



BIOCYT 2(5) :38-47, 2009

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
© 2009 BIOCYT



<http://www.iztacala.unam.mx/biocyt>

CRECIMIENTO BACTERIANO EN RESTOS ÓSEOS HUMANOS ARQUEOLÓGICOS

Erika Zenteno Robledo

Laboratorio de Metodología Científica IV, Facultad de Estudios Superiores Iztacala,
Universidad Nacional Autónoma de México. Av. de los Barrios No.1. C. P. 54090. Col. Los
Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, México.

RESUMEN

Se determinaron taxonómicamente bacterias en restos óseos humanos arqueológicos provenientes de Donceles 97 y de la gruta Estación Poaná. Se identificaron *Bacteroides fragilis*, *Bacillus* sp., *Enterococcus solitarius*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Micrococcus* sp., *Campylobacter jejuni* subespecie *doylei*, *Veillonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria mucosa* y *Pseudomonas stutzeri*; la mayoría de éstas bacterias son patógenas para los manipuladores, lo cual significa un riesgo biológico para su salud.

Palabras clave: arqueología, hueso, biodeterioro, riesgo biológico, bacterias

Correspondencia al autor: eriquiux_bombiux@hotmail.com

ABSTRACT

Taxonomically identified bacteria in archaeological human skeletal remains from Donceles 97 and the cave Estación Poaná. Identified *Bacteroides fragilis*, *Bacillus* sp. *Enterococcus solitarius*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Micrococcus* sp., *Campylobacter jejuni* subspecies *doylei*, *Veillonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri* and *Neisseria mucosa*, most of these bacteria are pathogens for manipulators, which means a biological risk to their health.

Key words: archeology, bone, biodeterioration, biohazard, bacteria

INTRODUCCION

La Antropología trata acerca de la diversidad humana y de los procesos históricos y culturales que la sustentan (Guerci *et al.*, 2004). Los restos óseos humanos son la evidencia material que permite conocer aspectos cualitativos, tales como condiciones generales de vida de las poblaciones desaparecidas (Molina, 2006). Por ejemplo, si la cerámica arqueológica tiene un valor por sí misma en el sentido de conocer el tipo de materiales utilizados en su fabricación, la temperatura y tiempo de cocido, técnicas de elaboración, etc. (Menacho, 2007); por su parte, los restos óseos arqueológicos tienen un valor biológico intrínseco, ya que expresan la variabilidad física y genética de los individuos dentro de un grupo o población, así como la determinación del sexo y la edad que tenían los individuos al morir (Salado y Ríos, 2002).

La información biológica básica que se obtiene a partir del estudio de los huesos permite reconstruir aspectos importantes (Molina, 2006) como el crecimiento poblacional y la estructura estable por edades (Franco *et al.*, 2001).

La Antropología está compuesta de otras disciplinas, entre las más importantes se encuentran la Arqueología y la Tafonomía (Terrerros-Espinosa, com. pers.). La Tafonomía es una subdisciplina de la Paleontología que estudia la historia *post-mortem* de los restos orgánicos hasta la fosilización de los mismos (González, 2007). La Tafonomía se integra en la Paleopatología y la Antropología Forense, con relación a los restos óseos, su transformación, deterioro, contaminación y evolución después de la muerte (Calderón, 2004).

El biodeterioro de los restos óseos es causado por factores ambientales, principalmente la temperatura y humedad del lugar de custodia, además de la manipulación y la forma de almacenamiento (Videla *et al.*, 2003). Un control de calidad en la manipulación, almacenamiento y preparación de los restos óseos es importante, ya que el peor enemigo de los restos óseos es la humedad, que propicia el desarrollo de bacterias, algas y hongos, alterando la consistencia, el aspecto y el color del hueso (Jans *et al.*, 2004); también producen fisuras y en algunas ocasiones fracturas (Calderón, 2004).

Los huesos están formados por un material especializado, combinando una fase orgánica, compuesta principalmente por colágeno y otras proteínas; y una fase mineral compuesta por hidroxapatita de calcio, fosfatos y agua (Child, 1995). Cuando el hueso se ve afectado por la acción de microorganismos como las bacterias, no se pueden distinguir las pseudopatologías *post-mortem* de las producidas *ante-mortem* (Calderón, 2004).

Los microorganismos penetran el hueso utilizando espacios naturales (como vasos sanguíneos y nervios), liberando sus enzimas y depositando aminoácidos (Jackes *et al.*, 2001). Estos organismos crecen usando los tejidos desmineralizados como fuente de alimento y excretando metabolitos secundarios (Child, 1995). Los productos del metabolismo microbiano dependen de su tipo de descomposición (Collins *et al.*, 2002).

Las bacterias son las principales causantes del deterioro de los restos óseos, que utilizan el colágeno como sustrato para su crecimiento (Child, 1995). Algunas bacterias son patógenas para el hombre, entre las cuales se pueden citar: *Escherichia coli*, *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Clostridium* sp. y *Bacillus* sp., entre otras (Calderón, 2004). Las

bacterias se pueden encontrar en diferentes ambientes y a su vez en distintos sustratos, en los restos óseos se pueden encontrar distintas bacterias como: *Escherichia coli*, *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Clostridium* sp., *Bacillus* sp., entre otras. (Calderón, 2004).

Las bacterias influyen en el biodeterioro de los restos óseos arqueológicos, ya que utilizan el colágeno de los huesos como alimento, provocando el deterioro de éstos. En México no existen estudios relacionados sobre la actividad microbiana en restos óseos humanos arqueológicos por lo que no se tiene una conciencia del riesgo biológico que representa la manipulación de este tipo de materiales debido a los microorganismos presentes. El objetivo principal de este trabajo fue identificar el crecimiento bacteriano en restos óseos humanos.

ÁREA DE ESTUDIO

La gruta de la estación Poaná se encuentra en el Municipio Tacoltapa, en la región serrana de Tabasco (Coordenadas UTM: Coord. X 527655 y Coord. Y 1943946). La gruta cuenta con diferentes salas cavernosas. Cabe destacar la importancia del paisaje cárstico, en el cual se formó una gran cantidad de sistemas cavernosos, aprovechados por el hombre en numerosas ocasiones y de manera diversa durante el curso de la historia (Terreros-Espinosa, 2006).

El entierro de Donceles 97 (excavación rectangular) se localiza en la zona arqueológica del Templo Mayor en la Ciudad de México (Coordenadas UTM: Coord. X 486120 y Coord. Y 2148800).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se colectaron fragmentos de huesos humanos en un solo muestreo (Septiembre de 2008) en la gruta estación Poaná, Tabasco, México y en la sala ubicada en la calle de Donceles (No. 97) (un solo muestreo Octubre de 2008) en el Centro Histórico de la Ciudad de México.

Los fragmentos colectados fueron colocados en bolsas de plástico estériles previamente etiquetadas y transportadas al laboratorio de metodología científica IV en la FESI, UNAM. Cada uno de los fragmentos fue segmentado (1-4 cm; \pm 0.2 cm). Se realizaron dos experimentos, en cada uno de ellos se empleó aproximadamente la mitad de cada uno de los fragmentos.

Experimento uno

Se tomó una porción de cada fragmento, las muestras fueron colocadas en tubos de ensayo con solución salina durante 4 minutos (Koneman, 2001). De cada tubo se obtuvieron muestras de 0.1 y 1.0 ml, las cuales se sembraron en placas de conteo estándar (se utilizó la técnica de vaciado en placa) por 48 horas a 34 °C (Bradshaw, 1976). Finalmente se realizaron conteos de unidades formadoras de colonias (UFC) (Koneman, 2001).

Experimento dos

El resto de cada una de las muestras óseas fueron colocadas de forma individual en matraces Erlenmeyer de 250 ml con agua peptonada al 1.0% por 4 minutos, cada muestra fue sonicada durante 4 minutos empleando un sonicador modelo Ultrasonic LC 30H; e incubadas durante 24 horas a 34 °C (Hurtado-Bocanegra, com. pers.). Se realizaron siembras de cada muestra en diferentes medios de cultivo: agar MacConkey, agar estafilococos, agar base chocolate, agar pseudomonas y agar nutritivo (Lennette *et al.*, 1987), y se incubaron a una temperatura de 34 °C por 24 horas con el fin de promover el crecimiento de las colonias bacterianas.

Las colonias resultantes fueron aisladas e identificadas por su forma, color, apariencia, tamaño y elevación (Koneman, 2001), posteriormente fueron sometidas a un tren de tinción de Gram para verificar su forma y pureza (Flores *et al.*, 2008). Siguiendo con una serie de pruebas bioquímicas IMVIC (indol, rojo de metilo, Vogues-Proskahuer, Citrato de Simmons y Hierro), catalasa y ureasa para caracterizarlas (MacFaddin, 2003; Krieg y Holt, 1984).

RESULTADOS

Gruta estación Poaná

Se colectaron 8 fragmentos de huesos humanos: 1 tróclea de húmero derecho, 3 fragmentos de cráneo, 1 vértebra cervical, 1 de peroné y 2 fragmentos de fémur (etiquetados como hueso largo 1 y 2).

Templo Mayor

Se colectaron 4 fragmentos de huesos humanos: 1 vértebra cervical no. 3, 1 pieza dental (primer molar izquierdo del maxilar superior), 1 hueso del carpo (muñeca de la mano izquierda), acrómen del esternón.

Se identificaron las bacterias en 11 huesos diferentes. Se observaron 10 cepas, dentro de las cuales se identificaron taxonómicamente 7 especies y una subespecie (Tabla 1). Se identificaron 9 géneros, 9 familias, 9 órdenes, 7 clases y 4 divisiones (Tabla 1).

Tabla 1. Bacterias encontradas en restos óseos humanos

FAMILIA	GENERO	ESPECIE
Bacteroidaceae	<i>Bacteroides</i>	<i>B. fragilis</i>
Veillonellaceae	<i>Veillonella</i>	<i>V. sp.</i>
Enterococcaceae	<i>Enterococcus</i>	<i>E. solitarius</i>
Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>B. sp.</i>
Micrococcaceae	<i>Micrococcus</i>	<i>M. sp.</i>
Campylobacteraceae	<i>Campylobacter</i>	<i>C. jejuni subsp. doylei</i>
Neisseriaceae	<i>Neisseria</i>	<i>N. mucosa</i>
Vibrionaceae	<i>Vibrio</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>P. aeruginosa</i> <i>P. stutzeri</i>

Del hueso del carpo se aislaron *Veillonella sp.* y *Micrococcus sp.* En el primer molar maxilar izquierdo (superior) se aisló *Campylobacter jejuni* subespecie *doylei* (Tabla 2). Del cráneo se aislaron *Bacteroides fragilis*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Neisseria mucosa*; de los huesos largos se aislaron *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus sp.* y *Enterococcus solitarius* y del peroné se aisló *Pseudomonas stutzeri* (Tabla 2). En la tabla 3 se puede observar el número de UFC para las muestras de 0.1 y 1.0 ml (experimento uno).

Tabla 2. Bacterias asociadas a los diferentes huesos

ESPECIE	CRÁNEO	PERONÉ	HUESO LARGO	CARPO	PRIMER MOLAR
<i>B. fragilis</i>	X				
<i>Bacillus sp.</i>			X		
<i>E. solitarius</i>			X		
<i>V. parahaemolyticus</i>	X				
<i>Micrococcus sp.</i>				X	
<i>C. jejuni subsp. Doylei</i>					X
<i>Veillonella sp.</i>				X	
<i>P. aeruginosa</i>			X		
<i>N. mucosa</i>	X				
<i>P. stutzeri</i>		X			

Tabla 3. Unidades formadoras de colonias observadas en las muestras de 0.1 y 1.0 ml

HUESO	0.1 ml	1.0 ml
	Cuenta estándar	Cuenta estándar
Cráneo	16	74
Hueso largo	179	12
Hueso largo	23	156
Polvo	90	68
Vértebra 1	11	9
Vértebra 2	20	91

DISCUSIÓN

Las bacterias caracterizadas como *Bacillus* sp. (Singleton, 1997; Delgado-Iribarren *et al.*, 1994), *V. parahaemolyticus* (Delgado-Iribarren *et al.*, 1994), *Micrococcus* sp. (Bailey, 1991) y *P. aeruginosa* (Delgado-Iribarren *et al.*, 1994) habitan en el suelo por lo que es de esperar que los huesos se contaminaran con estos microorganismos, sin embargo se sabe que estas especies provocan infecciones respiratorias, lo cual puede indicar que los huesos pudieron ser contaminados por los manipuladores. La presencia de *Veillonella* sp. en los restos óseos pudo deberse también a la presencia de los manipuladores ya que ésta bacteria se encuentra en la saliva (Gutiérrez *et al.*, 2005; Laskin y Lechevalier, 1977); y al igual que *N. mucosa* forma parte de la comunidad bacteriana de las vías respiratorias (Silva *et al.*, 2003; Delgado-Iribarren *et al.*, 1994).

P. aeruginosa vive en ambientes húmedos, por lo cual no sería raro encontrarla en los huesos puesto que éstos se encontraron en lugares húmedos (Delgado-Iribarren *et al.*, 1994). Por otra parte *Micrococcus* sp., tal vez forma parte de la comunidad bacteriana de los huesos

desde hace tiempo debido a su capacidad de sobrevivir largos periodos (Bailey, 1991). *B. fragilis*, *E. solitarius* (Notario, 2005), *C. jejuni* (Singleton y Sainsbury, 1987; Delgado-Iribarren et al., 1994), *P. stutzeri* (Núñez et al., 1975) y *V. parahaemolyticus* (Delgado-Iribarren et al., 1994) son bacterias que se pueden encontrar en las heces de animales y del hombre; y los huesos colectados se encontraron junto al guano seco de murciélagos que habitan la cueva (datos no publicados) lo cual puede explicar la presencia de estas bacterias en los huesos, aunque existen pocos estudios sobre la diversidad bacteriana en este tipo de desechos.

Child (1995) encontró *Pseudomonas* sp. en huesos arqueológicos, desafortunadamente no identificó las especies; en este estudio se caracterizaron 2 especies de *Pseudomonas* (Tabla 2). Calderón (2004) observó *Bacillus* sp. en huesos arqueológicos, mientras que Child (1995), Jackes, M. et al. (2001) y Calderón (2004) observaron *Clostridium* en el mismo tipo de huesos. En el presente trabajo no se observó *Clostridium*. En el hueso largo 1, vértebra 2 y cráneo se contabilizó el mayor número de UFC (Tabla 3).

Se puede concluir entonces que: a) Posiblemente *B. fragilis*, *Bacillus* sp., *E. solitarius*, *P. stutzeri*, *P. aeruginosa*, *Micrococcus* sp. y *V. parahaemolyticus*, pueden sobrevivir en este tipo de huesos puesto que las condiciones de los lugares de donde fueron extraídos son húmedos, b) *B. fragilis*, *E. solitarius*, *C. jejuni doylei* y *V. parahaemolyticus* tal vez son nativas del guano de murciélago, no obstante pueden sobrevivir en los huesos porque encuentran una fuente adecuada de nutrientes, sin embargo habría que corroborar lo observado mediante otros experimentos similares, c) *B. fragilis* y *P. stutzeri* son patógenos oportunistas, por lo que no sería raro que hubieran pasado de los manipuladores a los huesos de estudio o que ya estuvieran establecidos, d) por falta de medidas de bioseguridad, es seguro que *C. jejuni doylei*, *N. mucosa* y *Veillonella* sp., hayan pasado de los manipuladores a los huesos, e) los restos óseos extraídos de la cala de Donceles presentaron menor deterioro superficial que los extraídos de la gruta Estación Poaná, esto porque los primeros se encontraban resguardados

de los efectos del ambiente, f) la mayoría de las bacterias observadas en los huesos son patógenas para el hombre, por lo que los manipuladores deben contar con mayores medidas de bioseguridad al manipular restos óseos para evitar posibles contagios.

No se pudieron determinar los parámetros ambientales debido a la falta de recursos económicos y por ende de equipo adecuado para tal fin.

AGRADECIMIENTOS

La autora desea agradecer al arqueólogo Eladio Terreros Espinosa, las facilidades otorgadas para el acceso al material óseo, así como al M. en C. Rafael Emiliano Quintanar Zúñiga de la Unidad de Biotecnología y Prototipos de la FES-IZTACALA, UNAM, por la ayuda brindada para los aspectos de microscopía electrónica y a la asesoría de la M. en C. Dolores Hurtado Bocanegra y del Dr. José Luis Gama Flores.

REFERENCIAS

- Bailey, S. 1991. Diagnóstico Microbiológico. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 879 pp.
- Bradshaw, J. 1976. Microbiología de laboratorio. Editorial El manual moderno. Universidad Estatal de California. E.U.A. 222-231 p.
- Calderón, M. 2004. Caracterización y tratamiento de microorganismos bioindicadores de contaminación y deterioro en restos óseos humanos custodiados por el Laboratorio de Antropología Física de la Universidad Nacional (Colombia). *Exhumar*. 1:101-112.
- Collins, M., C. Nielsen-Marsh, J., Hiller, C. Smith, y J. Roberts. 2002. The survival of organic matter in bone: a review. *Archaeometry*. 44(3): 383-394.
- Child, M. 1995. Microbial taphonomy of archaeological bone. *Studies in Conservation*. 40:19-30.
- Child, M. 1995. Towards an understanding of the microbial decomposition of archaeological bone in the burial environment. *Journal of Archeological Science*. 22:165-174.
- Delgado-Iribarren, A., S. Amich, S. Prieto y M. Salve. 1994. Laboratorio Clínico Microbiología. Interamericana McGraw-Hill. España. 593 pp.
- Flores, S., V. Rivera y A. Chávez. 2008. Bacteriología Básica. UNAM FES Iztacala. México. 114 pp.
- Franco, J., G. Cruz, A. Rocha, N. Navarrete, G. Flores, E. Kato, S. Sánchez, S., L. Abarca y C. Bedía. 2001. Manual de Ecología. Editorial Trillas. México. 266 pp.

González, M. 2007. Estudios de interés taxonómico en los restos óseos humanos de Laguna Tres Reyes 1 (Partido de Adolfo Gonzales Chaves, provincia de Buenos Aires). *Intersecciones Antropológicas*. 8: 215-233.

Guerci, N. M., M. A. Mugueta y M. A. Rodríguez. 2004. La arqueología histórica en Argentina. El caso del cantón Tapalqué Viejo. *Gaceta de Antropología*. (20): texto 09.

Gutiérrez, M., R. Ruíz e I. Benito. 2005. Recuperación de veillonellas a partir de saliva. *Revista Argentina de Microbiología*. 37:22-25.

Jackes, M., R. Sherburne, D. Lubell, C. Barker y M. Wayman. 2001. Destruction of Microstructure in Archeological Bone: a Case Study from Portugal. *International Journal of Osteoarcheology*. 11:415-432.

Jans, M., C. Nielsen-Marsh, C. Smith, M. Collins y H. Kars. 2004. Characterization of microbial attack on archaeological bone. *Journal of Archeological Science*. 31:87-95.

Koneman, E. 2001. Diagnóstico microbiológico texto y atlas a color. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 1432 pp.

Krieg, N. y J. Holt. 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology volume 1*. Williams & Wilkins. U.S.A. 964 pp.

Laskin, I. y A. Lechevalier. 1977. *Handbook of Microbiology*. CRC Press, Inc. EUA. p. 264.

Lenette, E., A. Balows, W. Hausler y H. Shadomy. 1987. *Manual de Microbiología Clínica*. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 1408 pp.

MacFaddin, J. 2003. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 850 pp.

Menacho, K. 2007. Etnoarqueología y estudios sobre funcionalidad cerámica: aportes a partir de un caso de estudio. *Intersecciones en Antropología*. 8:149- 161.

Molina, G. 2006. ¿Y qué pasa con los restos óseos de los antepasados? Una aportación a la discusión sobre el patrimonio cultural mexicano. *Trabajadores*. México. 56:27-28.

Notario, R. 2005. *Microbiología para el médico*. Editorial de la Universidad de Rosario. Argentina. 372 pp.

Núñez, C., L. Zaror y R. Ríos. 1975. Fiebre entérica por *Pseudomonas stutzeri*. *Revista Chilena Pediatría*. 46 (1): 60-62.

Salado, M. y L. Ríos. 2002. La importancia de la osteopatología en la identificación de restos óseos humanos. XV Simposio de Investigaciones arqueológicas en Guatemala 2001. 721-729 p.

Silva, L., N. Ramírez y A. Rodríguez. 2003. Papel de *Neisseria mucosa* en la Infección respiratoria: patógeno o comensal. *Acta Científica Estudiantil* 1(2):42-45.

Singleton, P. 1997. Bacterias en biología, biotecnología y medicina. Editorial Acribia S.A. España. 515 pp.

Singleton, P. y D. Sainsbury. 1987. Dictionary of microbiology and molecular biology. Wiley-Interscience Publication. Inglaterra. 1019 pp.

Terreros-Espinosa, E. 2006. Arqueología zoque de la región serrana tabasqueña. Estudios Mesoamericanos. 7: 29-43.

Videla, H., P. Guiamet y S. Gómez de Saravia. 2003. Biodeterioro de materiales estructurales de sitios arqueológicos de la civilización maya. Revista del Museo de La Plata. 44:1-11.