obtenidas de los filtros de muestreo de exteriores en la zona A.....	37
Tabla 13. UFC obtenidas de los filtros de muestreo de exteriores en la zona B.....	37
Tabla 14. UFC obtenidas de los filtros de muestreo de exteriores en la zona C. ....	38

Tabla 15. UFC obtenidas de los filtros de muestreo de exteriores en la zona D. ....	38
Tabla 16. Cantidad de UFC bacterianas obtenidas en cada zona de muestreo y estación del año 2019-2020. ....	39
Tabla 17. Cantidad de UFC (de hongos) obtenidas en cada zona de muestreo y estación del año 2019-2020. ....	40
Tabla 18. UFC en la zona A durante las cuatro estaciones del año 2019-2020. ....	40
Tabla 19. UFC en la zona B durante las cuatro estaciones del año 2019-2020. ....	41
Tabla 20. UFC en la zona C durante las cuatro estaciones del año 2019-2020. ....	43
Tabla 21. UFC en la zona D durante las cuatro estaciones del año 2019-2020. ....	44
Tabla 22. Microorganismos identificados por secuenciación. ....	50

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1. Mapa del estado de Nuevo León donde se señalan los municipios que conforman el AMM. ....	8
Figura 2. Clima representativo en el AMM. ....	9
Figura 3. Mapa mostrado en la página del SIMA, en la que se puede apreciar la calidad de aire en las diferentes estaciones de muestreo, así como el contaminante de mayor impacto. ....	10
Figura 4. Mapa de sitios de muestreo y estaciones de muestreo del SIMA. ....	21
Figura 5. Muestreador de alto volumen TISCH Environmental. ....	22
Figura 6. Carta de flujo para muestreador de alto volumen. ....	22
Figura 7. Modulador de flujo. ....	23
Figura 8. Pesaje de filtro con microorganismos después de retirarlo del muestreador. ....	24
Figura 9. Obtención de suspensión microbiana a partir de los filtros empleados en los muestreadores. ....	25
Figura 10. Cajas expuestas al ambiente. ....	26
Figura 11. Electroforesis para verificación de extracción de ADN. ....	27
Figura 12. Termociclador Labnet. ....	28
Figura 13. Concentración de aerosoles vs altura. ....	32
Figura 14. Filtros (fibra de vidrio) después de muestreos de PST por época del año. ....	33
Figura 15. Concentración de PST vs temperatura por zona de muestreo en cada estación del año. ....	34
Figura 16. Concentración de PST y humedad relativa por zona de muestreo en cada estación del año. ....	35
Figura 17. Concentración de PST vs velocidad del viento por zona de muestreo en cada estación del año. ....	36
Figura 18. Distribución de salones en la zona A dentro de un edificio. Ventana de la zona B. ....	39
Figura 19. Observación microscopica sin tinción de <i>Alternaria</i> sp. ....	41

Figura 20. <i>Aspergillus niger</i> aislado en la zona B.....	42
Figura 21. Levaduras de los muestreos de primavera y verano respectivamente aisladas en la zona B.....	42
Figura 22. A). Foto tomada de hongo obtenido en los muestreos en la zona C (40X).....	43
Figura 23. Microscopías de los géneros <i>Alternaria</i> y <i>Aspergillus</i> .....	44
Figura 24. Distribución de microorganismos en las diferentes estaciones del año. ....	45
Figura 25. Distribución de microorganismos por zona de muestreo. ....	45
Figura 26. Porcentajes de aislados de los diferentes microorganismos.....	46
Figura 27. Gel de agarosa empleado en electroforesis .....	47
Figura 28. Electroforesis de la amplificación obtenida.....	47
Figura 29. Posición filogenética de las muestras 1, 7 y 13 obtenidas de muestreos de aire. Análisis basado en las secuencias parciales del gen 16S rRNA con 500 aleatorizaciones tipo Bootstrap para máxima verosimilitud usando el modelo de Tamura-Nei para el género <i>Bacillus</i> .....	48
Figura 30. Posición filogenética de la muestra 6 obtenida de muestreos de aire. Análisis basado en las secuencias parciales del gen 16S rRNA con 500 aleatorizaciones tipo Bootstrap para máxima verosimilitud usando el modelo de Hasewaga-Kishino-Yano para el género <i>Bacillus</i> . ....	48
Figura 31. Posición filogenética de la muestra 9 obtenida de muestreos de aire. Análisis basado en las secuencias parciales del gen 16S rRNA con 500 aleatorizaciones tipo Bootstrap para máxima verosimilitud usando el modelo de Hasewaga-Kishino-Yano para el género <i>Enterococcus</i> . ....	48
Figura 32. Posición filogenética de la muestra 10 obtenida de muestreos de aire. Análisis basado en las secuencias parciales del gen 16S rRNA con 1000 aleatorizaciones tipo Bootstrap para máxima verosimilitud usando el modelo de Tamura de 3 parámetros para cepas <i>Escherichia coli</i> . ....	49
Figura 33. Posición filogenética de la muestra 11 obtenida de muestreos de aire. Análisis basado en las secuencias parciales del gen 16S rRNA con 500 aleatorizaciones tipo Bootstrap para máxima verosimilitud usando el modelo de Hasewaga-Kishino-Yano para el género <i>Bacillus</i> . ....	49
Figura 34. Posición filogenética de la muestra 14 obtenida de muestreos de aire. Análisis basado en las secuencias parciales del gen 16S rRNA con 500 aleatorizaciones tipo Bootstrap para máxima verosimilitud usando el modelo de Kimura de dos parámetros para varios géneros. ....	49

# Capítulo 1

## INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

---

### 1.1.- Introducción.

La contaminación atmosférica es un grave problema que el mundo enfrenta día a día debido al aumento de la población, industrialización y uso de medios de transporte.

Los contaminantes atmosféricos se clasifican en primarios (aquellos emitidos directamente al aire), secundarios (sustancias originadas de la reacción de los contaminantes primarios) y los de referencia o criterio (Alfaro, 1998). Los contaminantes criterio son aquellos que tienen un límite máximo permitido de concentración en el aire ambiente, con el objetivo de proteger la salud humana (NL.gov.mx, 2009).

Alrededor del mundo, existen normas para la medición de estos contaminantes y sus límites máximos. Las normas que rigen en México se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Normas Oficiales Mexicanas de salud ambiental vigentes. Reimpresión de Calidad de aire, una práctica de vida (SEMARNAT, 2013).

Contaminante	Norma Oficial Mexicana	Descripción
Partículas con diámetro menor a 10 $\mu\text{m}$ ( $\text{PM}_{10}$ )	NOM-025-SSA1-2014.	50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , como promedio de 24 horas. 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ como promedio anual.
Partículas con diámetro menor a 2.5 $\mu\text{m}$ ( $\text{PM}_{2.5}$ )	NOM-025-SSA1-2014	30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ como promedio de 24 horas. 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , como promedio anual.
Ozono ( $\text{O}_3$ )	NOM-020-SSA1-1993	El indicador promedio de 8 horas no debe de exceder a 0.095 ppm.
Monóxido de carbono ( $\text{CO}$ )	NOM-021-SSA1-1993	El indicador promedio de 8 horas no debe exceder una vez al año a 11 ppm.
Dióxido de azufre ( $\text{SO}_2$ )	NOM-022-SSA1-2010	El indicador promedio diario no debe exceder una vez al año a 0.110 ppm. El indicador promedio anual debe ser menor o igual a 0.025 ppm. El indicador promedio de 8 horas no debe exceder una vez al año a 0.200 ppm.
Dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ )	NOM-023-SSA1-1993	El indicador promedio de una hora no debe exceder una vez al año a 0.210 ppm.
Plomo ( $\text{Pb}$ )	NOM-026-SSA1-1993	El indicador promedio trimestral debe ser menor o igual a 1.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ .

Por otra parte, existen contaminantes biológicos llamados bioaerosoles, en los que se encuentran microorganismos como hongos, bacterias y virus, que, aunque no son propios de la atmósfera, son transportados por el aire a través de polvo, hojas de árboles, piel, fibras de la ropa y fluidos corporales, como la saliva que es expulsada al hablar, toser y estornudar. La aerobiología se encarga del estudio de dichos microorganismos y partículas biológicas como el polen y las esporas (Galán *et al.*, 2017).

Ligado a esto, existe una relación entre la contaminación atmosférica y la epigenética, la cual se refiere a las modificaciones heredables que ocurren en la cromatina, por ejemplo, la metilación de ADN y modificación de histonas. Dichas modificaciones no alteran el genoma del individuo, pero sí la manera en la que se lleva a cabo la transcripción de sus células. Algunos contaminantes presentes en el aire, como patógenos bacterianos y virales, partículas suspendidas (que por su pequeño tamaño se depositan sobre pólenes y humo de tabaco, son fácilmente inhalables por lo que terminan en las vías respiratorias) desencadenan o exacerbaban el asma, enfermedad inflamatoria crónica que afecta las vías respiratorias y que posee un componente genético complejo, el cual puede ser afectado mediante acetilaciones que desencadenan expresiones de genes inflamatorios (Rico-Rosillo *et al.*, 2014).

Algunas de las principales enfermedades relacionadas a contaminantes atmosféricos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Enfermedades causadas por contaminantes atmosféricos (Seoanez Calvo, 2002).

<b>Perturbación</b>	<b>Factores de influencia</b>	<b>Efectos</b>
Cáncer	Contaminantes atmosféricos.	Desencadenamiento o favorecimiento del inicio o la propensión de un tumor ya existente.
Enfermedades cardiovasculares	Contaminantes atmosféricos.	Efectos sobre el sistema cardiovascular.
Enfermedades nerviosas y mentales.	Contaminación atmosférica.	Depresiones, esclerosis, parálisis, enfermedad de <i>Parkinson</i> , enfermedad de <i>Alzheimer</i> , locura, etc.
Alergia respiratoria	Partículas, ácaros, animales o restos de animales, microorganismos.	_____
Enfermedades respiratorias	Polvo, gases, vapores, humos y ciertas partículas.	Bronquitis, tos, resfriados, rinitis, asma, neumonitis, fibrosis pulmonar, enfermedades bronco - pulmonares, irritación de las mucosas.

La presencia de bioaerosoles en ambientes interiores es aún de mayor preocupación, ya que éstos, suelen ser lugares de trabajo o donde la gente pasa la mayor parte de su tiempo, exponiéndose por tiempos prolongados a estos contaminantes (Xie *et al.*, 2017), presentando a mediano o largo plazo, alergias o enfermedades respiratorias como infecciones causadas por bacterias, hongos o virus, como lo son la tuberculosis, neumonía (*Legionella* sp.), micosis (*Aspergillus* sp.), y paperas; además de ocasionar el llamado “Síndrome del edificio enfermo” en el que los diversos microorganismos se impregnan en las estructuras de los interiores, y al inhalarlos, causan cefaleas, somnolencia, irritación de las mucosas, fatiga, etc. (Maldonado-Vega *et al.*, 2014).

## **1.2.- Justificación**

El muestreo y medición de las partículas suspendidas totales (PST) en el aire cobran relevancia en México ya que el Área Metropolitana de Monterrey (AMM) ocupa el tercer lugar dentro de las 10 ciudades más contaminadas en Latinoamérica, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), dejando en quinto lugar a la Ciudad de Toluca, que hace unos años se posicionaba a niveles mayores que Monterrey (Venegas Loaiza, 2018).

En el AMM, los contaminantes criterio más relevantes desde el punto de vista ambiental son las partículas suspendidas, las cuales están formadas de diversos compuestos inorgánicos y orgánicos presentes en el aire, pudiendo ser producto de la actividad humana o de los fenómenos naturales. Las partículas presentan un riesgo para la salud de la sociedad que habita en el AMM, pues por su pequeño tamaño, son fáciles de inhalar y alojarse en el sistema respiratorio.

En lo que respecta a los bioaerosoles, este campo está casi inexplorado cuando se trata de la cantidad de microorganismos dentro de ambientes tanto interiores como exteriores y su variación con parámetros como temperatura y humedad. El estudio de lo anterior es de gran importancia ya que las personas pasan la mayoría de su tiempo dentro de casas, oficinas, edificios, etc., inhalando todos estos microorganismos de los cuales no existe mucha información acerca de sus concentraciones, características y efectos a la salud.

Es por lo anterior, que la presente investigación representa una gran área de oportunidad, dado que se muestreó y se analizó el aire de cuatro zonas geográficas distintas del AMM tomando como criterio la calidad de aire de cada zona según el Sistema Integral de Monitoreo Ambiental (SIMA) del Gobierno del Estado de Nuevo León, además de la accesibilidad y antigüedad de edificios.

## Capítulo 2 ANTECEDENTES

### 2.1.- Área Metropolitana de Monterrey (AMM)

El AMM está constituida por doce municipios del estado de Nuevo León: García, Santa Catarina, San Pedro Garza García, Ciudad General Escobedo, San Nicolás de los Garza, Monterrey, Guadalupe, Apodaca, Juárez, Cadereyta Jiménez, Santiago y Salinas Victoria (figura 1) abarcando una extensión de aproximadamente 7, 700 km<sup>2</sup>.

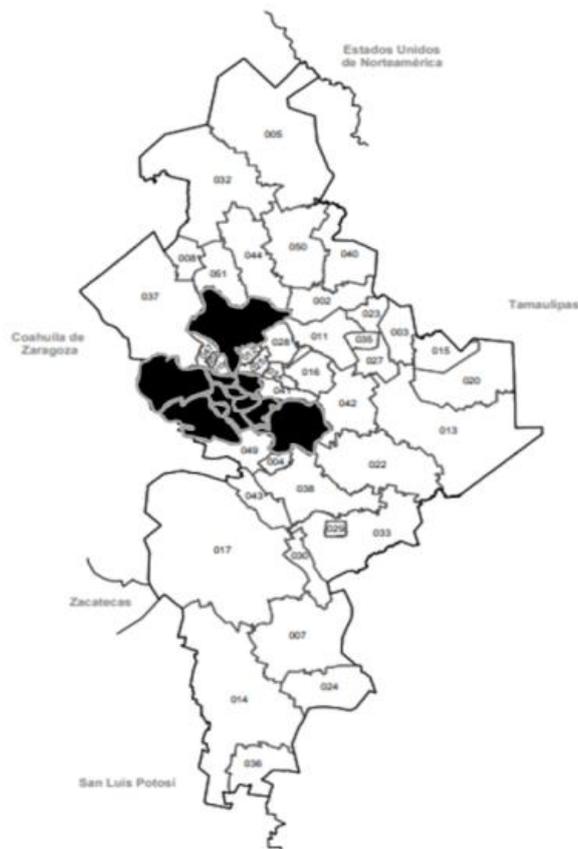


Figura 1. Mapa del estado de Nuevo León donde se señalan los municipios que conforman el AMM (en color negro). Imagen adaptada de: INEGI. Marco Geoestadístico Municipal 2010: [http://cuentame.inegi.org.mx/mapas/pdf/entidades/div\\_municipal/nvoleonmpios.pdf](http://cuentame.inegi.org.mx/mapas/pdf/entidades/div_municipal/nvoleonmpios.pdf)

En la tablan 3 se muestra la cantidad de habitantes por municipio del AMM que había hasta el año 2015, fecha más reciente que tiene reportada el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2015).

Tabla 3. Cantidad de habitantes en los municipios del AMM en 2015. Tabla adaptada de INEGI. Recuperado de: [cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/nl/poblacion/](http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/nl/poblacion/)

Municipio	Habitantes (año 2015)
García	247 370
Santa Catarina	296 954
San Pedro Garza García	123 156
General Escobedo	425 148
San Nicolás de los Garza	430 143
Monterrey	1 109 171
Guadalupe	682 880
Apodaca	597 207
Juárez	333 481
Cadereyta Jiménez	95 534
Santiago	42 407
Salinas Victoria	54 192

En total, el AMM cuenta aproximadamente con 4, 500, 000 habitantes.

### 2.1.1.- Clima representativo.

Según datos del INEGI, el 68% del estado de Nuevo León presenta un clima seco y semiseco, el 20% clima cálido subhúmedo (llanura costera del Golfo), el 7% es clima templado subhúmedo (partes altas de la sierra) y el 5% restante posee un clima muy seco (hacia la Sierra Madre Occidental).

En la figura 2, se muestra un mapa de los diferentes climas del Estado de Nuevo León, en donde se indica el AMM y sus climas representativos.



Figura 2. Clima representativo en el AMM. Imagen adaptada de: [cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/nl/territorio/clima.aspx?tema=me&e=19](http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/nl/territorio/clima.aspx?tema=me&e=19).

Como se puede apreciar en la figura 2, el AMM presenta tres de estos cuatro climas representativos; el norte, sur y centro del AMM presenta clima seco y semiseco (Salinas Victoria, General Escobedo, San Nicolás de los Garza, Monterrey, parte de San Pedro Garza García, de Santa Catarina, todo Guadalupe y parte de Juárez y Santiago), clima cálido (Cadereyta Jiménez) y clima seco (parte de García y Santa Catarina, lado Oeste).

### 2.1.2.- Sistema Integral de Monitoreo Ambiental

El AMM cuenta con una red de monitoreo atmosférico llamada Sistema Integral de Monitoreo Ambiental (SIMA), la cual reporta información de los niveles de contaminación ambiental en el AMM. Dentro del sitio web, se pueden observar las diferentes estaciones de muestreo ubicadas en un mapa del AMM, cada estación presenta diferentes colores, dependiendo de la calidad del aire prevaleciente (criterio que será usado en la sección de resultados para indicar si la calidad de aire es buena, regular, mala, muy mala o extremadamente mala) además de informar el nombre y la concentración del contaminante criterio ( $\text{NO}_x$ ,  $\text{SO}_x$ ,  $\text{PM}_{10}$ ,  $\text{PM}_{2.5}$ ,  $\text{O}_3$  y  $\text{CO}$ ) de mayor impacto en cada zona, como se puede observar en la figura 3.

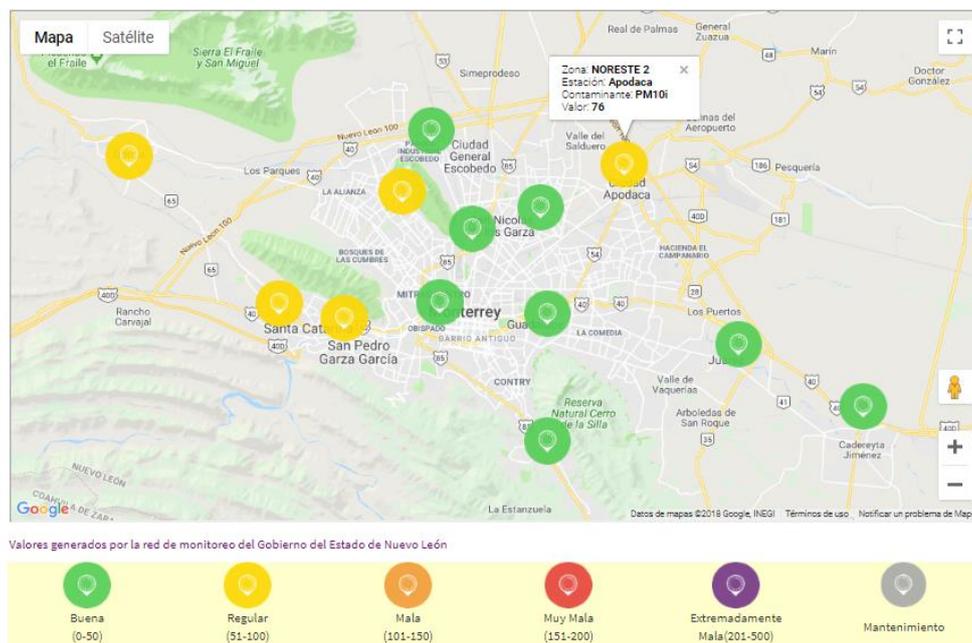


Figura 3. Mapa mostrado en la página del SIMA, en la que se puede apreciar la calidad de aire en las diferentes estaciones de muestreo, así como el contaminante de mayor impacto. Imagen reimpresa de: [http://aire.nl.gob.mx/map\\_calidad.html](http://aire.nl.gob.mx/map_calidad.html)

El nivel de calidad de aire está determinado por las concentraciones de contaminantes criterio, en este caso partículas  $\text{PM}_{2.5}$  y  $\text{PM}_{10}$ , con base a la NOM-025-SSA1-2014. Además, en ese mismo sitio existe una base de datos con reportes mensuales que incluyen parámetros meteorológicos como temperatura máxima y mínima, porcentaje de humedad relativa, dirección y velocidad del viento, radiación solar.

## 2.2.- Atmósfera

La atmósfera es una mezcla de gases que envuelve a la Tierra permaneciendo unida a ella gracias a la fuerza gravitatoria y está compuesta idealmente de nitrógeno (78%), oxígeno (21%) y argón (1%), sin embargo, existen en ella gases traza, la mezcla de todos ellos apenas alcanza el 1% de la composición de la atmósfera.

En la tabla 4 se muestra la composición básica de la atmósfera en los primeros 25 km de altura (tiene una altura mayor a los 1000 km).

Tabla 4. Composición gaseosa básica de la atmósfera. Tabla adaptada de Seoánez, 2002.

Componente	Porcentaje en volumen
Nitrógeno (N <sub>2</sub> )	78.084
Oxígeno (O <sub>2</sub> )	20.946
Argón (Ar)	0.934
Dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> )	0.034
Neón (Ne)	0.0018
Helio (He)	0.000524
Ozono (O <sub>3</sub> )	0.0002
Hidrógeno (H <sub>2</sub> )	0.00005
Metano (CH <sub>4</sub> )	Trazas
Criptón (Kr)	Trazas
Xenón (Xe)	Trazas

Actualmente, las mediciones en la atmósfera han registrado aumento en la concentración de gases de efecto invernadero (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O y compuestos halogenados), los cuales además de afectar la química atmosférica, absorben radiación infrarroja de la superficie de la tierra y regresan una porción de dicha radiación a la superficie en el llamado efecto invernadero (Seinfeld, 2006).

### 2.2.1.- Contaminación atmosférica

La contaminación atmosférica es un problema cada vez más grave en las grandes ciudades, debido al rápido crecimiento de población, la industrialización, el uso excesivo de automóviles, entre otras cosas.

Fue apenas hasta los años 1970 que se comenzaron a establecer medidas para minimizar el impacto al ambiente, pues ya se comenzaba a ver el daño a la salud humana. Fue así como nacieron los límites máximos establecidos para los contaminantes (Seoánez, 2002).

#### 2.2.1.1.- Material particulado

El material particulado se refiere a la materia dispersada en la atmósfera, puede estar en forma líquida o sólida, con tamaños que oscilan entre 0.05 y 500 µm.

Su composición siempre será dependiente de su lugar de origen, sin embargo, en términos generales, el polvo está formado por residuos orgánicos e inorgánicos, así como partículas vivas (polen, bacterias y esporas, algas, insectos y huevos de éstos, etc).

### **2.2.1.2.- Partículas PM<sub>2.5</sub>**

En 2015, un grupo de investigadores de diferentes países, realizaron una estimación de la carga de enfermedades causadas por la contaminación del aire, explorando las tendencias espaciales y temporales de la mortalidad atribuida a la contaminación atmosférica de 1990 a 2015, encontrando que la exposición a PM<sub>2.5</sub> causó 4.2 millones de muertes a nivel mundial, representando el 7.6% de las muertes en el mundo, el 59% de ese 7.6% fueron en el este y sur del sur de Asia (Cohen *et al.*, 2017).

Se han llevado a cabo investigaciones en las que se estudia la influencia de las estaciones del año con respecto a la concentración de PM<sub>2.5</sub>, tanto afuera, como dentro de casas habitadas por dos a cinco personas, por ejemplo, en Colorado, Estados Unidos, se muestrearon aerosoles dentro y fuera de 15 casas ubicadas en diferentes ciudades de Colorado durante un año. En dicha investigación se encontró que las concentraciones del material particulado PM<sub>2.5</sub> era mayor dentro de las casas y también las concentraciones eran mayores en verano comparadas a primavera y otoño (Clements *et al.*, 2018).

En China, uno de los países más afectados por contaminación atmosférica, fue hasta el año 2012 que se contó con una red de monitoreo ambiental, sin embargo, a pesar de brindar información diaria sobre los niveles de PM<sub>2.5</sub>, se encontró en un estudio realizado entre los años 2004 y 2013 que los monitoreos tradicionales de PM<sub>2.5</sub> a nivel del suelo, dejan un hueco en la información espacio-temporal, por lo que fue necesario desarrollar un modelo de predicción de concentración de PM<sub>2.5</sub> mediante monitoreos vía satélites y modelos estadísticos, para predecir la información faltante de los monitoreos realizados diariamente. Se concluyó que la estación de invierno es la que presenta mayor contaminación por este tipo de partículas y verano la estación más limpia (Ma *et al.*, 2016).

En Santiago, Chile, se hizo una investigación de 15 años para determinar las principales fuentes de contaminación ambiental y la evolución de PM<sub>2.5</sub>. Los monitoreos de partículas fueron llevados a cabo mediante filtros de teflón en un muestreador de bajo volumen operando 24 horas a un flujo de 15 L/min. Se concluyó como en estudios anteriormente mencionados, que la temporada con más altas concentraciones de partículas fueron otoño e invierno (Barraza *et al.*, 2017).

Las PM<sub>2.5</sub> a pesar de tener un diámetro muy pequeño, tienen grandes áreas superficiales en las que es posible acarrear diferentes compuestos tóxicos que, por el pequeño tamaño de estas partículas, les es posible alojarse en el sistema respiratorio, sin ser afectadas por el sistema de filtración nasal (vellos) alcanzado el final del tracto

respiratorio, dañando otras partes del cuerpo mediante el intercambio de aire en los pulmones (Yu-Fei *et al.*, 2016)

### **2.2.1.3.- Partículas PM<sub>10</sub>**

Se dice que este tipo de partículas contienen una gran carga de metales pesados, representando un daño a la salud, pues al igual que las PM<sub>2.5</sub> estas partículas son inhalables, por lo que se han realizado estudios de muestreo de aire para recolección de PM<sub>10</sub> durante el periodo de un año, para determinar la carga de plomo presente en los filtros y la evaluación de los daños a la salud ocasionados por la ingestión, inhalación y absorción dérmica de partículas depositadas (Ahmad *et al.*, 2019).

En Polonia, se realizó un estudio durante 12 años en el que se estudiaron las concentraciones de PM<sub>10</sub> y algunos metales contenidos en estas partículas (As, Pb, Cd y Ni) que son considerados agentes cancerígenos (cáncer pulmonar). Se observó que los mayores valores de PM<sub>10</sub> se presentan durante el invierno, ya que los habitantes hacen uso de calentadores para sus hogares, quemando combustibles fósiles. Además, las malas condiciones atmosféricas como la estabilidad atmosférica, baja velocidad de aire, alto porcentaje de humedad relativa y las inversiones térmicas, favorecen la presencia y permanencia de dicho contaminante (Widziewicz *et al.*, 2018).

En China hay abundantes estudios acerca de la calidad del aire, por ejemplo, en uno de ellos, estudiaron la composición de PM<sub>2.5</sub> y PM<sub>10</sub> encontrando que bacterias consideradas patógenas oportunistas fueron encontradas en mayor cantidad en otoño e invierno. También encontraron que el factor que más afectaba la proporción de tales bacterias era el material particulado, así como los demás contaminantes criterio, haciendo que los factores meteorológicos no impactaran tanto en las proporciones de bacterias. Este estudio encontró géneros de bacterias patógenas oportunistas que incluyen *Staphylococcus*, *Neisseria* y *Corynebacterium* (Fan *et al.* 2019).

### **2.2.1.4.- Partículas suspendidas totales (PST)**

Las PST han sido objetivo de investigaciones realizadas para determinar la cantidad de metales traza (Si, Al, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, Ba, Pb and Ti) en el aire de países como Malasia (Chen, R., *et al.*, 2015) y China (Chen *et al.*, 2016) usando ICP-MS.

Muestreos simultáneos de PST, PM<sub>10</sub> y PM<sub>2.5</sub> realizados en Colombia, Canadá y México, han ayudado a establecer relaciones de equivalencia entre la concentración de dichas partículas, por ejemplo, en Colombia, se registraron las correlaciones de PM<sub>10</sub>/PST de 0.595 como promedio de 6 estaciones de muestreo, una relación PM<sub>2.5</sub>/PM<sub>10</sub> de 0.41 y una relación de PM<sub>2.5</sub>/PST de 0.20 (Rojano *et al.*, 2013). En Canadá se encontró que el PM<sub>2.5</sub> corresponde a un 49% de la composición de las PM<sub>10</sub> y que un 44% de las PST es constituido por

PM<sub>10</sub> (Brook *et al.*, 1997). Finalmente, en México sólo ha sido establecida la relación entre PM<sub>10</sub> y PST correspondiente a un 0.495 (PM<sub>10</sub>/PST) (Cicero-Fernández *et al.*, 1993).

### 2.3.- Bioaerosoles en ambientes interiores

Los estudios de bioaerosoles en ambientes interiores son menores a los realizados en ambientes exteriores. Generalmente, la determinación de microorganismos en interiores se enfoca a establecimientos de trabajo. Por ejemplo, en México, se han comparado las concentraciones de microorganismos en diferentes áreas de dos hospitales (Maldonado-Vega *et al.*, 2014). En 2015, en Colombia, se realizó un estudio en el cual se caracterizaron bioaerosoles de diferentes edificaciones administrativas (Cardozo-Becerra y Araque-Muñoz, 2015).

En 2018, en Kuwait se llevó a cabo un muestreo en una industria dedicada al reciclaje y procesamiento de papel. En dicha investigación se determinaron dos géneros bacterianos que se desarrollan en dicho material y sus alrededores los cuales son *Thermicamus* y *Burkholderia* (Hamoda *et al.*, 2018).

En la tabla 5 se muestran algunos géneros bacterianos y fúngicos que han sido encontrados en los estudios mencionados en el presente trabajo.

Tabla 5. Microorganismos encontrados en estudios recientes.

Título	Autor y año	Microorganismos encontrados
Bioaerosoles y evaluación de la calidad del aire en dos centros hospitalarios en León, Guanajuato, México	Maldonado-Vega <i>et al.</i> , 2014	<u>Bacterias:</u> <i>E. coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp, <i>Cancerogenis</i> spp, <i>Acinetobacter</i> spp, <i>Bacillus</i> spp. <u>Hongos:</u> <i>Fusarium</i> spp, <i>Penicillium</i> spp, <i>Icosporum audoounii</i> , <i>Cladosporium oxysporum</i> , <i>Incor ramosissimus</i> , <i>Alternaria arborescens</i> y <i>Cryptococcus albidus</i> .
Evaluación de la contribución de sistemas de enfriamiento y ventilación mecánica al nivel de bioaerosoles en interiores.	Xion <i>et al.</i> , 2016	<u>Bacteria:</u> <i>Staphylococcus</i> spp, <i>Micrococcus</i> spp, <i>Streptococcus</i> spp. <u>Hongos:</u> <i>Cladosporium</i> spp, <i>Aspergillus</i> spp y <i>Penicillium</i> spp.
Identificación de microorganismos presentes en la atmósfera baja de una zona industrial del AMM	Verástegui <i>et al.</i> , 2015	<u>Bacterias:</u> <i>Enterobacter</i> spp, <i>Klebsiella</i> spp, <i>Pseudomonas aerogenes</i> . <u>Hongos:</u> <i>Aspergillus</i> spp, <i>Rizhopus</i> spp, <i>Cladosporium</i> spp, <i>Bipolariis</i> spp, <i>Monilia</i> spp, <i>Vurbularia</i> spp, <i>Chaetomium</i> spp, <i>Fusarium</i> spp y <i>Ceohalosporium</i> spp.

Caracterización microbiológica de bioaerosoles en el interior de una fábrica recicladora de papel.	Hamoda et al., 2018	<u>Bacterias:</u> <i>Thermicamus</i> spp, <i>Burkholderia</i> spp, <i>Vibrio</i> spp, <i>Prevotella</i> spp, <i>Bisidiobacterium</i> spp.
Composición bacteriana de baños públicos en un edificio.	Thiago-Dobbler et al., 2018	<u>Bacterias:</u> <i>Proteobacteria</i> spp, <i>Actinobacteria</i> spp, <i>Bacteroidetes</i> spp y <i>Firmicutes</i> spp.

En el AMM hay contados estudios relacionados al enfoque de la presente investigación, los cuales, han sido realizados sólo en ambientes exteriores, en periodos de tiempo cortos y sin presentar comparaciones entre los tipos y/o la cantidad de microorganismos presentes en las diferentes estaciones del año.

La principal referencia es el estudio 2015 por Verástegui y colaboradores quienes identificaron microorganismos presentes en la atmósfera baja de una zona industrial del AMM, en un periodo de seis semanas en primavera y en un solo punto de muestreo de ambiente exterior (Verástegui Rubio et al., 2015).

Con la información presente en la tabla 5, se puede resumir que los géneros bacterianos y fúngicos que se reportan con más frecuencia en las investigaciones anteriormente citadas son *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Cladosporium*, *Penicillium* y *Fusarium*, por lo que en la tabla a continuación (tabla 6) se muestran algunas de las afectaciones a la salud que estos géneros de microorganismos pueden ocasionar.

Tabla 6. Afectaciones a la salud por algunos géneros microbiológicos.

Género	Afectaciones a la salud
<i>Acinetobacter</i>	Neumonía
<i>Enterobacter</i>	Suelen atacar a pacientes hospitalizados, causando infecciones en heridas de quemaduras, vías respiratorias y tracto urinario.
<i>Cladosporium</i>	Fiebre del heno (alergia de la primavera y verano) y asma.
<i>Penicillium</i>	Causante de infecciones en huéspedes inmunocomprometidas.
<i>Fusarium</i>	Queratitis, onicomicosis y puede llegar a causar infecciones graves en huéspedes inmunodeprimidos.

### 2.3.1.- Métodos de muestreo de aire en ambientes interiores

Existen diferentes métodos de muestreo de aire de interiores, como lo son la impactación, impregnación, método de filtración, el muestreo por gravedad, precipitación electrostática, ciclón, precipitación térmica y la técnica de condensación (Ghosh et al., 2015).

A pesar de que las opciones son amplias, los métodos más reportados son por impactación y gravedad.

### **2.3.1.1 Impactación**

Para esta técnica de muestreo se utilizan equipos que succionan aire, haciendo que éste cambie su dirección causando que las partículas con gran inercia se impacten sobre la superficie de recolección (Henningston y Ahlberg, 1994).

Estos muestreadores presentan diferentes características en el tamaño y la forma de entrada (factores más importantes en la eficiencia del muestreador), el número de cámaras de recolección dentro del muestreador además del tipo de material en el que los microorganismos se impactan, pudiendo ser en un sólido (lámina de vidrio), una superficie semi sólida (caja de agar) o un filtro o gelatina (Macher y Hasson, 1987).

Una de las más grandes desventajas de este método es la sobrepoblación de microorganismos, ocasionando que las colonias se empalmen en el medio de cultivo dificultando el conteo de unidades formadoras de colonias.

Diversas investigaciones mencionan este método, por ejemplo, en la evaluación de la calidad del aire en dos centros hospitalarios en la ciudad de Guanajuato, México (Maldonado-Vega *et al.*, 2014), en la determinación de calidad microbiológica de aire de un área limpia en una industria farmacéutica (De la Rosa *et al.*, 2000). En Colombia fue usado un impactador de seis etapas para la caracterización de bioaerosoles en tres edificaciones administrativas (Cardozo-Becerra y Araque-Muñoz, 2015).

### **2.3.1.2 Impregnación**

El método de captación consiste en la succión de aire a través de un tubo de entrada angosta sobre el medio de recolección, donde el flujo del aire muestreado depende del diámetro de la boquilla de la entrada. Después del muestreo se debe tomar una alícuota de las muestras originales y sembrarlas en el medio apropiado para el conteo de microorganismos viables (Cartwright *et al.*, 2009).

Los medios líquidos deben ser isotónicos o una solución amortiguada para evitar el estrés osmótico impuesto a los microorganismos en su recolección (Ghosh *et al.*, 2015).

### **2.3.1.3 Método de filtración**

Este tipo de muestreo hace uso de membranas porosas por las que se hace pasar el aire. Dichas membranas pueden estar hechas de fibra de vidrio, cloruro de polivinilo (PVC), policarbonato o acetato o bien, gelatina (Mandal y Brandl, 2011).

Aunque este método es más sencillo y económico que algunos otros, es más utilizado para muestreadores personales en estudios realizados a ambientes laborales, ya que es pequeño y hace sencillo que el empleado lo use en su ropa (Ghosh *et al.*, 2015).

#### **2.3.1.4 Método por gravedad**

El método por gravedad es una opción más simple comparada con las anteriores, pues consiste en la exposición de cajas al ambiente con medio de cultivo (agares) durante un determinado tiempo, permitiendo que los microorganismos caigan en la caja y sean colectados en ella.

Una desventaja de este método es que los resultados obtenidos brindan información del número total de bioaerosoles colectado (o masa) y no cuantifica su concentración ya que no se tiene un volumen específico de aire muestreado (Ghosh *et al.*, 2015).

En la investigación de De la Rosa (previamente mencionada) también hace uso de este procedimiento a la par del impactador portátil (De la Rosa *et al.*, 2000), dejando las cajas expuestas por 30 minutos. En Singapur, se evaluó la contribución del aire acondicionado y ventilación mecánica en los niveles de bioaerosoles en ambientes interiores (Xiong *et al.*, 2016) adhiriendo las cajas en las paredes de los ductos de ventilación por intervalos de media hora.

#### **2.4.- Caracterización de microorganismos transportados por el aire**

Existen diferentes métodos de caracterización e identificación de microorganismos, que van desde la morfología de las colonias hasta secuenciaciones moleculares, pasando por tinciones diferenciales, microscopía y pruebas bioquímicas.

En la Universidad Nacional de Singapur, se realizó la caracterización de los microorganismos captados en un muestreo de los interiores de dos establecimientos aislando las bacterias aeróbicas en placas con Agar Triptícase Soya (TSA) y se siguió el criterio del Manual de Bergey para la identificación de dichas bacterias. Ellos identificaron hasta el nivel de género por la morfología de colonias y realizaron una caracterización bioquímica parcial usando procedimientos como tinción de Gram y pruebas de movilidad, producción de indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer, utilización de citrato, producción de H<sub>2</sub>S, fermentación de carbohidratos, catalasa, oxidasa, almidón, gelatina e hidrólisis de lípidos (Rajasekar *et al.*, 2011).

En Idaho, Estados Unidos, se realizó un muestreo en una fábrica de lácteos, y para la identificación de microorganismos se realizó análisis de secuenciación de ADN amplificado por Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de bacterias clonadas y hongos aislados para determinar género y especie de microorganismos. Las secuencias obtenidas de rADN 16S fueron comparadas con las existentes en la base de datos BLAST del Centro Nacional de Información para Biotecnología (NCBI por sus siglas en inglés) y la alineación de secuencias se realizó con el editor de alineación de secuencias BioEdit (Dungan *et al.*, 2010).

En Japón se evaluó la composición y el origen de bacterias transportadas por el aire. Los investigadores extrajeron ADN de los cultivos en caldo triptícase soya (TS) después de tres días de incubación usando dodecilsulfato sódico (SDS), proteasa y lisozima. Posterior a la extracción el ADN fue purificado con extracción de fenol-cloroformo, extracción de cloroformo y precipitación de etanol. Los fragmentos de rADN 16S fueron amplificados por PCR para realizar la secuenciación y dichas secuencias fueron comparadas con el banco de datos de ADN de Japón (DDBJ por sus siglas en inglés) usando BLAST (Maki *et al.*, 2013).

### **2.5.- Microorganismos comúnmente transportados por el aire en ambientes interiores.**

A pesar de las diferentes condiciones ambientales, geográficas y ocupacionales de los lugares de muestreo de las diferentes investigaciones de este tipo, es común encontrar los mismos géneros y especies de microorganismos en los resultados obtenidos.

En Cuba, en el 2014, se realizó una investigación para la caracterización de la microbiota aérea en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba enfocándose sólo en los hongos. Los autores reportaron la presencia de géneros fúngicos como *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Penicillium*, siendo *Cladosporium* el género más abundante. Además, se encontraron levaduras de los géneros *Candida* y *Rhodotorula* (Borrego *et al.*, 2014).

En edificaciones administrativas (Cardozo-Becerra y Araque-Muñoz, 2015) se reportaron hongos de los géneros *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Penicillium*.

En la tropósfera baja del AMM cercana a un área industrial, se encontraron bacterias de los géneros *Enterobacter*, *Agglomerans*, *Salmonella*, *Klebsiella*, y bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes* (Verástegui *et al.*, 2015).

## Capítulo 3

# HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

---

### 3.1.- Hipótesis

La microbiota en el aire ambiente de exteriores e interiores diferirá según la ubicación de cada área de muestreo, parámetros atmosféricos y antigüedad de las edificaciones muestreadas.

### 3.2.- Objetivos

#### 3.2.1.- Objetivo general

Identificar y caracterizar preliminarmente la diversidad microbiológica presente en aire ambiente de interiores y exteriores durante cuatro estaciones del año en cuatro zonas del AMM.

#### 3.2.2.- Objetivos específicos

1. Recolectar muestras de aire de ambientes interiores y exteriores en cuatro diferentes zonas del AMM.
2. Cuantificar, aislar y caracterizar los microorganismos viables y cultivables (hongos y bacterias) en las muestras para iniciar una base de datos.
3. Estimar la concentración contaminantes criterio en exteriores de las zonas a muestrear ( $PM_{10}$  y  $PM_{2.5}$ )
4. Identificar mediante técnicas moleculares la diversidad microbiológica obtenida en primavera y verano.
5. Correlacionar la presencia de microorganismos cultivables con parámetros atmosféricos para determinar la prevalencia de estos en diferentes épocas del año.
6. Realizar un diagnóstico de la calidad microbiológica del aire de acuerdo con los datos obtenidos con el fin de identificar zonas críticas.
7. Correlacionar la presencia de microorganismos y contaminantes criterio en la incidencia de diversas enfermedades asociadas con su presencia en los centros de trabajo y aire de exteriores.
8. Sugerir posibles acciones preventivas o correctivas con el propósito de disminuir la carga microbiana de las zonas afectadas.

## **Capítulo 4**

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

---

### **4.1.- Área de trabajo**

Para la elaboración de la presente investigación se hizo uso de las instalaciones del Laboratorio de Procesos Microbiológicos en el Centro de Investigación en Biotecnología y Nanotecnología (CIByN) de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL y el Laboratorio de Biotecnología IV de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH).

Los muestreos de ambientes interiores y exteriores fueron realizados en A: institución de educación media superior ubicada en la zona sur del AMM, B: institución de educación media superior ubicada en la zona poniente del AMM, la C: biblioteca ubicada en la zona norte y D: centro de investigación ubicado en la zona oriente del AMM.

### **4.2.- Disposición de residuos**

Los residuos generados durante la realización del proyecto de investigación se dispusieron y clasificaron de acuerdo con las características de estos y a los reglamentos establecidos por la Facultad de Ciencias Químicas (FCQ) de la UANL, haciendo uso de los contenedores proporcionados por el Departamento de Medio Ambiente y Seguridad, mismo que se aseguró de llevar a cabo las labores pertinentes de almacenaje previo a la disposición final de los residuos.

### **4.3.- Muestreos**

Las coordenadas de las zonas de muestreo son las siguientes:

Zona A: 25.611052, -100.276181      Zona B: 25.671709, -100.427630

Zona C: 25.724465, -100.310578      Zona D: 25.763759, -100.123280

A continuación, en la figura 4, se muestra un mapa de las estaciones de muestreo con las que cuenta el SIMA, señalando la ubicación de los puntos de muestreo.

Las estaciones de muestreo del SIMA correspondientes a los sitios de muestreo de esta investigación son:

- Zona A: Estación sureste (Guadalupe)
- Zona B: Estación suroeste (Santa Catarina)
- Zona C: Estación norte 2 (San Nicolás de los Garza)
- Zona D: Estación noreste 2 (Apodaca)

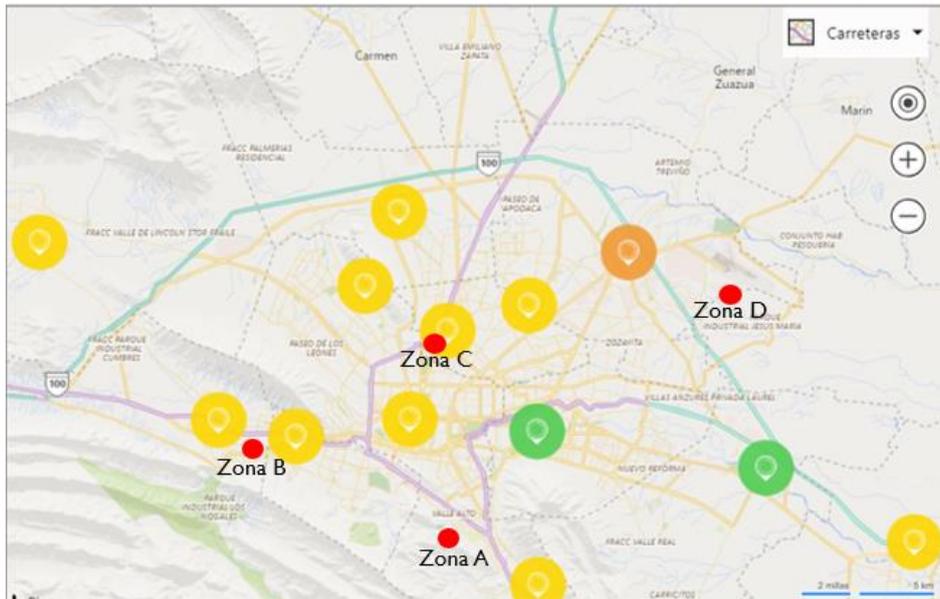


Figura 4. Mapa de sitios de muestreo y estaciones de muestreo del SIMA.

#### 4.3.1 Muestreos en exteriores

Las zonas de muestreo fueron elegidas con el fin de abarcar lo más posible el AMM y sus zonas representativas.

Los periodos de muestreo fueron programados para ser realizados en la mitad de cada estación, es decir, a partir del día 45 de cada temporada, debido a que se haría un solo muestreo por zona y por estación, de esta manera se aseguró que hubiera los menores cambios de temperatura posibles y la medida de PST fuera más representativa para cada estación. Las fechas de los muestreos de primavera fueron las siguientes: el 29 de mayo se muestrearon las zonas A y B y el 30 de mayo zonas C y D (2019). Los muestreos de verano fueron realizados el 7 de agosto en las zonas C y D, mientras que en las zonas A y B el 8 de agosto de 2019. En otoño, el 20 de noviembre se muestreó la zona A, el 21 de noviembre la zona B, el 25 de noviembre la zona C y la zona D el 28 de noviembre, todas en el año 2019. Finalmente, los muestreos de invierno fueron el 4 de febrero en la zona D, el 5 de febrero en la zona A, el 7 de febrero en la zona B y el 12 de febrero en la zona C (año 2020).

En los muestreos de verano, el muestreador utilizado para las zonas B y C presentó fallas, al muestrear un flujo muy bajo que no permitía las correctas mediciones de PST, por lo que dichos datos tuvieron que ser estimados con las concentraciones de  $PM_{10}$  reportadas por el SIMA, usando las relaciones de  $PM_{10}/PST$  mencionadas en la sección 2.2.1.4.

Para los muestreos se utilizaron muestreadores de alto volumen (High volumen sampler) (Hi Vol) marca Tisch Environmental (figura 5).

Dichos muestreos tuvieron una duración de 24 horas para que tuvieran validez estadística, tal y como lo dicta la norma NOM-035-SEMARNAT-1993. De la misma manera, el flujo de los muestreadores fue calibrado utilizando el método mencionado en dicha norma, en donde se hizo uso de un manómetro Dwyer y cartas de flujo (figura 6) para medir presión y flujo respectivamente.



Figura 5. Muestreador de alto volumen TISCH Environmental

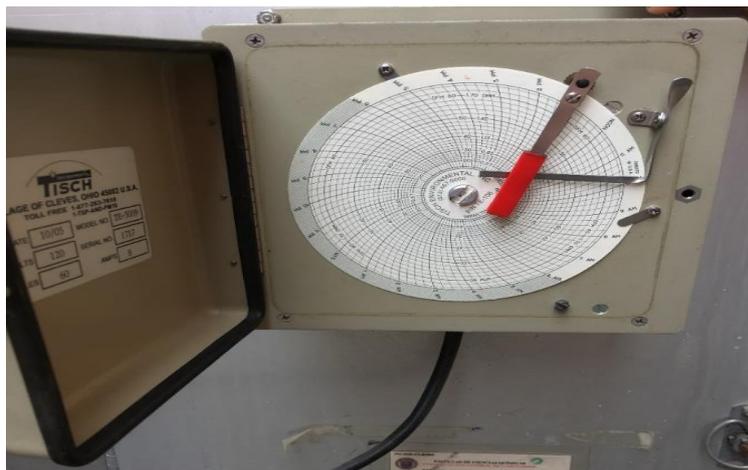


Figura 6. Carta de flujo para muestreador de alto volumen.

La calibración consistió en registrar tanto el menor y el mayor volumen de aire de muestreo, así como las presiones correspondientes de tales flujos. Después, se eligieron cinco valores de flujo que estuvieran entre el volumen menor y el volumen mayor. Una vez registrados los flujos elegidos, se moduló el flujo con el calibrador del equipo (figura 7) y se registraron las presiones registradas en el manómetro para cada valor de los flujos elegidos anteriormente.

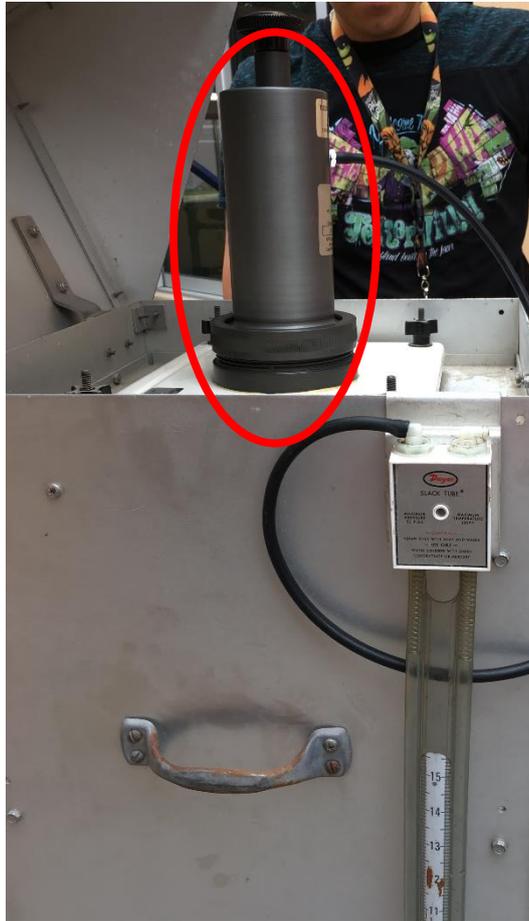


Figura 7. Modulador de flujo (encerrado en rojo).

Con dichos datos, se construyó una gráfica, teniendo como valor dependiente las presiones (en el eje de las ordenadas) y como valor independiente los valores de flujo (en el eje de las abscisas), obteniendo una gráfica de una recta con la que fue posible realizar una regresión lineal para obtener un coeficiente de correlación ( $r^2$ ).

Una vez calibrado el equipo, se retiró el modulador de flujo y se colocó el filtro de fibra de vidrio para PST y se iniciaron los muestreos por 24 horas. Cabe mencionar que a los filtros se les realizó un acondicionamiento (propuesto por el equipo de investigación) calentando a 100 °C en la estufa por al menos 24 horas para llevarlos a peso constante. Los filtros se pesaron y se registró el peso ( $G_i$ ).

En cada uno de los lugares de muestreo, se registró la temperatura, la humedad relativa, la calidad de aire, presencia de precipitación en ese periodo de tiempo y además la velocidad del viento.

#### **4.3.1.1 Tratamiento de muestras de ambientes exteriores (Concentración de PST, $PM_{10}$ y $PM_{2.5}$ )**

Después de las 24 horas de muestreo, los filtros fueron cortados a la mitad. Una de las mitades se conservó tal cual como se sacó del muestreador (filtro usado para el análisis microbiológico) y la parte restante, se sometió al mismo tratamiento mencionado en el párrafo

superior (calentamiento a 100 °C por 24 horas) para eliminar la humedad contenida.

Al retirar los filtros de la estufa, estos se pesaron nuevamente ( $G_f/2$ ) y se utilizó la ecuación 1 para obtener la concentración de PST, como lo dicta la NOM-035-SEMARNAT-1993:

Ecuación 1. Ecuación dictada por la NOM-035-SEMARNAT-1993

$$PST = \frac{(G_f - G_i) \times 10^6}{V}$$

Dónde V es el volumen total de aire muestreado en  $m^3$  y el resultado es expresado en  $\mu g/m^3$ .

Como se mencionó en los antecedentes, algunos autores propusieron relaciones de  $PM_{10}/PST$  y  $PM_{2.5}/PM_{10}$ . Para los resultados que se muestran en el presente trabajo, se realizó un promedio de dichas relaciones propuestas por tres diferentes autores (mencionados en la sección 2.2.1.4) y se usaron las relaciones siguientes:  $PM_{10}/PST = 0.51$  y  $PM_{2.5}/PM_{10} = 0.45$ .

#### 4.3.1.2 Tratamiento de muestras para análisis microbiológico

Se tomaron las mitades de filtro que no se sometió a calor y en una cápsula se pesó 0.1 g de cada uno de los filtros tal como se sacaron del muestreador (figura 8) y esta cantidad de muestra se añadió a 100 ml de agua estéril en matraces Erlen Meyer, dejando reposar la solución por 15 minutos, agitando al principio y ocasionalmente durante este tiempo (De la Rosa *et al.* 2000) (figura 9).



Figura 8. Pesaje de filtro con microorganismos después de retirarlo del muestreador.

Al paso de los 15 minutos, con un asa de nicromo se tomó una muestra de cada matraz y se realizó una siembra estriada en agar nutritivo (para el crecimiento de bacterias) y en agar PDA (para el crecimiento de hongos). Las cajas de agar nutritivo se incubaron por 48 horas y las de PDA por 7 días, ambas a 37 °C; aunque la temperatura óptima para el crecimiento de los hongos es de 25 °C, se incubaron a 37 °C debido a que solo se contaba con una incubadora y se le daba preferencia a esta última temperatura debido a que los

demás investigadores trabajaban con bacterias, las cuales requieren diferentes temperaturas a los hongos.



Figura 9. Obtención de suspensión microbiana a partir de los filtros empleados en los muestreadores.

Transcurrido el tiempo de incubación de microorganismos, se aislaron las diferentes colonias obtenidas de los cultivos de las muestras originales (filtros) para realizar tinción de Gram y observarlos en el microscopio óptico.

#### **4.3.2 Muestreo en interiores**

Los lugares donde se realizaron los muestreos fueron contiguos a las zonas del muestreo de exteriores. Dichas instalaciones tenían las características de ser centros de educación media superior (zonas A y B) con alto flujo de personas, una biblioteca de aproximadamente 30 años con alto flujo de personas y un edificio recientemente construido con poco flujo de personas (zona D)

Los muestreos se llevaron a cabo durante el 2019, los correspondientes a primavera fueron realizados el 29 de mayo en las zonas A y B y el 30 de mayo en las zonas C y D. Los de verano se llevaron a cabo el 7 de agosto para las zonas C y D, mientras que en las zonas A y B fueron el 8 de agosto. En otoño el muestro en la zona A fue el 20 de noviembre, el 21 de noviembre en la zona B, el 25 de noviembre en la zona C y el 28 de noviembre en la zona D. Los muestreos correspondientes a la estación de invierno fueron todos en el año 2020, teniendo las fechas siguientes: 4 de febrero para la zona D, 6 de febrero para la zona A, 7 de febrero en la zona B y el 13 de febrero en la zona C.

En los lugares de muestreo, se verificó que no hubiera corrientes de aire, se registró si las ventanas estaban abiertas o cerradas y la cantidad aproximada de personas que había dentro de las

instalaciones (alrededor de 40 personas en los salones de clases, 20 en la biblioteca y un máximo de cinco en el centro de investigación).

Se prepararon algunas cajas de Petri con agar nutritivo (AN) y otras con PDA (agar dextrosa papa) y estas fueron abiertas en los lugares de muestreo, exponiéndolas al ambiente por 30 minutos (De la Rosa *et al.*, 2000) (figura 10).

Al igual que en los muestreos de exteriores se registraron los parámetros de temperatura, humedad relativa y calidad de aire (en el exterior).

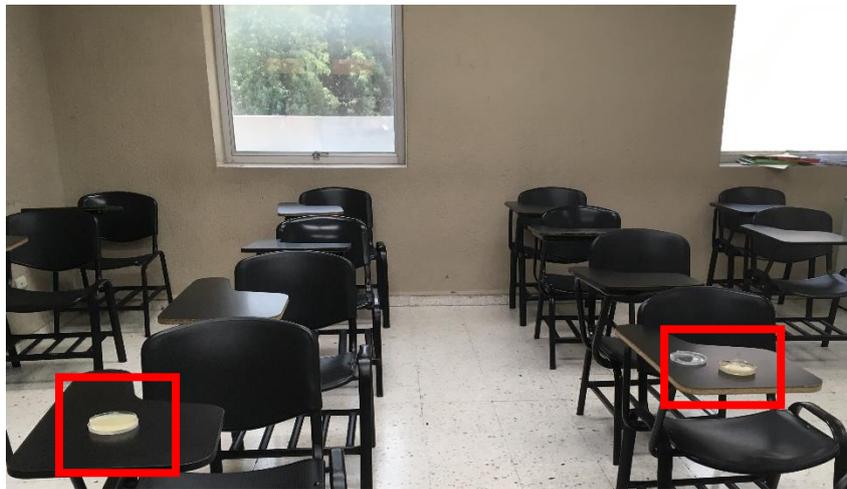


Figura 10. Cajas expuestas al ambiente (dentro del recuadro rojo).

#### **4.3.2.1 Tratamiento de muestras de ambientes interiores**

Una vez finalizados los muestreos, las cajas de Petri fueron selladas con parafilm para evitar contaminaciones y se transportaron al laboratorio en una hielera.

Las cajas fueron incubadas por 48 horas (AN) y por 7 días (PDA) a 37 °C. Transcurrido el tiempo mencionado se hizo un conteo de las colonias y el resultado fue registrado. Las colonias más representativas fueron aisladas en nuevos agares con la técnica de estría cruzada para bacterias. Estos aislados fueron incubados a las mismas condiciones que las muestras originales y a cada uno de los aislados se les realizó una caracterización morfológica por medio de tinción de Gram y observación en el microscopio óptico. Por su parte, los hongos fueron teñidos con azul de metileno (Bonifaz Trujillo, 2015).

Las muestras bacterianas que serían sometidas a secuenciación (de las estaciones de primavera y verano) se prepararon en caldo nutritivo pues era necesario que estuvieran en estado líquido para realizar la extracción de ADN. Se usaron las mismas condiciones de incubación, sólo que esta vez en tubos de ensayo con tapa de rosca.

## 4.4 Caracterización molecular

### 4.4.1 Extracción de ADN

La extracción de ADN bacteriano fue realizada con un ml de cultivo y un kit de extracción de ADN (Wizard®), siguiendo los siguientes pasos descritos por el fabricante del kit de extracción:

1. Los tubos Eppendorf que contenían el cultivo fueron centrifugados por tres minutos a 10000 rpm.
2. Se añadieron 120  $\mu$ l de buffer de fosfatos a los tubos, se centrifugaron por tres minutos a 10000 rpm y se decantó el sobrenadante.
3. Se agregaron 600  $\mu$ l de solución de lisis nuclear.
4. Se incubaron los tubos por cinco minutos a 80 °C y posteriormente las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente.
5. Se añadieron 3  $\mu$ l de solución de RNAasa.
6. Se incubaron las muestras en baño maría por 45 minutos a temperatura ambiente.
7. Se agregaron 200  $\mu$ l de solución de precipitado de proteínas y se mezcló con ayuda de un vórtex.
8. Las muestras fueron incubadas en hielo por cinco minutos y posteriormente se centrifugaron por cinco minutos a 10000 rpm.
9. El sobrenadante fue transferido a tubos limpios con 600  $\mu$ l de alcohol absoluto.
10. Los tubos con alcohol y sobrenadante fueron centrifugados a 10000 rpm por tres minutos.
11. Se añadieron 600  $\mu$ l de etanol al 70% a los tubos y se centrifugaron por tres minutos a 10000 rpm.
12. El sobrenadante fue decantado y los tubos se dejaron secar por 10 minutos, para posteriormente ser rehidratados en 100  $\mu$ l de solución rehidratante.

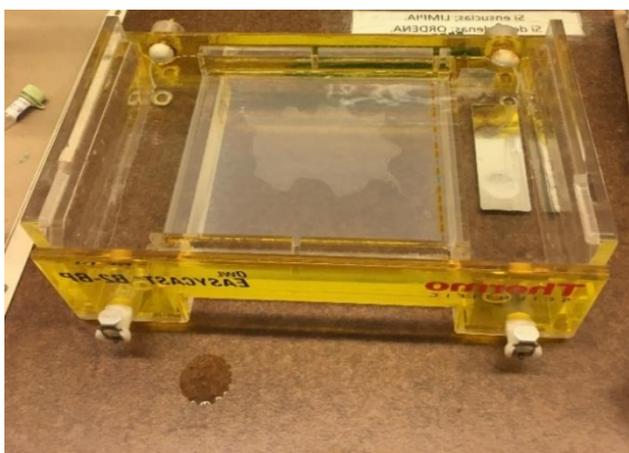


Figura 11. Electroforesis para verificación de extracción de ADN.

Para verificar la calidad del ADN extraído, se realizó una electroforesis (figura 11) en gel de agarosa al 1% usando un voltaje de 95 V por 30 minutos, usando TAE (Tris-Acetato-EDTA) como buffer de carga. Se colocaron 5 µl de muestra en el gel y una extracción de ADN previamente obtenida por el equipo de investigación para comparar la banda producida por la muestra.

El ADN bacteriano extraído fue congelado hasta el momento de realizar PCR, en donde se buscó amplificar la región 16S.

#### 4.4.2 Amplificación de ADN por PCR

Para realizar la PCR, se elaboraron 20 µl de mix, usando las siguientes cantidades de reactivos: 2.5 µl de buffer de reacción, 2 µl de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 1 µl de DNTP's (10X), 1 µl de primer forward 100X (5' CCATATCAATAACCGGAGGAAAAG 3'), 1 µl de primer reverse 100X (5' GGTCCGTGTTTCAAGACGG 3'), 0.25 µl de GoTaq® polimerasa y 12.25 µl de agua.

La amplificación fue realizada en un termociclador Labnet (figura 12) usando 35 ciclos de: 94 °C por cinco minutos (ciclo inicial), 94 °C por un minuto, 55 °C por un minuto, 72 °C por un minuto y un ciclo final de 72 °C por 5 minutos.

Las amplificaciones, al igual que las extracciones, fueron comprobadas mediante electroforesis usando un marcador de 100 pb).

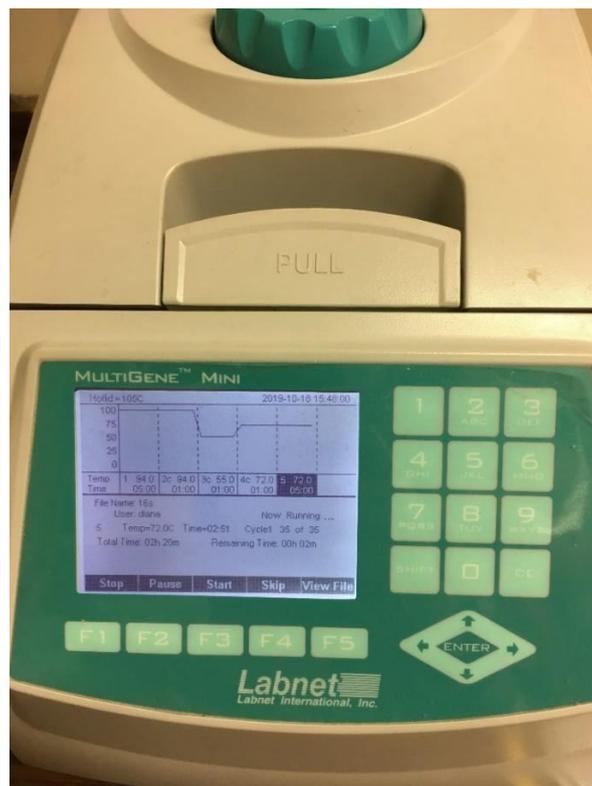


Figura 12. Termociclador Labnet.

#### **4.4.3 Secuenciación e identificación**

Una vez verificadas las amplificaciones, éstas fueron enviadas a MacroGen para su secuenciación.

Las secuencias recibidas fueron analizadas utilizando la base de datos BLAST del NCBI (National Center for Biotechnology Information: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). La alineación de secuencias se realizó con el programa Clustal X2 y la edición de secuencias con el programa SeaView4.

## **Capítulo 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

### **5.1 Muestreos**

#### **5.1.1 Muestreos en exteriores (concentración de PST, PM<sub>10</sub> y PM<sub>2.5</sub>)**

Estudios de diferentes países han encontrado que las mayores concentraciones de PM<sub>2.5</sub> se dan en la estación de invierno, mientras que la estación de verano es la más limpia (Ma *et al.*, 2017). Ha sido reportado que la concentración de PM<sub>2.5</sub> es casi tres veces mayor en temporadas frías que en temporadas cálidas (Barraza *et al.*, 2017). Dichos estudios fueron realizados durante periodos largos de tiempo, 9 y 15 años respectivamente, por lo que el comportamiento estacional descrito por tales datos es recurrente y respalda dicha tendencia. Cabe mencionar, que existen relaciones establecidas en estudios anteriores sobre la existencia de correlación entre las concentraciones de PM<sub>10</sub>, PM<sub>2.5</sub> y PST, por lo que al incrementar una de estas concentraciones, se debe tener en cuenta que las dos restantes también lo hicieron.

Los resultados obtenidos correspondientes a PST en las cuatro zonas de muestreo durante las cuatro estaciones en este trabajo se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Concentraciones de PST por zonas de muestreo de exteriores del AMM en las diferentes estaciones del año 2019-2020.

Concentración de PST ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )				
Zona	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
A	98.14	52.5	*234.15	157.2
B	*293.31	*130+	57.84	*180.77
C	176.8	110.41+	216.5	139.36
D	29.2	43.47	77.2	90.37

\* Valores de las concentraciones más altas

\*Datos estimados con las concentraciones de  $\text{PM}_{10}$  registrados por el SIMA

Se puede observar en la tabla 7 que la zona B fue la que presentó concentraciones más altas en tres de las cuatro estaciones del año, concordando con los datos arrojados por el SIMA en años anteriores. Debido a que las normas oficiales mexicanas sólo establecen límites para las  $\text{PM}_{10}$  ( $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) y las  $\text{PM}_{2.5}$  ( $30 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ), no para PST, se calcularon las concentraciones de las dos primeras mediante el uso de relaciones  $\text{PM}_{10}/\text{PST}$  y  $\text{PM}_{2.5}/\text{PM}_{10}$  mencionadas anteriormente en la sección de antecedentes para poder determinar qué zonas rebasan estos límites y así ser catalogadas como “zonas críticas”.

Los resultados se presentan a continuación por estación del año, para poder realizar el análisis de variaciones en concentraciones y parámetros meteorológicos.

En la tabla 8 se muestran las concentraciones de  $\text{PM}_{10}$  y  $\text{PM}_{2.5}$  y las condiciones meteorológicas presentes en los días de muestreo.

La temperatura, la humedad y la velocidad del viento son un promedio de los datos reportados por el SIMA cada hora en los días de muestreo.

Tabla 8. Concentraciones estimadas de  $\text{PM}_{10}$  y  $\text{PM}_{2.5}$  y parámetros climáticos en primavera.

Zona de muestreo	$\text{PM}_{10}$ ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	$\text{PM}_{2.5}$ ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (km/h)
A	*50.05	22.52	29	66	17
B	*149.59	*67.31	29	60	6
C	*90.17	*40.58	29	62	8
D	14.89	6.7	25	82	9,7

\* Valores que sobrepasan los límites establecidos por la NOM-025-SSA1-2014.

Tres de las zonas de muestreo estuvieron por encima de los límites marcados por la NOM-025-SSA1-2014 para  $\text{PM}_{10}$  y dos zonas por encima de los establecidos para  $\text{PM}_{2.5}$ , sin embargo, la zona A apenas rebaso los  $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$  y su concentración de  $\text{PM}_{2.5}$  estuvo dentro del

valor establecido. En contraste, las zonas B y C mostraron valores muy altos en ambos tipos de partículas, siendo los lugares con velocidades de viento más bajas, además de que la zona B (Santa Catarina) a pesar de que Santa Catarina es el municipio con menos habitantes de los cuatro municipios muestreados, existe una gran industrialización; detrás de la zona de muestreo se encuentra ubicada una pedrera, lo que puede contribuir a las altas concentraciones de partículas.

Nuevamente, en la tabla 9 se muestra que las zonas B y C presentan las mayores concentraciones de PM<sub>10</sub> y PM<sub>2.5</sub>, incumpliendo los límites establecidos por la norma, pero se ve un decremento significativo, pudiéndose atribuir al incremento de temperatura, cuyo efecto se discutirá más adelante.

Tabla 9. Concentraciones estimadas de PM<sub>10</sub> y PM<sub>2.5</sub> y parámetros climáticos en verano.

Zona de muestreo	PM <sub>10</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	PM <sub>2.5</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (km/h)
A	26.78	12.05	38	47	15,7
B	*66.3	29.84	37	37	16
C	*60.69	27.31	34	42	13
D	22.17	9.98	29	60	8

\* Valores que sobrepasa los límites establecidos por la NOM-025-SAA1-2014.

En la tabla 10 correspondiente a la estación de otoño, se muestra que por primera vez la zona B no muestra mayores concentraciones a las establecidas por la norma y también se puede observar que tiene las concentraciones más bajas, tanto de PM<sub>10</sub> como de PM<sub>2.5</sub>, pudiéndose atribuir a que esta zona es la que presenta la más alta velocidad de viento. La zona C sigue mostrándose con concentraciones mayores a las debidas, acompañada de la zona A. En la zona A se puede observar que la temperatura es la más baja de las cuatro zonas también presentando el porcentaje de humedad más alto, condiciones que propician la estabilidad de la capa límite atmosférica, impidiendo la dilución de contaminantes (Garret *et al.*, 1994).

Tabla 10. Concentraciones estimadas de PM<sub>10</sub> y PM<sub>2.5</sub> y parámetros climáticos en otoño.

Zona de muestreo	PM <sub>10</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	PM <sub>2.5</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (km/h)
A	*119.42	*53.74	21	79	9
B	29.50	13.27	26	60	13 <sup>+</sup>
C	*110.45	*49.70	31	21	5
D	39.37	17.72	23	10	3

\* Valores que sobrepasan los límites establecidos por la NOM-025-SSA1-2014.

<sup>+</sup> Valor tomado de un histórico climático (meteored.mx) diferente al SIMA, pues los datos no estaban disponibles.

Finalmente, en la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos en invierno, en donde tres de las cuatro zonas muestreadas

sobrepasaron los límites establecidos para los dos tipos de partículas, a excepción de la zona D que siempre se encontró dentro de los límites, sin embargo, se puede observar un aumento en las concentraciones, acercándose bastante a la concentración máxima establecida.

Tabla 11. Concentraciones estimadas de PM<sub>10</sub> y PM<sub>2.5</sub> y parámetros climáticos en invierno.

Zona de muestreo	PM <sub>10</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	PM <sub>2.5</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (km/h)
A	*80.17	*36.08	15	37	12
B	*92.19	*41.49	18	35	5
C	*71.09	*31.99	13	71	8
D	46.09	20.74	22	37	6

\* Valores que sobrepasan los límites establecidos por la NOM-025-SSA1-2014.

La temperatura, la velocidad del viento y la humedad relativa son factores determinantes para la capa límite atmosférica la cual es la porción de tropósfera más cercana a la superficie, jugando un papel fundamental en el transporte y difusión de contaminantes, así, la calidad de aire se ve afectada por la profundidad de esta capa (García *et al*, 2014).

A altas temperaturas la superficie sufre un fuerte calentamiento, produciendo inestabilidad térmica. La altura de la capa límite en condiciones inestables se encuentra generalmente por debajo de los dos a tres km, su cima está bien definida por la fuerte disminución de concentración de aerosoles a una altura de 1200 m (figura 13). Por el contrario, se tiene también la capa en condiciones estables, la cual se da a temperaturas bajas, en respuesta al enfriamiento de la superficie por emisiones de longitudes de onda largas al espacio. La turbulencia es mucho menor y en consecuencia la profundidad de la capa es no mayor a unos cientos de metros, por lo que la dilución de los contaminantes es muy pobre (Garret *et al.*, 1994).

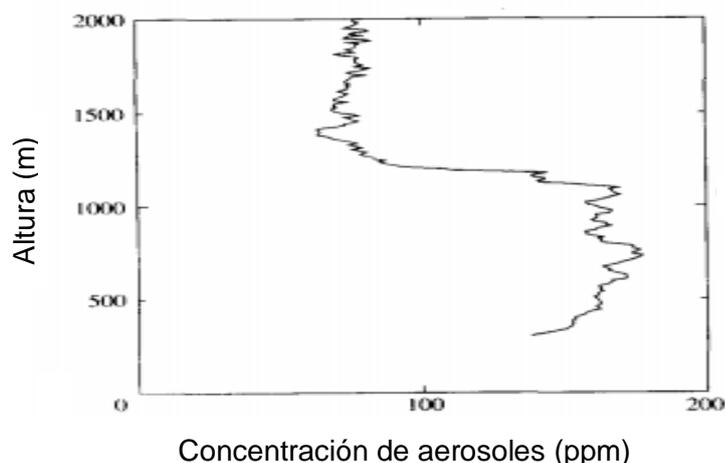


Figura 13. Concentración de aerosoles vs altura. Imagen reimpressa de: Review: the atmospheric boundary layer por Garret, J. R et al., 1994.

Con la información anterior se puede explicar por qué las concentraciones de contaminantes en invierno (condiciones estables) suelen ser mayores que en las estaciones con temperaturas cálidas (condiciones inestables). Entre más alta sea la temperatura y la velocidad del viento, es más fácil que ocurran turbulencias, las cuales hacen que las corrientes verticales suban, provocando que la capa límite adquiera más profundidad y altura, dando lugar a la mejor difusión y transporte de los contaminantes. Mientras tanto, con temperaturas frías, donde suele haber más humedad, las corrientes de aire verticales no suben lo suficiente y la capa límite suele tener altura y profundidad menores a cuando se presentan las condiciones inestables, por lo que los contaminantes se encuentran más cercanos a la superficie y más concentrados.

En la figura 14, se muestran los filtros de los muestreos en cada estación y cada época del año. En el recuadro blanco en la parte superior de cada columna de filtros se indica la estación del año y en dentro de cada filtro se indica la letra A, B, C o D para indicar en que zona fue realizado el muestreo.



Figura 14. Filtros (fibra de vidrio) después de muestreos de PST por época del año.

Para una mejor apreciación del comportamiento de las concentraciones de PST con respecto a parámetros meteorológicos, se presentan las figuras 15, 16 y 17. En las tres gráficas se representa en el eje horizontal la zona de muestreo (primera letra) y la estación del año (segunda letra), por ejemplo, la primera barra corresponde a la zona A en primavera (AP).

En la figura 15 se puede apreciar que en el pico más alto de temperatura (aproximadamente 38 °C) se encuentra una de las concentraciones más bajas de PST (50  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) y en la temperatura más baja (15 °C) se presenta una concentración de 157  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . La tendencia observada por lo general parece ser inversamente

proporcional a la temperatura, aunque la humedad y la velocidad del viento también juegan un papel muy importante en su dispersión, pero basado en los datos se puede observar que, en las temperaturas más bajas de cada zona, se muestran concentraciones de PST más altas de esa estación de muestreo.

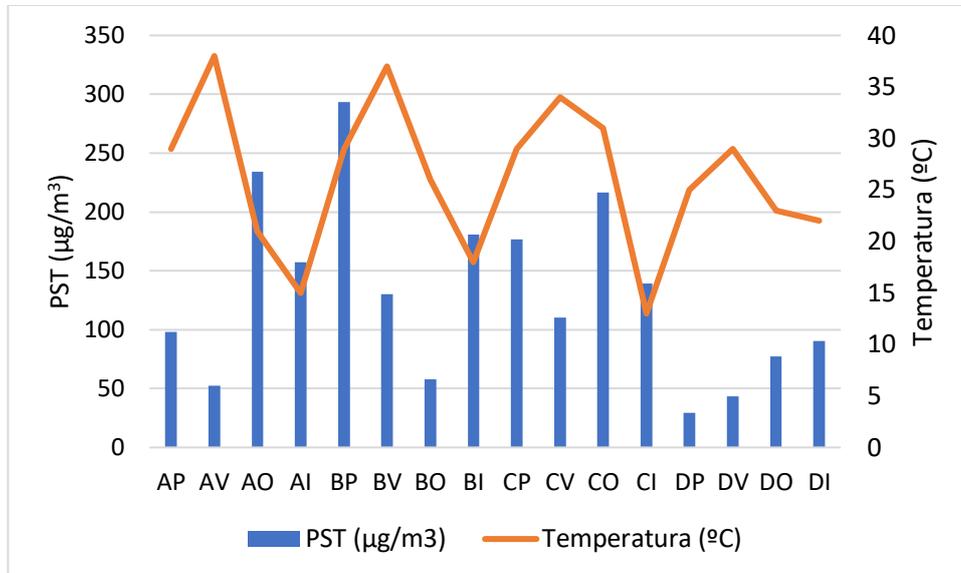


Figura 15. Concentración de PST vs temperatura por zona de muestreo en cada estación del año.

En la figura 16, no es tan notable la relación que existe entre las concentraciones de PST y el porcentaje de humedad relativa; un estudio realizado con enfoque en las PM<sub>10</sub> menciona que las condiciones favorables para la permanencia de estas partículas son en invierno, cuando la velocidad del viento es baja, el porcentaje de humedad relativa es alto y las temperaturas son bajas (Widziewicks *et al.*, 2018). Sin embargo, a diferencia de la temperatura, que afecta en tiempo real, la humedad no. Eso podría explicar el alto porcentaje de humedad que se aprecia en el pico correspondiente de primavera en la zona D, en donde se presentó lluvia el día de muestreo y días anteriores, lo que pudo haber limpiado el aire.

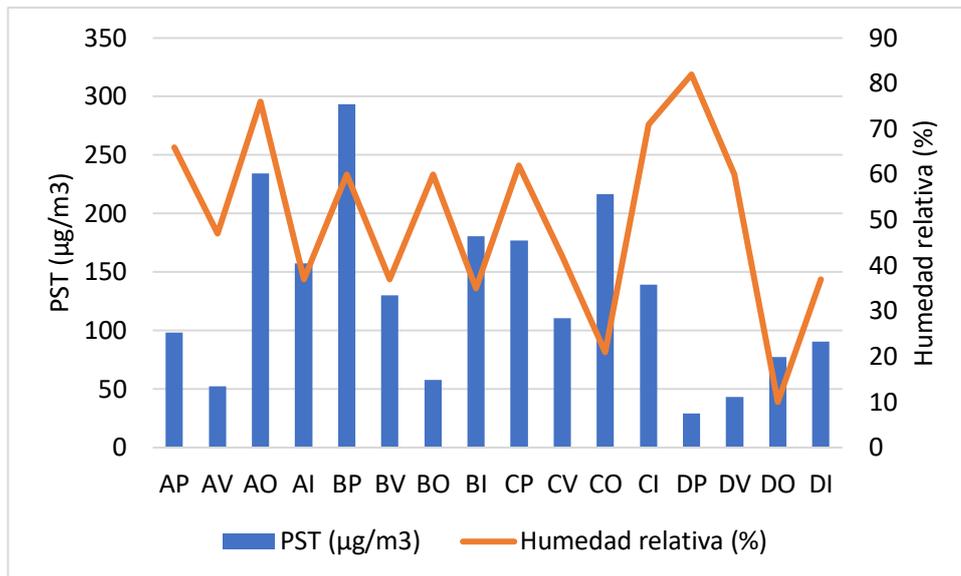


Figura 16. Concentración de PST y humedad relativa por zona de muestreo en cada estación del año.

Finalmente, en la figura 17, haciendo la comparación por zonas de muestreo, se observa que en donde se encuentran los picos de más bajas velocidades de aire, también se ubican las mayores concentraciones de PST. Lo anterior debido a las pocas corrientes de aire que favorezcan la dispersión de los contaminantes. Por ejemplo, en la zona A, verano fue la estación con menor velocidad del aire fue otoño y es ahí donde se presenta la más alta concentración de PST de las cuatro estaciones del año. En la zona B, primavera e invierno tuvieron las temperaturas más bajas y las concentraciones de PST más altas. En la zona C, otoño fue la estación con mayor concentración de PST y también presentó la menor temperatura. Finalmente, la zona D presenta su menor temperatura en la estación de otoño, sin embargo, la mayor concentración de PST se tiene en invierno, cuando se tuvo la temperatura más baja.

Desde el 2005, la NOM-025-SSA1-1993 "Salud ambiental. Criterios para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto a material particulado. Valor de concentración máxima de material particulado para partículas suspendidas totales PST, partículas menores de 10 micrómetros  $PM_{10}$  y partículas menores de 2.5 micrómetros  $PM_{2.5}$  en el aire ambiente como medida de protección a la salud de la población" quedó modificada estableciendo concentraciones máximas permisibles solo para  $PM_{10}$  y  $PM_{2.5}$ , pues son de mayor importancia por su pequeño tamaño y fácil inhalación. Antes de esta modificación, el promedio máximo permitido en 24 horas era de 210  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . En la figura 17 dicho límite se indica con una línea roja, sin embargo, cabe recalcar que este límite ya no es válido y se usa como referencia solamente.

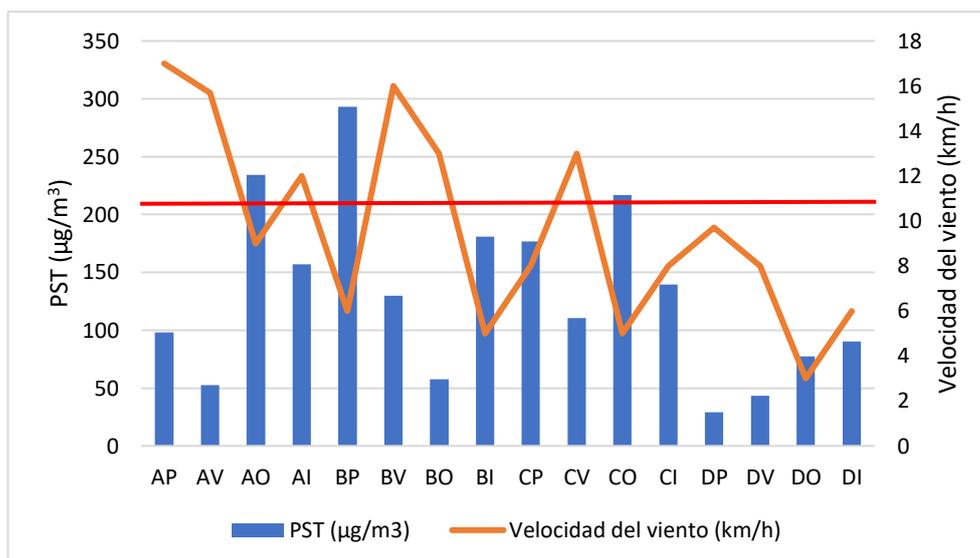


Figura 17. Concentración de PST vs velocidad del viento por zona de muestreo en cada estación del año.

Se puede observar en la figura 17 que la zona A, B y C excedieron la concentración máxima que permitía la norma antes del año 2005, la zona A y C en otoño y la zona B en primavera. Debido a que actualmente solo son válidas las concentraciones de PM<sub>10</sub> y PM<sub>2.5</sub>, se establecen como zonas críticas la zona B y C, pues, la zona B sobrepasó el límite establecido en tres de las cuatro estaciones del año y la zona C incumplió los límites en las cuatro estaciones.

### 5.1.2 Bioaerosoles en exteriores

A continuación, se presenta una tabla por cada zona de muestreo, mostrando los resultados obtenidos en cada una de las estaciones del año.

En la tabla 12 se muestran los resultados de los muestreos realizados en la zona A. En las estaciones de verano e invierno no se obtuvieron UFC; en verano pudo deberse a la baja concentración de PST, además de presentar la velocidad de viento más alta, la cual favorece la dispersión de contaminantes en el aire. En cambio, en invierno, la cantidad de PST es aproximadamente tres veces mayor que en verano y aun así no se presentan bacterias; en algunos estudios sobre la variabilidad estacional de la concentración de bacterias en el aire en ambientes urbanos, acuerdan que la concentración bacteriana es mayor en periodos donde las temperaturas son altas (Genitsari *et al.*, 2017). En cambio, el crecimiento de hongos se ve favorecido por bajas temperaturas y el alto porcentaje de humedad relativa (Rajasekar *et al.*, 2011).

Es posible apreciar, que primavera es la única estación presenta nivel de calidad regular y es el que cuenta con más UFC de bacterias.

Tabla 12. UFC obtenidas de los filtros de muestreo de exteriores en la zona A.

Zona A	Filtros <sup>AN</sup> (UFC)	Filtros <sup>PDA</sup> (UFC)	PST ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (km/h)
<sup>R</sup> Primavera	17	0	98,4	29	66	17
<sup>B</sup> Verano	0	0	52.5	38	47	16
<sup>B</sup> Otoño	1	0	234.15	21	76	9
<sup>B</sup> Invierno	0	3	157.2	15	37	12

<sup>R</sup> Indica calidad de aire regular de acuerdo con el SIMA

<sup>B</sup> Indica calidad de aire buena de acuerdo con el SIMA

<sup>AN</sup> Agar utilizado para el crecimiento de bacterias (agar nutritivo)

<sup>PDA</sup> Agar utilizado para el crecimiento de hongos (agar dextrosa papa)

En la tabla 13, correspondiente a la zona B se señala que, en los días de muestreo de cada estación del año, hubo buena calidad de aire (según los criterios mencionados en la sección 2.1.2). Las únicas estaciones que presentaron UFC de bacterias fueron primavera e invierno, las cuales fueron las estaciones con mayor concentración de PST y bajas velocidades de viento. Según Fan *et al.* (2019) la concentración de bacterias depende más de la cantidad de material particulado en el ambiente, mientras que los parámetros meteorológicos afectan en menor cantidad, sin embargo, no se deja de lado que estos últimos siguen afectando, aunque sea un poco las concentraciones bacterianas. Las UFC de hongos se obtuvieron también en primavera e invierno, con una mayor cantidad en invierno, donde el porcentaje de humedad relativa no es alta, sin embargo, la temperatura es menor que en primavera. A pesar de que la concentración de PST fue mayor en primavera, la temperatura era mayor que en invierno, por lo que en ésta última estación, el crecimiento se vio favorecido por la baja temperatura (se ha establecido que la temperatura óptima de crecimiento de los hongos es de entre 25 y 30  $^{\circ}\text{C}$ ) (Pietikäinen *et al.*, 2005) y la alta concentración de PST.

Tabla 13. UFC obtenidas de los filtros de muestreo de exteriores en la zona B.

Zona B	Filtros <sup>AN</sup> (UFC)	Filtros <sup>PDA</sup> (UFC)	PST ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (km/h)
<sup>B</sup> Primavera	2	1	293.31	29	60	6
<sup>B</sup> Verano	0	0	130 <sup>+</sup>	37	37	16
<sup>B</sup> Otoño	0	0	57.84	26	60	0
<sup>B</sup> Invierno	2	3	180.77	18	35	5

<sup>B</sup> Indica calidad buena calidad de aire de acuerdo con criterios del SIMA

<sup>AN</sup> Agar utilizado para el crecimiento de bacterias (agar nutritivo)

<sup>PDA</sup> Agar utilizado para el crecimiento de hongos (agar dextrosa papa)

<sup>+</sup> Dato estimado con las concentraciones de PM<sub>10</sub> registradas por el SIMA

En la zona C (tabla 14) hubo calidad de aire regular en primavera, siendo la estación con más UFC de bacterias mostrando, además, una de las mayores concentraciones de PST. En invierno solamente se presentó una UFC, la concentración de PST es menor que la de

primavera y la calidad de aire fue buena, además mostró parámetros meteorológicos como la temperatura más baja y el porcentaje de humedad más alto, lo que probablemente propició que se presentara la mayor cantidad de UFC de hongos que en las otras estaciones del año (Rajasekar *et al*, 2011).

Tabla 14. UFC obtenidas de los filtros de muestreo de exteriores en la zona C.

Zona C	Filtros <sup>AN</sup> (UFC)	Filtros <sup>PDA</sup> (UFC)	PST ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (km/h)
<sup>R</sup> Primavera	7	1	176.8	29	62	8
<sup>B</sup> Verano	0	0	110.41 <sup>+</sup>	34	42	13
<sup>B</sup> Otoño	0	1	216.57	31	21	5
<sup>B</sup> Invierno	1	2	139.36	13	71	8

<sup>R</sup> Indica calidad de aire regular de acuerdo con el SIMA

<sup>B</sup> Indica calidad de aire buena de acuerdo con el SIMA

<sup>AN</sup> Agar utilizado para el crecimiento de bacterias (agar nutritivo)

<sup>PDA</sup> Agar utilizado para el crecimiento de hongos (agar dextrosa papa)

<sup>+</sup> Dato estimado con las concentraciones de  $\text{PM}_{10}$  registradas por el SIMA

En la zona D (tabla 15) el nivel de calidad de aire fue regular en dos de las estaciones (primavera y verano), siendo primavera la que presentó mayor cantidad de UFC de bacterias, en otoño solo se obtuvo una UFC. Con respecto a las UFC de hongos, solo se obtuvieron en invierno, nuevamente cuando se presentó la temperatura más baja.

Tabla 15. UFC obtenidas de los filtros de muestreo de exteriores en la zona D.

Zona D	Filtros <sup>AN</sup> (UFC)	Filtros <sup>PDA</sup> (UFC)	PST ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (km/h)
<sup>R</sup> Primavera	14	0	29.2	25	82	9,7
<sup>R</sup> Verano	0	0	43.47	29	60	8
<sup>B</sup> Otoño	1	0	77.2	23	10	3
<sup>B</sup> Invierno	0	5	90.37	22	37	6

<sup>R</sup> Indica calidad de aire regular de acuerdo con el SIMA

<sup>B</sup> Indica calidad de aire buena de acuerdo con el SIMA

<sup>AN</sup> Agar utilizado para el crecimiento de bacterias (agar nutritivo)

<sup>PDA</sup> Agar utilizado para el crecimiento de hongos (agar dextrosa papa)

Las bacterias obtenidas del exterior fueron en su mayoría cocos Gram +. La mayoría de los hongos obtenidos en el ambiente exterior, fueron del género *Aspergillus*.

### 5.1.3 Muestreos en interiores.

A continuación, se presenta la tabla 16, que muestra la cantidad de UFC obtenidas en cada una de las zonas de muestreo y en cada época del año.

Tabla 16. Cantidad de UFC bacterianas obtenidas en cada zona de muestreo y estación del año 2019-2020.

Estación del año	UFC bacterias			
	A	B	C	D
Primavera	1	40 <sup>+</sup>	1	1
Verano	28 <sup>+</sup>	1	1	3
Otoño	87 <sup>+</sup>	84	1	3
Invierno	35 <sup>+</sup>	17	3	35 <sup>+</sup>

\* Indica los valores más altos de UFC en cada estación del año.

En la tabla anterior se puede apreciar que las mayores cantidades de UFC se obtuvieron en la zona de muestreo A. Es difícil catalogarla como zona crítica, ya que no existen normas que especifiquen la cantidad de UFC por unidad de tiempo, sin embargo, es notable que las cantidades son mucho mayores a las obtenidas en las zonas C y D (con excepción de invierno, en donde la zona A y zona D tuvieron la misma cantidad de UFC). Comparado con la zona B la diferencia es menor, pero no existe tanta diferencia como con las otras dos zonas restantes; estos dos lugares de muestreo son del mismo giro (salones de clases), la diferencia de cantidad de microorganismos puede ser debido a la cantidad de alumnos, la zona A cuenta con aproximadamente 40 alumnos en el salón, pero el espacio de los salones es más reducido (6 x 5 m aproximadamente) que en la zona B (8 x 7 m, con una cantidad de alumnos entre 45 y 55) además, en la zona A las ventanas raramente se abren, aparte, los salones se encuentran dentro de una edificación, por lo que las ventanas dan a instalaciones interiores como se muestra en la figura 18 y cada salón cuenta con sistema de climatización (minisplit). Por el contrario, en la zona B se abren las ventanas con mayor frecuencia y hay intercambio de aire interior y exterior, logrando una mejor dilución de contaminantes.



Figura 18. A la izquierda se muestra la distribución de salones en la zona A dentro de un edificio. En la figura de la derecha se muestra una ventana de la zona B.

En la tabla 17 se muestra que las UFC de hongos presentaron una tendencia similar a las UFC bacterianas, las mayores cantidades se dieron en la zona A en las estaciones de otoño e invierno, lo que va de acuerdo con lo descrito en las secciones anteriores.

Tabla 17. Cantidad de UFC (de hongos) obtenidas en cada zona de muestreo y estación del año 2019-2020.

UFC hongos				
Estación	A	B	C	D
Primavera	1	1	1	2 <sup>+</sup>
Verano	0	0	1 <sup>+</sup>	1 <sup>+</sup>
Otoño	23 <sup>+</sup>	6	2	0
Invierno	78 <sup>+</sup>	13	5	0

<sup>+</sup> Indica los valores más altos de UFC en cada estación del año.

A continuación, se muestra una tabla por cada zona, para presentar los datos meteorológicos de los días de muestreo.

La tabla 18 muestra los resultados en la zona A, donde la mayor cantidad de bacterias se obtuvo en otoño, estación que también presentó mayor concentración de PST, cumpliendo lo que Fan estableció en su estudio, que el material particulado influye más en la cantidad de bacterias que las condiciones climáticas (Fan *et al*, 2019). En contraste, los hongos suelen crecer más donde hay menores temperaturas, como lo fue en la estación de invierno. También cabe resaltar el hecho de que tanto la mayor cantidad de hongos como de bacterias se dieron en los días con velocidad de viento más bajas.

Tabla 18. UFC en la zona A durante las cuatro estaciones del año 2019-2020.

Zona A	UFC bacterias	UFC hongos	PST ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (km/h)
Primavera	1	1	98.14	29	66	17
Verano	28	0	52.5	38	47	15,7
Otoño	87 <sup>+</sup>	23	234.15 <sup>*</sup>	21	76	9
Invierno	35	78 <sup>+</sup>	157.2	17	57	10

<sup>+</sup> Indica los valores más altos de UFC en cada estación del año.

<sup>\*</sup> Indica la concentración de PST más alta

En la figura 19 se muestra una imagen al microscopio de uno de los hongos obtenidos de la zona A. Dichas esporas son correspondientes al género *Alternaria*, el cual está implicado en contribuir a reacciones alérgicas, rinitis en personas que pasan su tiempo en ambientes interiores (Fung *et al*, 2000). Macroscópicamente, el cultivo de este género se aprecia como una colonia que no presenta relieve, es decir, es plana, algodonosa e inicialmente de color gris, tornándose verde oliva al paso de los días. Para la observación microscópica la tinción no es necesaria, pues las esporas muestran un color verde intenso o café. Las esporas de este género son conidios pigmentados de color verde y suelen estar separados uno del otro, no en cadena. Son ovoides y septados tanto longitudinal y transversalmente (Rivas *et al.*, 2014).

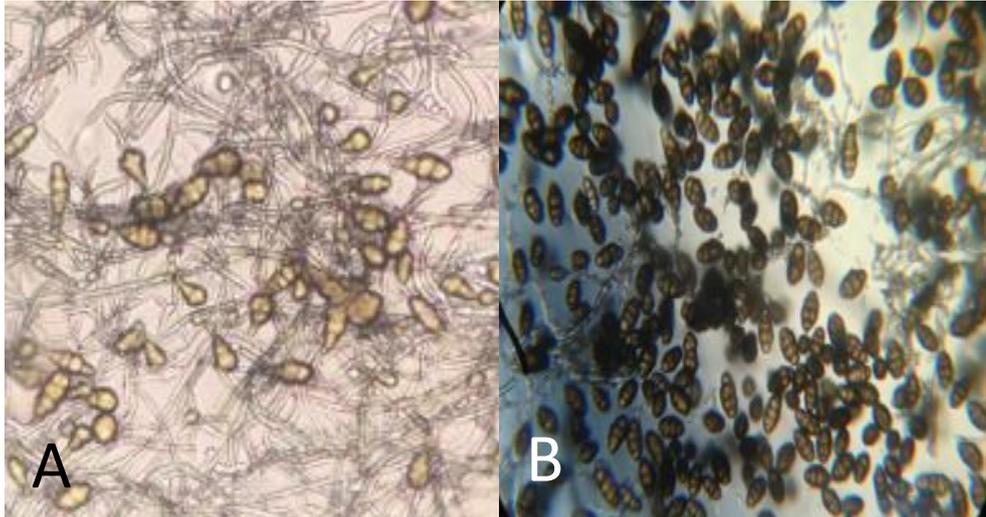


Figura 19. Observación microscópica sin tinción de *Alternaria* sp. A) Imagen tomada al microscopio óptico (40x) de muestra de invierno, tomada de la zona A. B) Observación microscópica de cultivo (40x), Lab MTU; Imagen tomada de Revista Chilena de Infectología (2014).

En 2016, se realizó un estudio en Nuevo León, para determinar la prevalencia de sensibilización a hongos en pacientes con alergias respiratorias mediante pruebas cutáneas. *Alternaria alternata* mostró los siguientes porcentajes: 5.2% en rinitis alérgica, 6.5% en asma y 7.2% en rinitis alérgica + asma (González *et al.*, 2016).

En la tabla 19 correspondiente a la zona B la máxima cantidad de bacterias se encuentra en la estación de otoño y la mayor cantidad de hongos en invierno. Durante este muestreo la máxima cantidad de bacterias no coincidió con la máxima concentración de PST, pero sí con la mínima velocidad de viento, condición que causa una baja dispersión de contaminantes. La máxima cantidad de hongos se volvió a presentar en invierno, estación con la temperatura más baja, a pesar de que la humedad era la menor que se había presentado durante los muestreos.

Tabla 19. UFC en la zona B durante las cuatro estaciones del año.

Zona B	UFC bacterias	UFC hongos	PST ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (km/h)
Primavera	40	1	293.31*	29	60	6
Verano	1	0	130*	37	37	16
Otoño	84*	6	57.84	26	60	0
Invierno	17	13*	180.77	24	18	8

\* Indica los valores más altos de UFC y PST en cada estación del año.

+ Dato estimado con las concentraciones de  $\text{PM}_{10}$  registradas por el SIMA

En la zona B se tuvo la presencia de *Aspergillus niger* (figura 20) en las estaciones de primavera y verano. En la figura A se aprecia el crecimiento en PDA. Las colonias son granulares y de color negro, aunque al inicio de su crecimiento el color de estas es blanco. Al igual que con el género *Alternaria*, no es necesario realizar tinción para la

observación de sus características microscópicas (20 B), pues el conidióforo es grueso, largo y aunque carecen de color, sus paredes se ven muy claras al microscopio; los conidios, son cafés y circulares, por lo que también tienen mucha visibilidad (Akhtar *et al.*, 2014). Este hongo al igual que *A. fumigatus* y *A. flavus* está implicado en alergias e irritaciones previamente mencionadas (Klich, 2009).

Además, la zona B fue la única en la que se obtuvieron levaduras, en las estaciones de primavera y verano (figura 21).

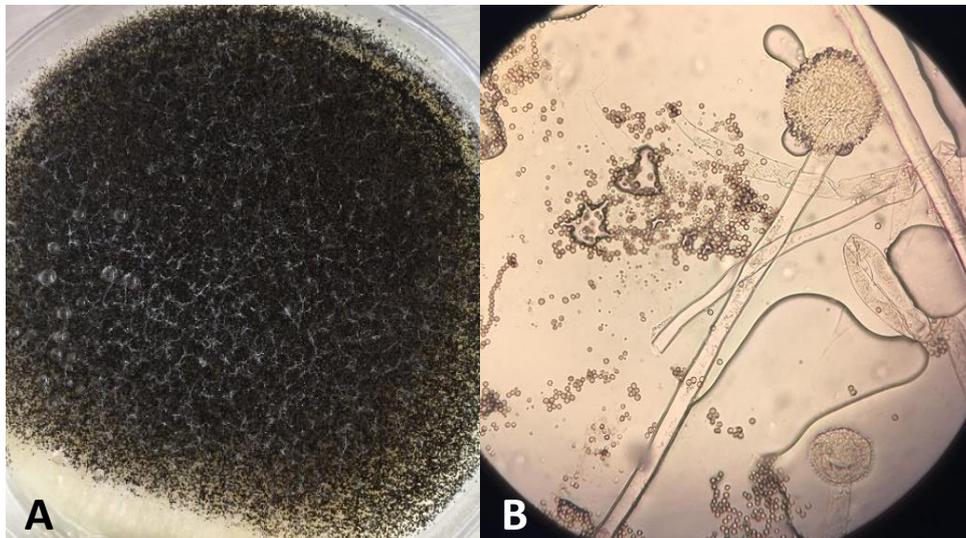


Figura 20. *Aspergillus niger* aislado en la zona B. A) Crecimiento en PDA B) Observación al microscopio (40x).

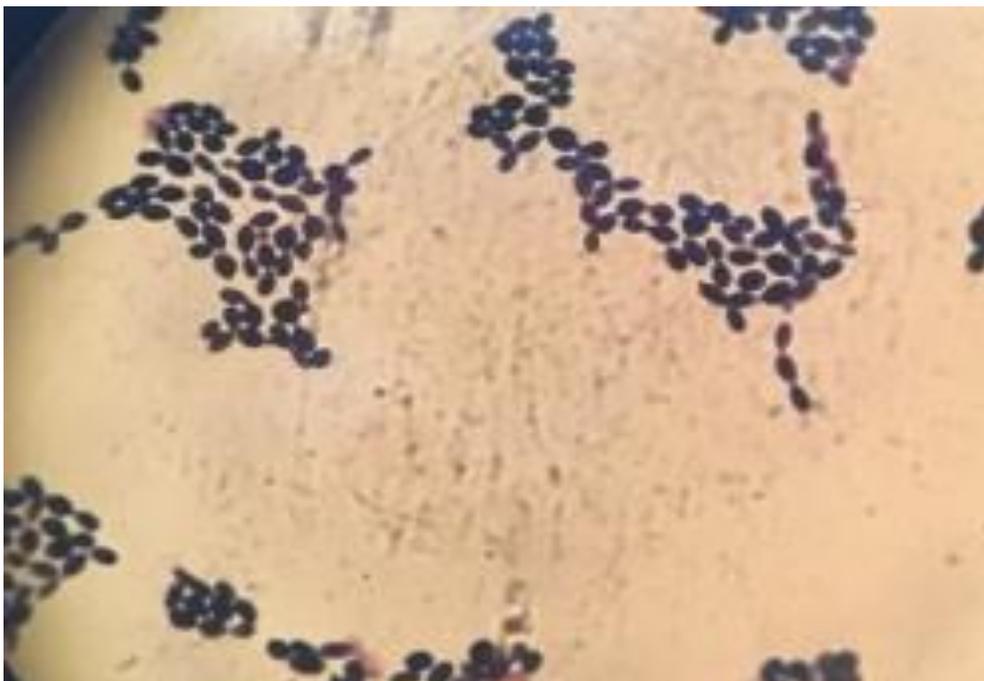


Figura 21. Levaduras de los muestreos de primavera y verano respectivamente aisladas en la zona B.

La tabla 20 a diferencia de las dos tablas anteriores, muestra que las concentraciones tanto de hongos como de bacterias se mantuvieron uniformes durante las estaciones en la zona C, a excepción de invierno, donde se aprecia una pequeña diferencia en el número de colonias, presentándose en mayor cantidad que en las estaciones pasadas. Nuevamente las condiciones de temperatura y humedad (la más baja y la más alta respectivamente) favorecieron la mayor presencia de hongos en esta estación.

Tabla 20. UFC en la zona C durante las cuatro estaciones del año 2019-2020.

Zona C	UFC bacteria	UFC hongos	PST ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (km/h)
Primavera	1	1	176,8	29	62	8
Verano	1	1	110,41 <sup>+</sup>	34	42	13
Otoño	1	2	216,57 <sup>*</sup>	31	21	5
Invierno	3 <sup>*</sup>	5 <sup>*</sup>	139,36	19	73	8

\* Indica los valores más altos de UFC en cada estación del año.

<sup>+</sup> Dato estimado con las concentraciones de PM<sub>10</sub> registradas por el SIMA

En la figura 22 A se muestra una micrografía de uno de los hongos obtenidos en la zona C comparada con una imagen tomada de un trabajo realizado en España, donde se establece que pertenece al género *Cladosporium* (figura 22 B). Las colonias que se presentaron eran redondas, aterciopeladas y de color verde oscuro. Ambos microorganismos presentan hifas septadas y clamidosporas al observar sus características microscópicas. Es de suma importancia mencionar que la zona C es una hemeroteca y *Cladosporium* sp es un hongo de común crecimiento en librerías y archivos, siendo responsable de producir daños y manchas en papeles (Reis-Menezes *et al*, 2011).

*Cladosporium* sp es un hongo oportunista causante de infecciones cutáneas, pulmonares y en el sistema nervioso central en pacientes inmunodeprimidos principalmente (Garnica-Escamilla *et al*, 2012).

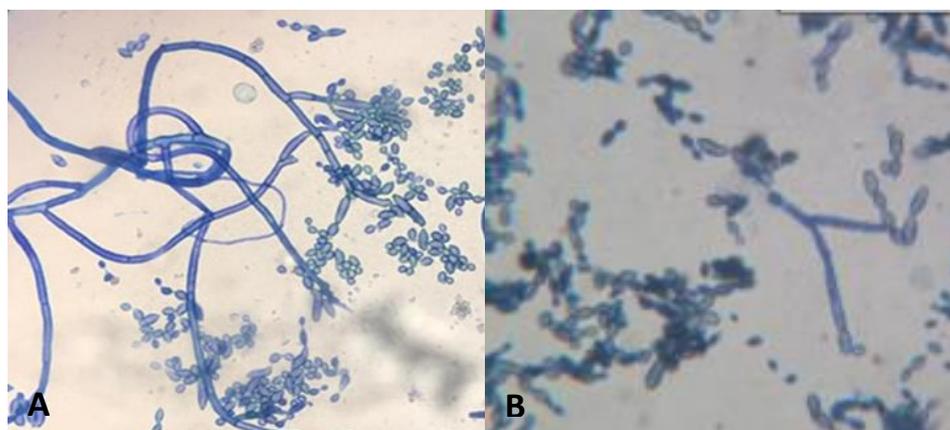


Figura 22. A). Foto tomada de hongo obtenido en los muestreos en la zona C (40X)  
B) *Cladosporium* sp. Micrografía tomada por Lamolda Garcia, C (2016).

Entre los hongos que se aislaron en la zona C también están el género *Aspergillus*, como lo es *Aspergillus niger* y *Alternaria* sp, que se muestran en la figura 23. Una enfermedad poco común pero descrita en hallazgos clínicos es la Aspergilosis Broncopulmonar Alérgica (ABPA), la cual en diagnósticos tardíos o la falta de tratamiento puede ocasionar fibrosis, bronquiectasia con producción crónica de esputo, y asma cada vez más severa con pérdida de la función pulmonar (Greenberger *et al.*, 2014).

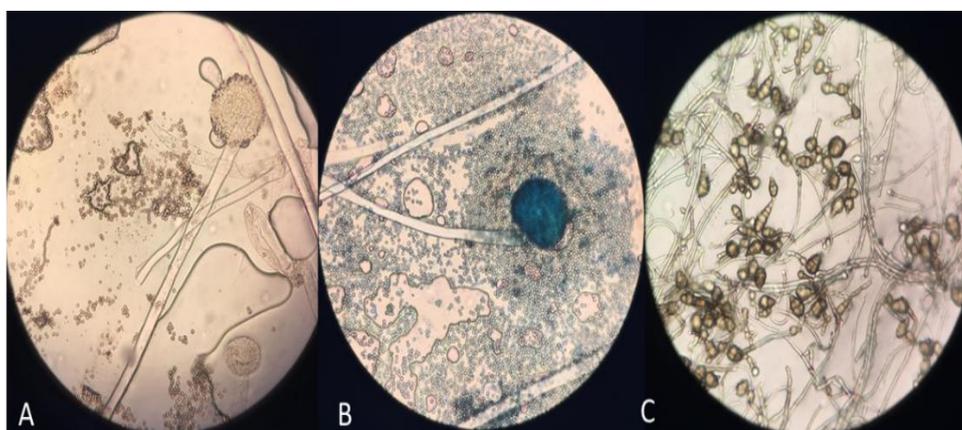


Figura 23. A. *Aspergillus niger*. B. *Aspergillus* sp C. *Alternaria* sp. (40X)

La zona D, que en general resultó con los valores más bajos de PST entre las diferentes zonas, presentó un aumento en las UFC bacterianas en la estación de invierno, coincidiendo con los más altos valores de PST registrados (Fan *et al*, 2019), por otra parte, la mayor cantidad de hongos se presentaron en la estación de primavera, la cual coincidió con el mayor porcentaje de humedad y una de las temperaturas más bajas.

Tabla 21. UFC en la zona D durante las cuatro estaciones del año 2019-2020.

Zona D	UFC bacteria	UFC hongos	PST ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (km/h)
Primavera	1	2*	29,2	25	82	9,7
Verano	3	1	43,47	29	60	8
Otoño	3	0	77,2	23	10	3
Invierno	35*	0	90,37*	22	42	14

\* Indica los valores más altos de UFC en cada estación del año.

La identificación por medio de observación de características macroscópicas y microscópicas se realizó principalmente en hongos, ya que su tamaño facilita su distinción por medio de morfología. Para el caso de bacterias se realizó identificación por medio de secuenciación, para muestras de verano e invierno, resultados que se muestran en la sección 5.2. Cabe mencionar que sólo se realizó secuenciación de bacterias y especialmente sólo de esas dos estaciones por cuestiones de tiempo y disponibilidad de equipo.

Durante el año de muestreo, se aislaron en total 52 colonias diferentes, presentando morfología de cocos y bacilos.

En la figura 24, se muestra la distribución de las 52 colonias aisladas de acuerdo con la estación del año en el total de los sitios de muestreo. Los cocos Gram (+) fueron los que mostraron predominancia en las cuatro estaciones del año. Además, se presentan levaduras, las cuales estuvieron presentes solamente en verano e invierno.

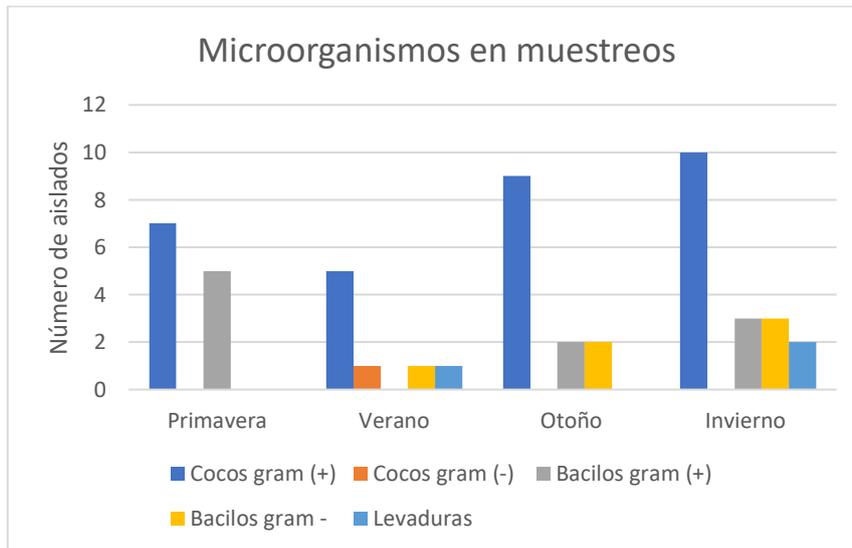


Figura 24. Distribución de microorganismos en las diferentes estaciones del año.

En la figura 25 se muestra que la zona B fue la que presentó mayor cantidad de cocos Gram (+), en la zona A se aislaron más bacilos Gram (+) y Gram (-).

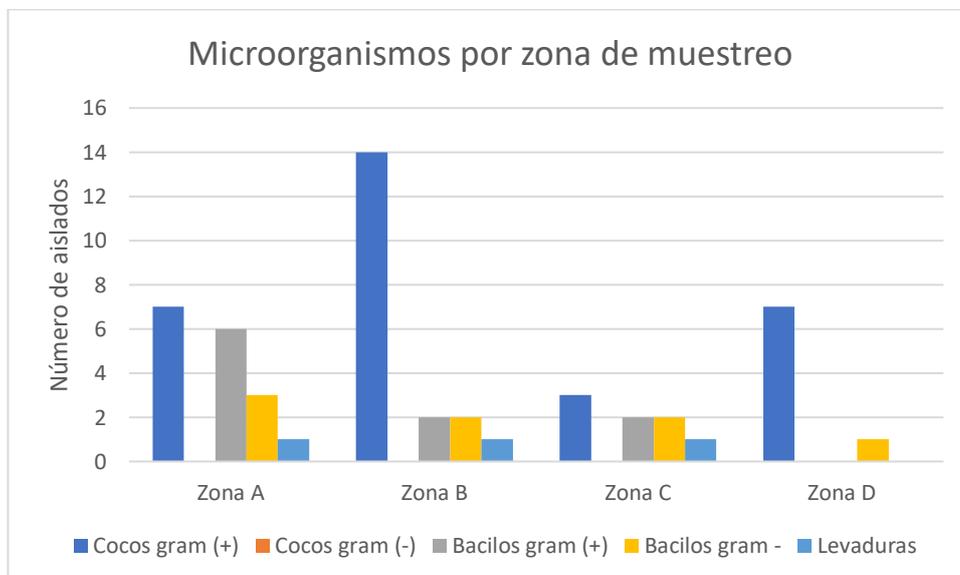


Figura 25. Distribución de microorganismos por zona de muestreo.

Finalmente se presenta en la figura 26 los porcentajes de cada una de las clasificaciones anteriores, mostrando que los microorganismos

más frecuentes son los cocos Gram (+) y los menos frecuentes los cocos Gram (-) de los cuales no se pudo obtener ninguna cepa a lo largo de los muestreos.

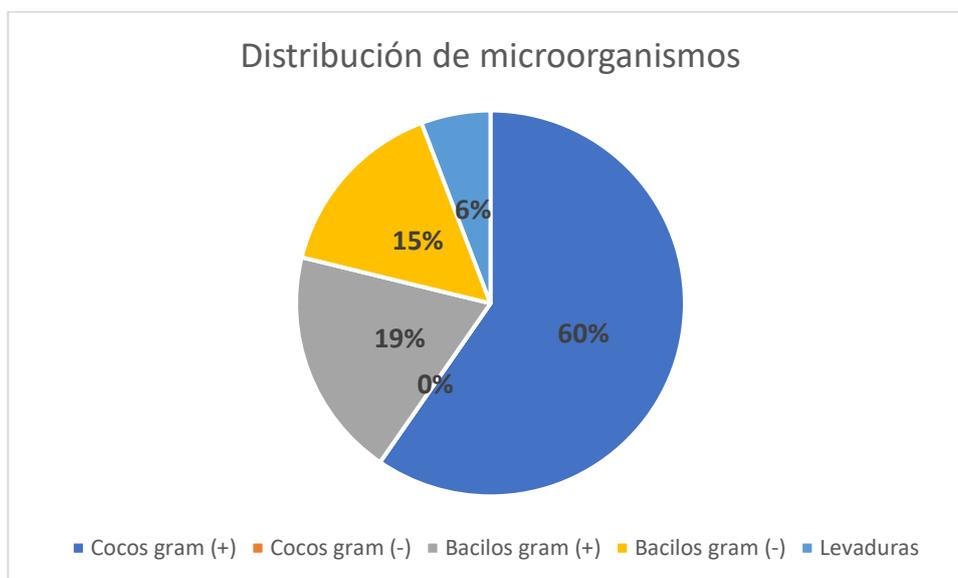


Figura 26. Porcentajes de aislados de los diferentes microorganismos.

Cabe mencionar que los bacilos Gram (-) son microorganismos oportunistas y cuando se contraen causan enfermedades graves, por ejemplo, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp, las cuales son asociadas a infecciones nosocomiales (Larrondo, 2010). Por otra parte, las infecciones por cocos Gram (+) no suelen ser tan graves, sin embargo su tratamiento se complica debido a la gran resistencia a antibióticos que presentan estos microorganismos como lo son *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus* spp (Rincón et al, 2014).

## 5.2 Caracterización molecular.

### 5.2.1 Extracción de ADN.

Se contaba con 22 muestras para las cuales realizarles extracción de ADN, sin embargo, solamente se eligieron las 14 muestras que no se contaminaron en el transporte al laboratorio de Biotecnología IV (Ubicado en la UACH, en la ciudad de Chihuahua, Chih.) las cuales se pudieron reactivar.

En la figura 27 se muestra una imagen de uno de los geles de electroforesis para verificar la presencia y calidad de ADN bacteriano extraído, se puede apreciar la diferencia entre M3 y las muestras restantes (M1, M2, M6 y M7). En presencia de material genético se pueden observar dos bandas claras, la primera banda es el pocillo donde la muestra fue depositada y la segunda es hasta donde avanzó el material genético, indicando que no todo el material genético depositado en el gel de agarosa avanzó.

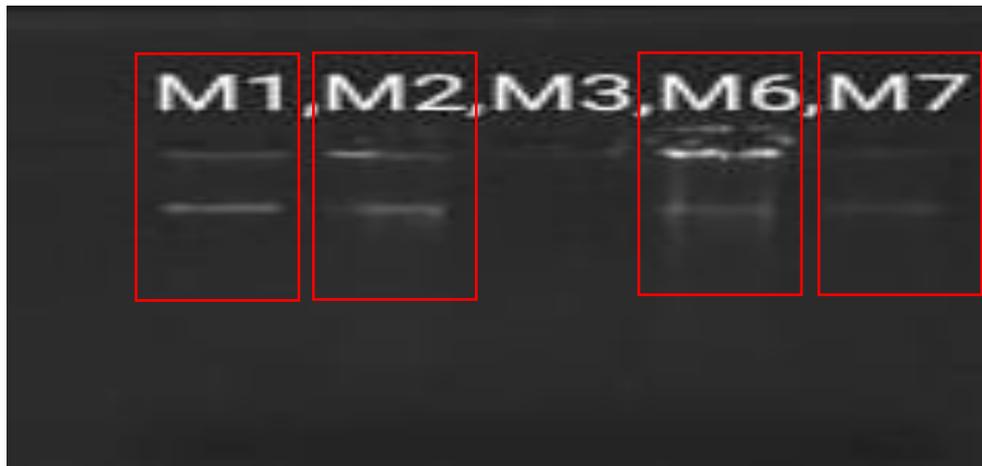


Figura 27. Gel de agarosa empleado en electroforesis. Las bandas encerradas en el recuadro rojo muestran la presencia de ADN no fragmentado y de buena calidad.

### 5.2.2 Amplificación de ADN por PCR.

De las 14 extracciones exitosas, se lograron amplificar 12, pues para dos de las muestras el método indicado en el kit de extracción no funcionó. En la figura 28 se observa el gel sometido a electroforesis para comprobar la amplificación del material genético, ésta vez las bandas se ubican en diferente posición debido al tamaño de la cadena (100 pb), la cual se confirmó con el uso de un marcador. Solamente las etiquetas que inician con la letra M seguida de un número corresponden a este trabajo y las etiquetas de A1 y A2 corresponden al agua que se usó para los mixes, verificando que no estuviera contaminada.

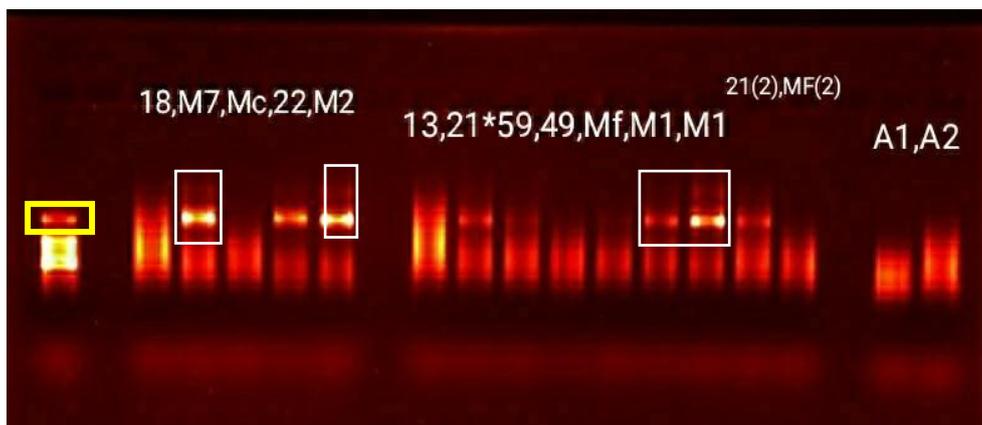


Figura 28. Electroforesis de la amplificación obtenida. Las bandas encerradas en el recuadro blanco muestran que se logró amplificar el fragmento correspondiente (100 pb). La primera banda encerrada en el recuadro amarillo corresponde al marcador de 100 pb.

Las secuencias obtenidas fueron analizadas en BLAST bajo el criterio de Roselló-Mora y Arman (2001) quienes establecen que microorganismos que tienen más de un 70% de similitud comparten un 95% de su ADN. Con un 95% de similitud pertenecen al mismo

género y pertenecen a la misma especie si se cumple con un 97% o más de similitud.

A continuación, se presentan los árboles filogenéticos de las cepas RGQ1, RGQ2 y RGQ13, RGQ6, RGQ11, RGQ9, RGQ10 y RGQ14 de la figura 30 a la figura 35.

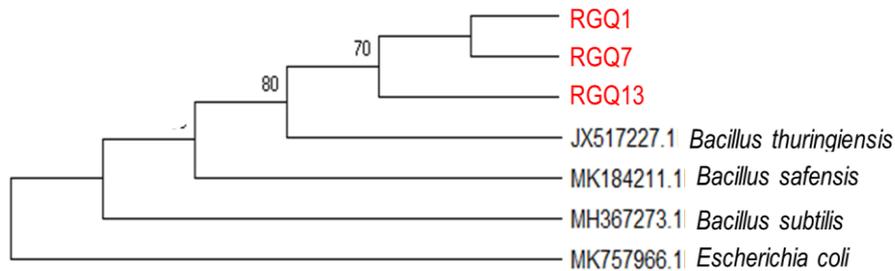


Figura 29. Posición filogenética de las muestras 1, 7 y 13 obtenidas de muestreos de aire. Análisis basado en las secuencias parciales del gen 16S rRNA con 500 aleatorizaciones tipo Bootstrap para máxima verosimilitud usando el modelo de Tamura-Nei para el género *Bacillus*.

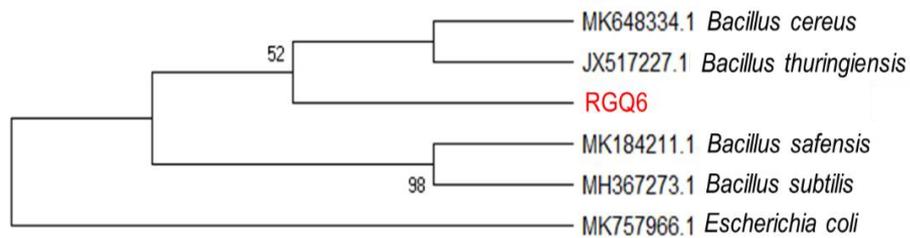


Figura 30. Posición filogenética de la muestra 6 obtenida de muestreos de aire. Análisis basado en las secuencias parciales del gen 16S rRNA con 500 aleatorizaciones tipo Bootstrap para máxima verosimilitud usando el modelo de Hasewaga-Kishino-Yano para el género *Bacillus*.

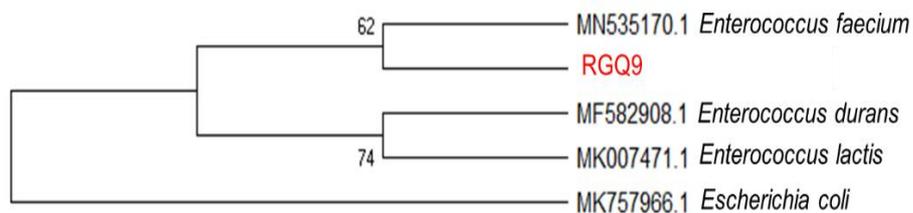


Figura 31. Posición filogenética de la muestra 9 obtenida de muestreos de aire. Análisis basado en las secuencias parciales del gen 16S rRNA con 500 aleatorizaciones tipo Bootstrap para máxima verosimilitud usando el modelo de Hasewaga-Kishino-Yano para el género *Enterococcus*.

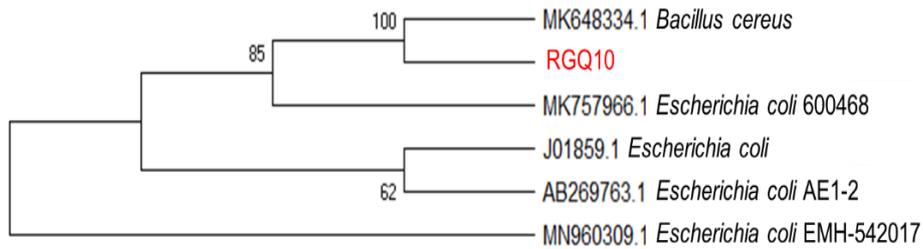


Figura 32. Posición filogenética de la muestra 10 obtenida de muestreos de aire. Análisis basado en las secuencias parciales del gen 16S rRNA con 1000 aleatorizaciones tipo Bootstrap para máxima verosimilitud usando el modelo de Tamura de 3 parámetros para cepas *Escherichia coli*.

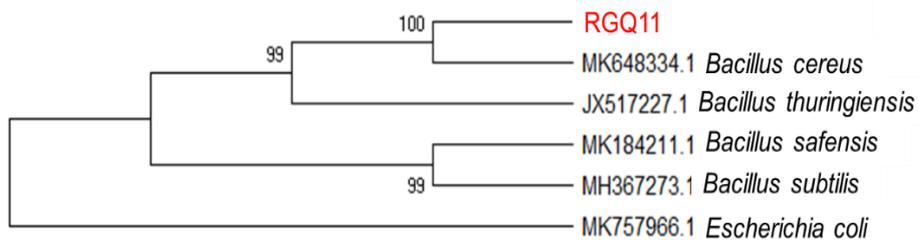


Figura 33. Posición filogenética de la muestra 11 obtenida de muestreos de aire. Análisis basado en las secuencias parciales del gen 16S rRNA con 500 aleatorizaciones tipo Bootstrap para máxima verosimilitud usando el modelo de Hasewaga-Kishino-Yano para el género *Bacillus*.

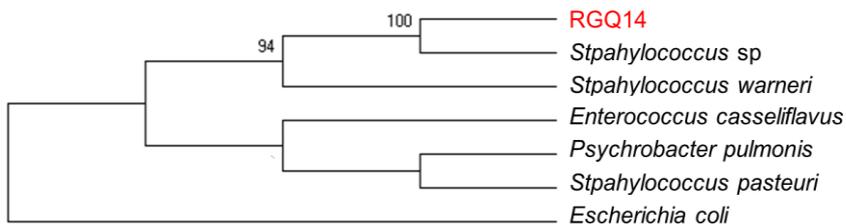


Figura 34. Posición filogenética de la muestra 14 obtenida de muestreos de aire. Análisis basado en las secuencias parciales del gen 16S rRNA con 500 aleatorizaciones tipo Bootstrap para máxima verosimilitud usando el modelo de Kimura de dos parámetros para varios géneros.

En la tabla 22 se muestran los porcentajes de similitud que las secuencias de las muestras tuvieron con las secuencias almacenadas en BLAST, además de especificar su identificación a nivel género y/o especie, estación del año en que fueron obtenidas y zona de muestreo.

Tabla 22. Microorganismos identificados por secuenciación.

Muestra	Microorganismo	%Similitud en BLAST	Época del año	Zona de muestreo
RGQ1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	97	Primavera	B
RGQ6	<i>Bacillus</i> sp	95	Primavera	B
RGQ7	<i>Bacillus thuringiensis</i>	97	Primavera	B
RGQ9	<i>Enterococcus faecium</i>	97	Primavera	B
RGQ10	<i>Bacillus cereus</i>	97	Primavera	B
RGQ11	<i>Bacillus cereus</i>	96	Primavera	B
RGQ13	<i>Bacillus thuringiensis</i>	97	Verano	A
RGQ14	<i>Staphylococcus</i> sp	98	Verano	D

El género predominante fue *Bacillus*, siendo *Bacillus thuringiensis* el microorganismo que apareció en tres de las muestras secuenciadas. Luego se posiciona *Bacillus cereus* que apareció en dos de las muestras.

De acuerdo con la información brindada por el médico alergólogo del grupo de investigación del presente trabajo, los géneros *Bacillus* sp y *Enterococcus* sp no están ligados a enfermedades respiratorias, sin embargo, estas bacterias forman parte de la microbiota intestinal o respiratoria, y en conjunto juegan un rol muy importante en la homeostasis y cualquier alteración por uso de antibióticos o algún otro factor condiciona el desarrollo de enfermedades alérgica y más infecciones.

Respecto con el género de *Staphylococcus*, se tiene que *Staphylococcus aureus* está ligado a la dermatitis atópica, enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por infecciones bacterianas recurrentes como las causadas por dicho microorganismo. La severidad de la dermatitis atópica puede ser atribuida a muchos factores ambientales como la contaminación ambiental, factores meteorológicos y la microbiota de la piel. Se sabe que del 60% al 100% de los pacientes con dermatitis atópica tienen la piel colonizada por *Staphylococcus aureus* a diferencia de una persona saludable (5% al 30%) (Kim *et al.*, 2019).

## Capítulo 6

# CONCLUSIONES

---

Con base en los resultados del presente estudio y bajo las condiciones de este, se pueden identificar como zonas críticas a las zonas de muestreo B y C, ya que superaron los límites permisibles de PM<sub>10</sub> y PM<sub>2.5</sub> establecidos en la NOM-025-SSA1-2014 en al menos tres de las cuatro estaciones del año.

Las zonas críticas con respecto a calidad microbiológica en ambientes interiores son las zonas A y B, las cuales presentan mayor cantidad de UFC debido a la concurrencia de personas.

El mayor conteo de UFC bacterianas y fúngicas en interiores se presentó en la estación de invierno tal como se esperaba, pues las más altas concentraciones de PST se presentan en condiciones estables de la atmósfera, es decir, debido a temperaturas bajas las corrientes verticales de aire son muy pocas en comparación con las de verano, por lo que hay muy pocas turbulencias que dispersen los contaminantes, habiendo mayor concentración de PST y como se mencionó en las discusiones, las partículas son las mayores acarreadoras de bacterias. De la misma manera, los hongos se vieron favorecidos por las bajas temperaturas y los altos porcentajes de humedad relativa en dicha estación.

El comportamiento del asilamiento de hongos tanto en ambientes interiores, como exteriores fue muy similar en las cuatro estaciones del año, presentándose más UFC en los lugares con mayor porcentaje de humedad relativa y menor temperatura, sin embargo, si la humedad relativa es baja, el crecimiento de hongos sigue siendo favorecido por las bajas temperaturas. Por el contrario, la abundancia de bacterias se ve más afectada por la concentración de partículas suspendidas que por los parámetros meteorológicos.

Los hongos encontrados en el presente trabajo han sido reportados que causan padecimientos como rinitis alérgica y asma. Mientras que, de los microorganismos identificados por secuenciación, *Staphylococcus* sp es el más relevante con respecto a padecimientos como la dermatitis atópica.

En ambientes interiores la cantidad de UFC bacterianas aisladas se ve afectada por el flujo de personas en el lugar de muestreo, mientras que el aislamiento de hongos se ve más afectado por condiciones climáticas. Además, al realizar la comparación en los aislamientos de ambientes interiores en los sitios de muestreo C y D (edificio antiguo y nuevo respectivamente) la diferencia de cantidad de colonias no fue

muy diferente, sin embargo, se observó que es más común aislar hongos en el lugar antiguo que en el edificio nuevo.

Gracias a los aislamientos realizados se cumplió con el objetivo de generar un listado que contiene los géneros más comunes de hongos y bacterias, así como la estación en la que se presentan más frecuentemente en el Área Metropolitana de Monterrey. Por medio de la secuenciación molecular de las muestras de ambientes interiores, correspondientes a las estaciones de primavera y verano fue posible la identificación de bacterias a nivel género de *Bacillus* sp y *Staphylococcus* sp y a nivel especie los microorganismos *Bacillus thuringiensis*, *Enterococcus faecium* y *Bacillus cereus*. Además, por medio de caracterización microscópica y macroscópica, se identificaron géneros fúngicos como *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Alternaria* sp, *Cladosporium* sp.

El presente trabajo servirá como complemento para evaluar el grave problema de contaminación del aire que actualmente se presenta en el Área Metropolitana de Monterrey, ya que actualmente solo está enfocado en el análisis de especies de origen químico, y así poder apoyar en la toma de decisiones para la elaboración de políticas públicas.

---

## RECOMENDACIONES

Con el fin de reducir las concentraciones de microorganismos en interiores, se recomienda el debido mantenimiento de sistemas de enfriamiento ya que por la humedad en ellos se convierten en un ambiente favorable para hongos y bacterias. En verano, por ejemplo, se hace uso del aire acondicionado y éste favorece el control de humedad en interiores disminuyendo la microbiota en el aire, y si además se abren las ventanas de las instalaciones para la circulación del aire, se ayuda a diluir la concentración de contaminantes. Por el contrario, en estaciones frías, se recomienda el uso de dehumidificadores en interiores para prevenir la formación de mohos en superficies, los cuales se discutieron en los resultados y son causantes de padecimientos como rinitis y asma.

Con respecto a los ambientes exteriores, el control de los parámetros mencionados anteriormente es complicado, sin embargo, se pueden adoptar medidas de higiene personal y ambiental que ayuden a la sociedad a estar expuesta a menores concentraciones de bioaerosoles tales como las que han estado sugiriendo debido a la presente pandemia de COVID-19. Dichas indicaciones incluyen el uso de cubrebocas, los cuales dependiendo de su accesibilidad presentan diferentes porosidades, como cubrebocas de tela (97.14% de

eficiencia), o hechos en casa, con cuatro capas de papel de cocina (95.15% de eficiencia) según datos reportados por Qing-Xia Ma y colaboradores (2020), además del adecuado lavado de manos y la desinfección de superficies y uso de gel antibacterial.

Como medidas a largo plazo se recomienda la siembra de plantas y árboles para controlar la suspensión de polvo en el ambiente.

Como trabajo a futuro se sugiere el estudio de concentración de bioaerosoles en diferentes alturas de edificios, ya que es la nueva tendencia en vivienda y oficinas (torres de departamentos y ejecutivas).

## REFERENCIAS

1. Ahmad, I., Khan, B., Khan, S., Rahman, Z. U., Khan, M., y Gul, N. (2019). Airborne PM<sub>10</sub> and lead concentrations at selected traffic junctions in Khyber Pakhtunlowa, Pabostan: Implications for human health. *Atmospheric Pollution Research*, 10. 1320-1325.
2. Ahmed, M., Guo, X., Zhao, X.M. (2016). Determination and analysis of trace metals and surfactant in air particulate matter during biomass burning haze episode in Malaysia. *Atmospheric Environment*.
3. Akhtar, N., Shoaib, A., Munir, S., Ali, A. y Khurshid, S. (2014). Isolation, identification and enzyme production profile of *A. niger*. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 24 (5). 1438 – 1443.
4. Alanís, G. J. (2005). El arbolado urbano en el Área Metropolitana de Monterrey. *Ciencia. UANL*, 8(0001). 20-32.
5. Alfaro, M. del R. (1998). Contaminación del aire. Emisiones vehiculares, situación actual y alternativas. San José, Costa Rica. EUNED.
6. Barraza, F., Lambert, F., Jorquera, H., Villalobos, A. M., y Gallardo, L. (2017). Temporal evolution of main ambient PM<sub>2.5</sub> sources in Santiago, Chile, from 1998 to 2012. *Atmosphere Chemistry and Physics*, 17. 10093-10107.
7. Bassett, J. I., Crompton, C. W., y Parmelee, J. A. (1978). *An Atlas of Airborne Pollen Grains and common Fungus spores of Canada*. Ottawa, Ontario, Canada. Agriculture Canada.
8. Bonifaz, A. (2015). *Micología médica básica*, México. McGraw-Hill.
9. Borrego, S. y Perdomo, I. (2014). Caracterización de la microbiota aérea en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba. *Revista Iberoamericana de Micología*, 31. 182-187.
10. Brook, J. R., Dann, T. F. y Burnett, R. T. (1997). The relationship among TSP, PM<sub>10</sub>, PM<sub>2.5</sub> and inorganic constituents of Atmospheric Particulate Matter at Multiple Canadian Locations. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 47(1). 2-19.
11. Cardozo Becerra, R. Y. y Araque Muñoz, L. G. Caracterización de bioaerosoles en 3 edificaciones administrativas de Bogotá, 2012 - 2013. *Revista ciencia en Desarrollo*, 6(1). 41-54.
12. Cartwright, C., Horrocks, S., Kirton, J., Crook, B. (2009). Review of Methods to measure Bioaerosols from Composting Sites. Environment Agency, Rio House, Waterside Drive, Aztec West, Almondsbury, Bristol, B532 4UD.
13. Casal, M. del M., Causse, M., Solís, F., Rodríguez, López, F. y Casal M. (2012). Investigación de las resistencias a antimicrobianos en *Enterococcus faecium*. *Revista Española de Quimioterapia*, 25. 180-182.
14. Chen, R., Cheng, J., Lu, J., Wu, L. y Wu, J. (2015). Comparison of chemical compositions in air particulate matter during summer and winter in Beijing, China. *Environmental Geochemistry and Health*.
15. Cicero-Fernández, P., Thistlewaite, W. A., Falcon, Y. I. y Guzmán I. M. (1993). TSP, PM<sub>10</sub> and PM<sub>10</sub>/TSP ratios in Mexico City Metropolitan area: a temporal and spatial approach. *Journal of Exposure Analysis and Environmental epidemiology*, 3(1). 1-14.
16. Clement, N., Keady, P., Emerson, J. B., Fierer, N., y Miller, S. L. (2018). Seasonal variability of Airborne Particulate Matter and Bacterial Concentrations in Colorado Homes. *Atmosphere*, 9(133).
17. Cohen, A., Braver, M., Burnett, R., Anderson, H. R., Frostad, J., Estep, K., Balakrishnan, K., Brunekreef, B., ... y Forouzanfar, M. H. (2017).

- Estimates and 25-year trends of the global burden of disease attributable to ambient air pollution: an analysis of data from the Global Burden of Diseases Study 2015. *www.thelancet.com*, 389. 1907-1918.
18. De la Rosa, M del C., Ullán, C., Prieto, M. P. y Mosso, M. A. (2002). Calidad microbiológica del aire de una zona limpia en una industria farmacéutica. *Anal. Real Acad. Farm*, 66.
  19. Dungan, R. S., Leytem, A. B., Verwey, S. A. y Bjornenerg, D. L. (2010). Assessment of bioaerosols at concentrated dairy operation. *Aerobiología*, 26. 171-184.
  20. Estrada Salazar, G. I. y Ramírez Galeano, M. C. (2019). *Micología general*, Manizales, Caldas, Colombia: Universidad Católica de Manizales.
  21. Fan, C., Li, Y., Liu, P., Mu, F., Xie, Z., Lu, R., Qi, Y.... y Jin, C. (2019). Characteristics of airborne opportunistic pathogenic bacteria during autumn and winter in Xi'an, China. *Science of the total environment*, 672. 834-845.
  22. Flores Márquez, J. P., Suckla, M. K., Wang, J.,... y Hernández Arrentia, B. C. (2011) Material partículado dispersado por vehículos en caminos agrícolas no pavimentados. *Terra Latinoamericana*, 29(1). 23-34.
  23. Fung, F., Tappen, D. y Wood, G. (2000). *Alternaria*-Associated Asthma. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 15. 924-927.
  24. Galán, C., Ariatti, A., Bonini, M., Clot, B., Dahl, A.,... y Sofie M. (2017). Recommended terminology for aerobiological studies. *Aerobiología*, 33. 293-295.
  25. García Ferreira, M. F. (2014). Obtención de mapas de calidad de aire, a través de la implementación y primera aplicación del modelo de transporte químico CHIMERE sobre Argentina (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.
  26. Garnica-Escamilla, M. A., Rocha, M. G., Bautista-León, R. C. y Franco-Candejas, R. (2012). *Cladosporium* sp. El paciente quemado. *Revista del Hospital Juárez de México*, 79. 271-272.
  27. Garret, J. R. (1994). Review: the atmospheric boundry layer. *Earth science Reviews*, 37. 89-134.
  28. Genitsaris, S., Stafanidou, N., Katsiapi, M., Kormas, K., Sommer, U. y Moustaka-Gouni, M. (2017). Variability of airborne in an urban Mediterranean area (Thessaloniki, Greece). *Atmospheric Environment*, 157. 101-110.
  29. Ghosh, B., Lal, H., Srivastava, A. (2015). Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms. *Environment International*, 85(1). 254-272.
  30. González-Días, S., Arias-Cruz, A., Ibarra-Chávez, J. A., Elizondo-Villarreal, B., Rivero-Arias, D. M. y Salinas-Díaz, M. R. (2016). Prevalencia de sensibilización a hongos en pacientes con alergia respiratoria. *Revista Alergia México*, 63 (2). 143 – 153.
  31. Greenberger, P. A., Bush, R. K., Demain, J. G., Luong, A., Slavin, R. G. y Knutsen, A. P. (2014). Alergic Broncopulmonary Aspergillosis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 2 (6). 703 – 708.
  32. Hamoda, M. F. y Mahmoud, H. (2018). Microbiological characteristics of indoor air bioaerosols in a waste paper recycling factory. *International Journal of Environmental Science and Technology*.
  33. Henningson, E. W., Ahlberg, M. S. (1994). Evaluation of microbiological aerosol samplers - a review. *J. Aerosol science*, 25(8). 3585-3588.
  34. Hurtado, L., Rodríguez, G., López, J., Castillo, J. E., Molina, M., Zavala, M., y Quintana, P. (2014). Characterization of Atmospheric bioaerosols at 9 sites in Tijuana, Mexico. *Atmospheric Environment*, 96. 430-436.

35. INEGI. (2015). Número de habitantes. México: *cuéntame INEGI*. Recuperado de [cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/nl/poblacion/](http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/nl/poblacion/)
36. INEGI. (S. F.) Clima. México: *cuéntame; información por identidad*. Recuperado de [cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/nl/territorio/clima.aspx?tema=me&e=19](http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/nl/territorio/clima.aspx?tema=me&e=19)
37. Klich, M. A. (2009). Health effects of *Aspergillus* in food and air. *Toxicology and industrial Health*, 25. 657-667.
38. Lamolda García, C. (2016). *Aplicación combinada de los tratamientos de congelación y vacío para la desinfección de documentos: El Fondo del Colegio Real de Santa Cruz de la Fe y Santa Catalina Mártir, Archivo de la Universidad de Granada*. (Tesis de licenciatura). Universidad de Granada, Granada, Andalucía, España.
39. Kim, J., Eui Kim, B., Ahn, K. y Leung, D. (2019). Interactions between atopic dermatitis and *Staphylococcus aureus* infection: clinical implications. 593 – 603.
40. Larrondo, H. M. (2010). Infección por bacilos gram-negativos no fermentadores. Problemática en las unidades de cuidados intensivos. *Revista Habanera de ciencias Médicas*, 9. 680-687.
41. Luo, Y., Li, J., Zhang, X. y Gao, W. (2016). Characterization of Potential Pathogenic *Cladosporium* Exposure Risks from Heating, Ventilation and Air Conditioning (HVAC) in two cities, China. *Medical Mycology*, 2.
42. Ma, Z., Hu, X., Sayer, A. M., Levy, R., Zhang, Q., Xue, Y., Tong, S... y Lui, Y. (2016). Satellite - Based Spatiotemporal Trends in PM<sub>2.5</sub> Concentrations: China, 2004 - 2013. *Environmental Health Perspectives*, 124(2). 184-192.
43. Ma, Q., Shan, H., Zhang, H., Li, G., Yang, R. y Chen. (2020). Potential utilities of mask-wearing and instant hand hygiene for fighting SARS-CoV-2. *Journal of Medical Virology*. 1-5.
44. Macher, J. M., Hansson, H. C. (1987). Personal size - separating impactor for sampling microbiological aerosols. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 48. 652-655.
45. Maki, T., Kakikawa, M., Kobayashi, F., Yamada, M., Matsuki, A., Hasegawa, H. y Iwasaka, Y. (2013). Assessment of composition and origin of airborne bacteria in the free troposphere over Japan. *Atmosphere Environment*, 74. 73-82.
46. Maldonado-Vega, M., Peña-Cabriales, J.J., De los Santos Villalobos, S., Castellanos-Arévalo, A. P., Camareno-Pozos, D., Aerévalo-Rivas, B.,... y de Peña, D. L. G. (2014). Bioaerosoles y evaluación de la calidad de aire en dos centros hospitalarios ubicados en León, Guanajuato, México. *Revista Internacional de contaminación ambiental*, 30. 138-143.
47. Mandal, J., Brand, H. (2011). Bioaerosols in indoor environment. A review with special reference to residential and occupational locations. *Open Journal of Environmental Biology*. J, 4. 83-96.
48. MedlinePlus en español [Internet]- Bethesda (MD): Biblioteca Nacional de Medicina (EE.UU) [actualizada el 4 de marzo del 2020]. *Staphylococcus*: consultado el 20 de marzo de 2020. Disponible: [medlineplus.gov/spanish/ency/patientinstructions/000686.htm](http://medlineplus.gov/spanish/ency/patientinstructions/000686.htm)
49. Miller, J. M., Hair, J. G., Hebert, M., Hebert, L. y Roberts, F. J. (1997). Fulminating Bacteremia and Pneumonia due to *Bacillus cereus*. *Journal of medical microbiology*, 35. 504, 507.
50. Mollinedo, M. A., y Gonzáles, C. (2014). Bacterias Gram negativas. *Revista de Actualización Clínica*, 49.

51. NL.GOB.MX. (2009). Contaminantes criterio. Recuperado el 16 de octubre de 2018, de <https://www.gob.mx/cofepris/acciones-y-programas/2-clasificación-de-los-contaminantes-del-aire-ambiente>
52. Pérez, I. (2014). *Bacillus cereus* y su papel en las intoxicaciones alimentarias. *Revista Cubana de Salud Pública*, 38. 98-108.
53. Pietikäinen, J., Pettersson, M. y Baath, E. (2005). Comparison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates. *FEMS Microbiology Ecology*, 52. 49 – 58.
54. Rajasekar, A. y Balasubramanian, R. (2011). Assessment of airborne bacteria and fungi in food courts. *Building and Environment*, 46. 2081-2087.
55. Reis-Menezes, A., Gambale, W., Giudice, M. y Shirokawa, M. (2011). Accelerated testing of mold growth on traditional and recycled book paper. *International biodeterioration & Biodegradation*, 65. 423-428.
56. Rico-Rosillo, G., Vega-Robledo, G. B., Silva-García, R., y Oliva-Rico, D. (2014). Epigenética, medio ambiente y asma. *Revista Alergia México*, 61. 99-109.
57. Rimac, D., Macan, J., Varnai, V. M., Vučemilo M., Matković, K., Prester, L., Orct, T. y Pavičić, I. (2010). Exposure to poultry dust and health effects in poultry workers: impact in mould and mite allergens. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 83. 9-19.
58. Rincón, S., Panesso, D., Díaz, L., Carvajal, L. P., Reyes, J., Munita, J. M. y Arias, C. A. (2014). Resistencia a antibióticos de última línea en cocos Gram positivos: la era posterior a la vancomicina. *Biomédica*, 34. 191-208.
59. Rivas, L. M., Mühlhauser, M. (2014). *Alternaria* spp. *Revista Chilena de Infectología*, 31 (5). 605 - 606.
60. Rojano, R. E., Angulo, L. C., y Restrepo, G. (2013). Niveles de partículas suspendidas totales (PST), PM<sub>10</sub> y PM<sub>2.5</sub> y su relación en lugares públicos de la Ciudad Rioacha, Caribe Colombiano. *Información Tecnológica*, 24(2).
61. Seinfeld, J. H., y Pandis, S. N., 2006, *Atmospheric chemistry and physics. From air pollution to climate change*, New Jersey, Estados Unidos, John Wiley & Sons, Inc.
62. SEMARNAT. (2013). Calidad de aire: una práctica de vida. Recuperado de [biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/Libros2013/CD001593.pdf](http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/Libros2013/CD001593.pdf)
63. Seoáñez Calvo, M. (2002). Tratado de la contaminación atmosférica. Madrid, España. Ediciones MundiPrensa.
64. Verástegui Rubio, D. F., Contreras López, J. M., Narvaéz Torres, Y. Y., Garza Villarreal, D. Y., Cantú Cárdenas, M. E., Zárate, X... y Ramírez Lara, E. (2015). Identificación de microorganismos presentes en la atmósfera baja de una zona industrial del Área Metropolitana de Monterrey. *Química Hoy*, 5(3). 18-21.
65. Verdier, T., Couband, M., Bertron, A. y Roques, C. A review of indoor microbial growths across buildings material and samplings and analysis methods. *Buildings and Environmental*, 80. 136-149.
66. Werysko-Chmielewska, E., Kasprzyk, I., Nowak, M., Sulborka, A., Kaczmarek, J., Szymanska, A., Haratym, W., y Jedryczka, M. (2017). Health hazards related to conidia of *Cladosporium*-biological air pollutants in Poland, central Europe. *Journal of Environmental sciences*.

67. Widziewicks, K., Rogula-Kozłowska, W., Loska, K., Kociszewska, W., Loska, K., Kociszewska, K., y Majewski, G. (2018). Health Risk Impacts of Exposure to Airborne Metals and Benzo (a) Pyrene during Episodes of High PM<sub>10</sub> on concentrations in Poland. *Biomedical and Environmental Science*, 31(1). 23-36.
68. Xie, Y., Fajardo, O. A., Yan, W., Zhao, W., y Jiang, J. (2017). Six-day measurement of sie-resolved indoor fluorescent bioaerosols of outdoor origin in an office. *Paricoulogy*, 31. 161-169.
69. Xiong, J. W., NG, B. F., Wan, M. P., y Chang, V. W. Evaluation of Contribution of an Air-Conditioning and Mechanical Ventilation (ACMV) System to Level of Indoor Bioaerosols.
70. Yim, J., Smith, J. R. y Rybak, M. J. (2017). Role of combining Antimicrobial Therapy of Vancomycin-Resistan *Enterococcus faecium* infections. *Pharmcotherapy*, 37. 579-592.
71. Yu-Fei, X., Yue-Hua, X., Min-Hua, S. y Yi-Xin, L. (2016). The impact of PM<sub>2.5</sub> on the human respiratory system. *Journal of Thoracic Disease*, 8. 69-74.

## ANEXO 1. DIVULGACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

---

### **Presentación en Congreso:**

**Renée Gamboa Quezada**, Ulrico Javier López Chuken, Evangelina Ramirez Lara y Aldo Isaac Ramírez Castillo: estudio de la calidad microbiológica del aire en diferentes municipios del Área Metropolitana de Monterrey. **Biogénesis 1.0 Congreso Nacional de Biotecnología**. Acapulco, Guerrero. 3 – 5 de septiembre de **2020** (Cartel).

## **ANEXO 2. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO**

---

Renee Gamboa Quezada

Candidata para el grado de Maestra en Ciencias con orientación en Microbiología Aplicada.

Estudio de la calidad microbiológica del aire en diferentes municipios del Área Metropolitana de Monterrey.

25 años.

Campo de estudio: Microbiología ambiental, aerobiología.

### **Biografía**

Datos personales: Nacida en el Paso Texas el 30 de mayo de 1995, pasó su vida en Chihuahua, Chihuahua, México. Hija de Carlos Mauricio Gamboa González y Laura Patricia Quezada Ibarra.

### **Educación**

Egresado de la Licenciatura de Ingeniería Química del Instituto Tecnológico de Chihuahua – ITCH 2018.