

Capítulo 3

Distribución de los microorganismos en el ambiente

Objetivos

- Reconocer la ubicuidad de los microorganismos en varios ambientes.
- Adquirir habilidad para muestrear microorganismos del ambiente y de las superficies.

Introducción

Debido a que los microorganismos son extraordinariamente pequeños e invisibles, su presencia en el medio ambiente frecuentemente pasa desapercibida, sin embargo, la vida microbiana es de una importancia considerable para la función del ecosistema (Harvey et al., 2008).

En el ambiente natural es muy raro que los microorganismos se encuentren aislados, en realidad la población normal de un hábitat (suelo, agua, drenajes, etc.), abarca un gran número de especies microbianas diferentes, todas las especies que se desarrollan en una región son características de ese ambiente.

Cualquier estudio de los microambientes requiere el empleo del microscopio para observar la muestra donde se desarrolla el microorganismo. Lo ideal, sin embargo, es tratar de aislarlos en los medios de cultivo, con el fin de poderlos identificar.

Aplicaciones

Muestreo de equipos y utensilios

Se puede realizar por varios métodos (Salyers & Whitt, 2001; Maier, 2009). La selección del método de muestreo debe estar en función de las características de la superficie a muestrear.

a) Enjuagado: Se utiliza para superficies vivas (manos) y para objetos pequeños o para el muestreo de superficies interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, etc.

El método consiste en realizar un enjuague (botellas, frascos, similares) o inmersión (manos, objetos pequeños) en una solución diluyente o medio de cultivo o de buffer, el cual es sometido posteriormente al análisis microbiológico.

b) Contacto de superficie: Método del hisopo: Se utiliza para superficies inertes regulares e irregulares, tales como tabla de picar, bandejas, mesas de trabajo, utensilios, cuchillas de equipos, cortadora de embutidos, cortadora de pan de molde, fajas transportadoras, tolvas, mezcladoras, pisos, paredes y otros. consiste en deslizar un hisopo embebido en buffer por un área determinada del equipo y posteriormente descargar el hisopo en un volumen medido de diluyente, el cual es analizado. Este método es recomendado para zonas de difícil acceso, en cambio para áreas planas se aconseja el contacto directo de la superficie por analizar con una placa RODAC (Replicate Organism Direct Agar Contact Plates), con agar nutritivo y se expresa el resultado por área total muestreada.

También pueden emplearse esponjas estériles, se utiliza preferentemente para muestrear superficies de mayor área. (humedecidas en suero fisiológico u otro diluyente) que se pasan por la superficie y luego la esponja es inoculada en un caldo (si se realiza una búsqueda) o se diluye en un volumen medido de suero fisiológico y se realiza el recuento de esta solución para expresar finalmente el resultado por unidad de superficie muestreada.

c) Inmersión: los utensilios se sumergen en un volumen determinado de diluyente y se determina el número de microorganismos por unidad.

Muestreo de aire

- a) Sedimentación: se exponen placas de agar durante 15 minutos a 2 horas, dependiendo de la contaminación del área por analizar. Se detectan solo los microorganismos que están adheridos a partículas sedimentables.
- b) Impacto: se hace pasar un volumen determinado de aire mediante aplicación de vacío y el aire impacta sobre la superficie del medio de cultivo. También existen equipos que permiten el pasaje del aire a través de una serie de tamices que retienen distintos tamaños de partícula. Los tamices son incubados sobre agar y se puede determinar el número de microorganismos asociados a partículas de distinto tamaño.
- c) Impregnación de líquidos: son muestreadores de impactación en medio líquido (*Borboteo o impigement*). El aire es aspirado a través de una entrada curvada que simula el tracto respiratorio superior y las partículas impactan en un volumen conocido de líquido de captación, empleándose normalmente agua desmineralizada, tampón fosfato salino o agua peptonada. Con el fin de preservar la viabilidad de los microorganismos, se le añaden aditivos como proteínas, antiespumantes y anticongelantes. Posteriormente el líquido de captación puede analizarse empleando diversas técnicas, como cultivo, microscopía, así como ensayos para determinar componentes, productos, o metabolitos microbianos.

Materiales

Cajas de Petri con medios de agar nutritivo

Tubos con caldo nutritivo

Escobillones o hisopos estériles

Equipo impactador Merck® (demostración)

Procedimiento

1. Marque tubos y cajas especificando nombre del medio, lugar, hora, fecha, tipo de muestra.

2. Exponga dos de los medios de cultivo sólido (siembra por sedimentación) durante 20 minutos en el lugar designado por el docente.
3. Humedezca un escobillón en caldo nutritivo y frote una superficie cualquiera dentro del área designada, introduzca el hisopo de nuevo dentro del caldo.
4. Incubar a 37 °C por 24 a 48 horas tanto las cajas como los tubos.

