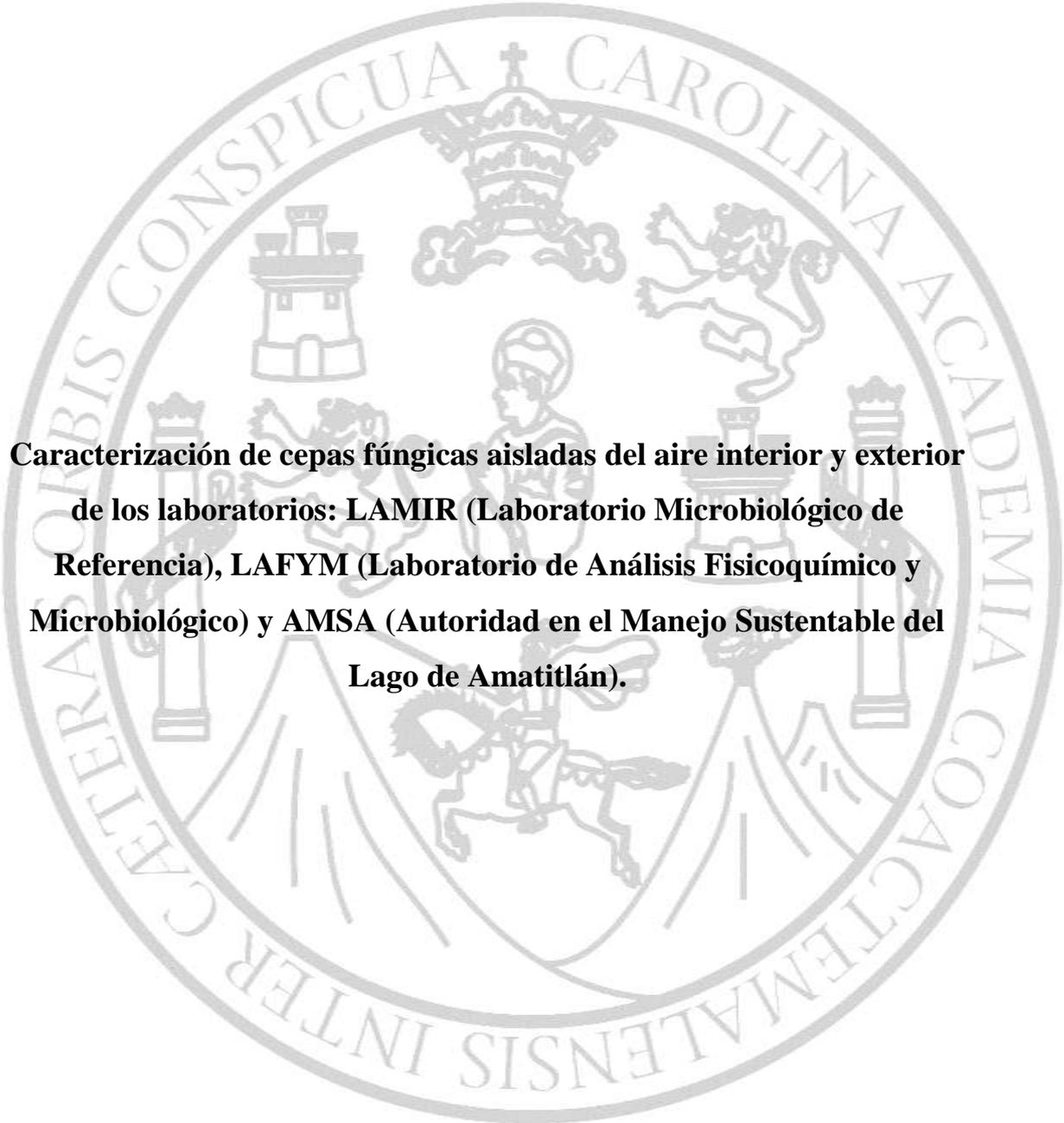


**Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**

The seal of the Universidad de San Carlos de Guatemala is a large, circular emblem in the background. It features a central figure of a man on horseback, surrounded by various heraldic symbols including a crown, a castle, and a lion. The Latin motto "CETERA SPERABIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER" is inscribed around the perimeter of the seal.

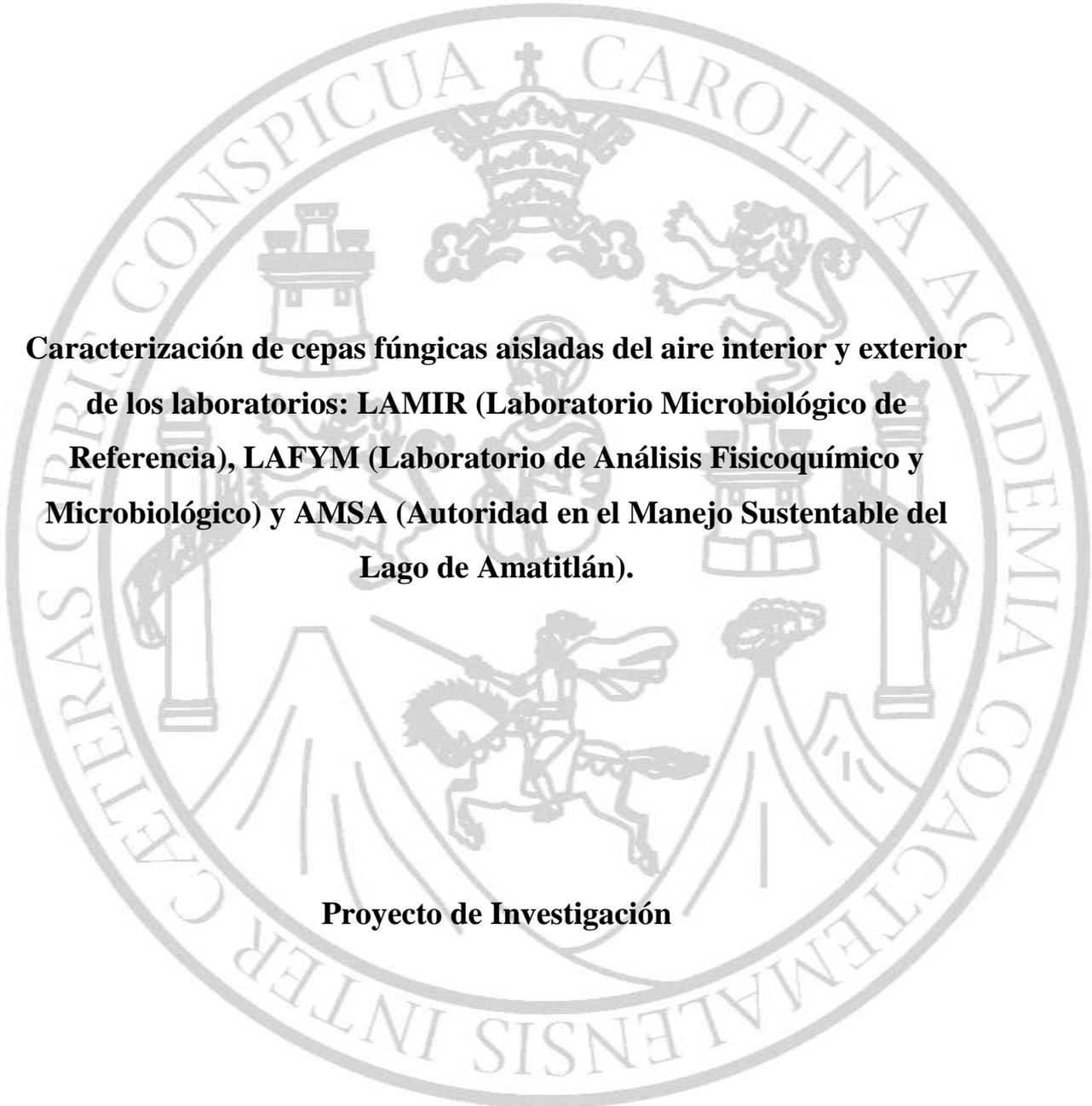
**Caracterización de cepas fúngicas aisladas del aire interior y exterior
de los laboratorios: LAMIR (Laboratorio Microbiológico de
Referencia), LAFYM (Laboratorio de Análisis Físicoquímico y
Microbiológico) y AMSA (Autoridad en el Manejo Sustentable del
Lago de Amatitlán).**

Jeimy Alexandra Quan Lam

Química Bióloga

Guatemala, Septiembre 2012

**Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**



**Caracterización de cepas fúngicas aisladas del aire interior y exterior
de los laboratorios: LAMIR (Laboratorio Microbiológico de
Referencia), LAFYM (Laboratorio de Análisis Físicoquímico y
Microbiológico) y AMSA (Autoridad en el Manejo Sustentable del
Lago de Amatitlán).**

Proyecto de Investigación

Presentado por
Jeimy Alexandra Quan Lam

Para optar al título de
Química Bióloga

Guatemala, Septiembre 2012

JUNTA DIRECTIVA

| | |
|--|------------|
| Oscar Cóbar Pinto, Ph.D. | Decano |
| Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A. | Secretario |
| Licda. Liliana Vides de Urizar | Vocal I |
| Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares | Vocal II |
| Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli | Vocal III |
| Br. Fausto René Beber García | Vocal IV |
| Br. Carlos Francisco Porras López | Vocal V |

DEDICATORIA

A:

Dios por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía a lo largo de este camino.

Mi padre que ya partió a la presencia del Altísimo, quien con su ejemplo me enseñó a ser perseverante y darme fuerzas para alcanzar mis metas y objetivos.

Mi madre, por darme la vida, quererme mucho, creer en mí y apoyarme siempre.

Mis hermanos, Mariee Andre y Francisco, por estar conmigo y apoyarme siempre, los quiero mucho.

A Javier por estar siempre a mi lado, por tu confianza y apoyo incondicional para seguir adelante y cumplir otra etapa en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Mi gratitud, especialmente dirigida Dios por su bondad, amor y por darme el aliento para seguir adelante.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, al claustro de profesores y en especial al personal del laboratorio LAMIR, por brindarme siempre su orientación con profesionalismo en la adquisición de conocimientos.

Igualmente a la Dra. Karin Herrera quien me ha orientado en todo momento, gracias por su confianza y apoyo.

A mis familiares y amigos cercanos, por su aprecio, paciencia y amor.

INDICE

| Contenido | Página |
|--|--------|
| I. Ámbito de investigación | 1 |
| II. Resumen | 2 |
| III. Antecedentes | 3 |
| A. Calidad del aire | 3 |
| B. Principales fuentes de emisión de contaminantes | 3 |
| C. Factores que influyen en la calidad del aire | 5 |
| D. Principales contaminantes atmosféricos | 6 |
| E. Directrices sobre la calidad del aire | 12 |
| F. Origen de los microorganismos | 14 |
| G. Hongos | 16 |
| 1. Generalidades | 16 |
| H. Hongos en el aire | 17 |
| 1. Aire exterior | 18 |
| a. Géneros fúngicos más comunes en el aire exterior | 18 |
| i. <i>Cladosporium</i> | 18 |
| ii. <i>Penicillium</i> | 20 |
| iii. <i>Aspergillus</i> | 21 |
| iv. <i>Alternaria</i> | 22 |
| v. <i>Rhizopus</i> | 23 |
| vi. <i>Fusarium</i> | 25 |
| 2. Aire interior | 26 |
| a. Géneros fúngicos más comunes en el aire interior | 27 |
| i. <i>Cladosporium</i> | 27 |
| ii. <i>Penicillium</i> | 28 |
| iii. <i>Streptomyces</i> | 28 |
| iv. <i>Aspergillus</i> | 28 |
| I. Niveles de esporas fúngicas en el aire | 29 |
| J. Efectos nocivos de los contaminantes para la salud | 30 |
| 1. Síndrome del edificio enfermo | 31 |
| 2. Focos de contaminación biológica dentro del edificio | 31 |
| K. Impacto en el personal que trabaja en laboratorios | 32 |
| L. Riesgos biológicos en ambientes interiores | 35 |
| 1. Causas potenciales de trabajo | 37 |
| 2. Manual de bioseguridad | 39 |
| M. Métodos de investigación de microorganismos | 42 |
| N. Cepas de referencia | 44 |
| O. Conservación de cepas | 45 |
| P. Técnicas de mantenimiento y conservación de microorganismos | 45 |
| Q. Estudios realizados en Guatemala | 47 |
| IV. Justificación | 49 |
| V. Objetivos | 50 |
| VI. Hipótesis | 51 |
| VII. Materiales y métodos | 52 |
| VIII. Aval de la unidad de investigación | 59 |
| IX. Resultados | 60 |
| X. Discusión de resultados | 65 |
| XI. Conclusiones | 74 |
| XII. Recomendaciones | 75 |

| | | |
|-------|----------------------------|----|
| XIII. | Referencias bibliográficas | 77 |
| XIV. | Anexos | 84 |

I. ÁMBITO DE INVESTIGACIÓN

Las enfermedades alérgicas constituyen un problema importante de salud pública en la mayoría de los países del mundo. Algunas son causadas por hongos oportunistas y pueden manifestarse de diversas formas en las personas que trabajan en áreas (interiores o exteriores) contaminadas por estos hongos, afectando a un grupo de individuos o exclusivamente a una persona.

En el Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR) se llevo a cabo el proyecto titulado “Impacto en la calidad microbiológica del aire externo en el ambiente interno en la salud del personal de cuatro laboratorios de instituciones públicas en la ciudad de Guatemala y Bárcenas, Villa Nueva”. Para lo cual se realizaron muestreos aerobiológicos mensuales del ambiente exterior e interior de los laboratorios y se obtuvieron varios aislamientos de hongos microscópicos y bacterias. Así también, se evalúa el impacto en la salud del personal, por medio de encuestas dirigidas al personal de cada uno de los laboratorios.

Esta investigación, que forma parte del proyecto macro, se centro en la identificación y clasificación hasta género de las diferentes especies de hongos microscópicos aislados. Se determinó con base en el predominio de las especies fúngicas, la calidad microbiológica del aire, tanto en ambientes exteriores como interiores de los laboratorios que se muestrearon.

Para ello, se realizaron muestreos mensuales del aire, tanto exterior como interior durante aproximadamente 6 meses, durante el período de octubre de 2008 a marzo de 2009. Se utilizo el método volumétrico por impactación con un biocolector de ranura, hasta obtener la carga fúngica en unidades formadoras de colonia por metro cúbico (UFC/m³). Los laboratorios a evaluar son el LAFYM (Laboratorio Físicoquímico y Microbiológico, ubicado en la antigua Facultad de Farmacia), LAMIR (Laboratorio Microbiológico de Referencia, ubicado en el Edificio T-12, Universidad de San Carlos de Guatemala) y AMSA (Autoridad del Manejo Sustentable del Lago de Amatitlán, ubicado en Bárcenas, Villanueva).

II. RESUMEN

Los laboratorios microbiológicos son ambientes de trabajo especiales, que pueden presentar riesgos de enfermedades como alergias, irritaciones y problemas respiratorios al personal expuesto a microorganismos aerobiológicos.

Debido al impacto que podría haber en la calidad del aire de los laboratorios microbiológicos y en el personal que labora en estos, se consideró evaluar los géneros fúngicos presentes en el aire de tres laboratorios, dos de ellos ubicados en la ciudad de Guatemala (LAMIR y LAFYM), y uno ubicado en Bárcenas, Villa Nueva (AMSA). Para evaluar la calidad del aire fue necesario realizar un muestreo para la selección de hora de mayor carga fúngica. Ya establecida esta hora se llevaron a cabo seis muestreos periódicos mensuales, abarcando época seca y época húmeda. Para ello, se empleó el método volumétrico por impactación utilizando un biolector Eco MAS 100 y agar Sabouraud con NaCl al 7.5%. El muestreo se llevó a cabo en tres puntos ubicados dentro del laboratorio y tres puntos ubicados en el aire exterior del laboratorio.

Se caracterizaron 16 géneros fúngicos, aislados de los diferentes laboratorios *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Monilia*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Rhodotorula*, *Scopulariopsis*, *Stenphylium*, *Trichophytum georgiae*, *Trichosporum* y levaduras. Los géneros fúngicos que se obtuvieron con mayor frecuencia en los tres laboratorios, en orden de predominancia son: *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*. Se consideró que el Laboratorio Microbiológico de Referencia presentó mayor diversidad de géneros fúngicos, debido a su ubicación en medio de los laboratorios del departamento de Microbiología.

La presencia de estos géneros fúngicos en el aire de los tres laboratorios demostró la necesidad de aplicar medidas correctivas con el fin de garantizar la salud del personal que allí labora.

III. ANTECEDENTES

A. Calidad del aire

Se entiende por contaminación atmosférica cualquier alteración de la atmósfera terrestre susceptible de causar impacto ambiental por la adición de gases o partículas sólidas o líquidas en suspensión en proporciones distintas a las naturales, que pueda poner en riesgo a personas, animales y plantas, así como atacar a distintos materiales, reducir la visibilidad o producir olores desagradables (1,2).

La ciudad de Guatemala, ha experimentado en las últimas dos décadas un rápido y desordenado crecimiento hacia los municipios que componen la totalidad del departamento, con limitaciones de infraestructura, servicios básicos y un incremento desmedido del tráfico vehicular. Este crecimiento ha traído como consecuencia un deterioro considerable en la calidad del aire que se respira, especialmente en zonas y horas pico de alto flujo vehicular, terminales de transporte, salida y acceso de autobuses; repercutiendo en el estado de salud de las personas y especialmente en el incremento de enfermedades respiratorias. Por lo que se hace necesario un estricto control de la fuente principal de la contaminación atmosférica: el parque automotor (1).

B. Principales fuentes de emisión de contaminantes en nuestro medio

1. Emisiones industriales

La quema de combustibles fósiles (petróleo, carbón, diesel, gasolina) para realizar los diferentes procesos; la emisión de productos o desechos químicos volátiles (ácidos, solventes, catalizadores) y la modificación de las condiciones ambientales (calor y liberación de partículas inertes que modifican la visibilidad y la penetración de la luz) pueden emitir contaminantes. Se considera que se producen más de 70,000 compuestos químicos diferentes, que se utilizan tanto en la industria como en otras actividades humanas y que de manera ineludible, van a parar tarde o temprano al medio u atmósfera. Muchos de estos contaminantes, producen importantes daños al ambiente y a la salud (2,3).

2. Emisiones por vehículos de motor

Estos se liberan por la quema de combustibles como el diesel y la gasolina. Este tipo de contaminación es particularmente importante donde hay grandes concentraciones urbanas. Sin embargo, sus efectos se empiezan a sentir en cualquier lugar del planeta. Los gases no reconocen fronteras. Entre los principales productos contaminantes se encuentran: el monóxido de carbono, los óxidos de nitrógeno, los óxidos de azufre, el plomo, las partículas sólidas y el ozono (4).

3. Contaminación en los hogares

Aunque sus proporciones pudieran parecer menores comparadas con las dos fuentes anteriores, los hogares contribuyen directamente a la contaminación atmosférica a través del uso de sustancias aerosoles (aspersores de aromatizantes o cosméticos, o en el anticongelante del refrigerador o del sistema de aire acondicionado) que contienen clorofluorocarbonos que dañan la capa de ozono; mediante la quema incompleta de gas; la incineración de basura o el uso de insecticidas. Además, el uso irracional del automóvil es una fuente directa de contaminación que afecta sensiblemente el ambiente. De manera indirecta en los hogares se produce contaminación atmosférica al desperdiciar energía (luz, calentadores, enfriadores, etc) y aumentar, con ello, la combustión de productos fósiles en termoeléctricas o hidroeléctricas (5,6).

4. Emisiones producidas por la incineración de basura

Hace unas cuantas décadas el progreso estaba asociado al deterioro ambiental. A nadie escandalizaba que el signo del éxito de las ciudades se representara por la presencia de múltiples fábricas. En ciertos momentos, parece que es un signo del hombre dejar deterioro y basura para mostrar que es poderoso y que tiene éxito. Esto debe cambiar, no se puede continuar produciendo diariamente miles de toneladas de basura en las diferentes ciudades del mundo; las que deben ser manejadas y procesadas con el consiguiente gasto de energía y producción de contaminantes (2,4).

Pese a que la contaminación del aire tiene manifestaciones perceptibles por los sentidos humanos, como olor, color, irritabilidad, etc.; no es un método confiable para

medir los niveles de contaminación del aire. Por lo tanto, es necesario recurrir a métodos científicos capaces de medir con exactitud la concentración de determinados contaminantes en el aire. Estas mediciones se conocen como “monitoreo de la calidad del aire” y son necesarias para poder determinar los posibles daños que sufrirá la salud de la población expuesta. Esto permitirá decidir las mejores medidas de control a adoptar y evaluar si las medidas adoptadas están surtiendo efecto (1).

En Guatemala, es importante que se realicen esfuerzos conjuntos con otras instituciones del estado y de la sociedad civil, para fortalecer el monitoreo del aire en la ciudad, así como para lograr la implementación del monitoreo en centros urbanos del interior de la República. Esto permitirá obtener datos de calidad del aire de una forma continúa que permitan el análisis y discusión referentes a su comportamiento, para ayudar a la prevención, mitigación y control de la contaminación del aire en nuestro país (7,8).

C. Factores que influyen en la calidad del aire

Cualquier análisis sobre la calidad del aire en la ciudad capital de Guatemala, debe considerar elementos y factores que influyen en la concentración de contaminantes, entre los que destacan: el relieve, las condiciones meteorológicas predominantes y el régimen de la precipitación pluvial, entre otros (1).

La posición geográfica de la ciudad de Guatemala y su entorno (de 14°30' a 14°45' de latitud Norte y de 90°15' a 90°45' de longitud Oeste), permite el predominio de vientos del Noreste en la capa de aire en contacto con la superficie terrestre; conforme se asciende en altitud la dirección del viento se va haciendo del Este hasta una altitud aproximada de 3,000 msnm como nivel de transición a vientos del Oeste en la parte superior de la troposfera. Esto se presenta durante la temporada de lluvias (mayo a octubre) y domina en la temporada fría (de noviembre a febrero), como parte de los sumideros naturales de la contaminación del aire (1).

Guatemala ha sufrido en los últimos años los impactos del exceso de precipitaciones pluviales y episodios de sequía. Estos eventos han dado como

resultados: la pérdida y deterioro de ecosistemas, la reducción de la calidad del aire y el aumento de enfermedades respiratorias (1,9).

La temporada de olas de calor (marzo y abril especialmente) se caracteriza por el enturbiamiento de la atmósfera por hidrometeoros (como la niebla, neblina y bruma) y por litometeoros como la clima y el humo; la emisión de contaminantes se incrementa (polvo y humo especialmente) y se produce mayor concentración sobre la ciudad de Guatemala. En esta época del año se conjuga una serie de factores y elementos climáticos, observables también en un cambio del perfil dominante del viento a componente Sur, desde la capa de aire en contacto con la superficie hasta altitudes medias o superiores de la troposfera en que el viento se torna variable y débil. En la región de la ciudad de Guatemala, coexisten factores y elementos climáticos que favorecen la dispersión de los contaminantes. Sin embargo, deberá tenerse en cuenta el crecimiento de la ciudad y su impacto en la emisión de contaminantes, al expandirse las concentraciones urbanas y residenciales hacia los municipios circunvecinos al municipio de Guatemala y que están convirtiendo a la ciudad en un prototipo de distrito metropolitano legal e infraestructuralmente no planificado (1).

D. Principales contaminantes atmosféricos

Los contaminantes atmosféricos son todas aquellas sustancias sólidas, líquidas o gaseosas susceptibles de viciar la atmósfera. El aire por naturaleza, es una mezcla de gases y partículas suspendidas. Está compuesto de componentes como el nitrógeno en un 78% y el oxígeno en un 21%; el restante 1% son componentes minoritarios beneficiosos. El vapor de agua, el ozono y de otros, pueden ser perjudiciales por sus niveles de concentración constituyéndose en contaminantes atmosféricos (1).

1. Precursores del ozono

El ozono es un agente contaminante secundario, no se emite directamente al aire. Pero es el resultado de una reacción química de sus precursores. El esmog o niebla espesa con humo y la contaminación hídrica son una causa importante, y es sabido que al evaporarse el agua se lleva una serie de contaminantes con ella. El ozono (O_3) es un

agente oxidante muy fuerte y es capaz de provocar alteraciones en el tracto respiratorio (2,3).

a. Definición y fuentes principales

El ozono a nivel del suelo, que no debe confundirse con la capa de ozono en la atmósfera superior, es uno de los principales componentes de la niebla tóxica. Éste se forma por la reacción con la luz solar (fotoquímica) de contaminantes como los óxidos de nitrógeno (NO_x) procedentes de las emisiones de vehículos o la industria y los compuestos orgánicos volátiles (COV) emitidos por los vehículos, los disolventes y la industria. Los niveles de ozono más elevados se registran durante los períodos de tiempo soleado (3,4).

b. Efectos sobre la salud

El exceso de ozono en el aire puede producir efectos adversos en la salud humana. Puede causar problemas respiratorios, asma, reducir la función pulmonar y originar otras enfermedades pulmonares. Actualmente se trata de uno de los contaminantes atmosféricos que más preocupan a nivel mundial. Un estudio europeo titulado “Uso de la variabilidad de la frecuencia cardiaca como marcador de los efectos cardiovasculares asociados con la contaminación del aire” reveló que la mortalidad diaria y mortalidad por cardiopatías aumenta un 0,3% y un 0,4% respectivamente con un aumento de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en la concentración de ozono (2).

2. Óxidos de nitrógeno

Están compuestos de monóxido de nitrógeno (NO) y de dióxido de nitrógeno (NO_2). Estos agentes reaccionan con el agua y forman ácido nítrico (HNO_3) que acidifica los suelos (4)

Los óxidos de nitrógeno originan disminución de la visibilidad, corrosión de materiales y la disminución en el crecimiento de algunas especies vegetales de importancia agrícola. La exposición a estos, puede causar disminución de la función pulmonar, incrementar problemas respiratorios e influir en la evolución de enfermedades (5,6).

a. Definición y fuentes principales

Como contaminante atmosférico, el NO_2 puede correlacionarse con varias actividades:

- En concentraciones de corta duración superiores a 200 mg/m^3 , es un gas tóxico que causa una importante inflamación de las vías respiratorias.
- Es la fuente principal de los aerosoles de nitrato, que constituyen una parte importante de las $\text{PM}_{2.5}$ y del ozono en presencia de luz ultravioleta.

Las principales fuentes de emisiones antropogénicas de NO_2 son los procesos de combustión (calefacción, generación de electricidad y motores de vehículos y barcos) (2,3).

b. Efectos sobre la salud

Un estudio titulado “Efectos de la polución del aire en la función respiratoria de escolares, Rio de Janeiro, Sureste de Brasil” ha revelado que los síntomas de bronquitis en niños asmáticos aumentan en relación con su exposición prolongada. La disminución del desarrollo de la función pulmonar también se asocia con las concentraciones de NO_2 registradas (u observadas) actualmente en ciudades europeas y norteamericanas (11).

3. Óxidos de azufre

Los óxidos de azufre, principalmente SO_2 y SO_3 , son emitidos por refinerías de acero y fundiciones; las que provocan un gran impacto ambiental a los componentes aire y suelo (3).

El SO_2 es emitido cuantitativamente en mayor medida que el SO_3 . Este último es altamente hidrocópico y se combina con el agua atmosférica para dar origen a la lluvia ácida compuesta por ácido sulfúrico (H_2SO_4). Este compuesto provoca erosión química en los suelos por su poder desfoliante y muerte de la vida vegetal (6,7).

a. Definición y fuentes principales

El SO₂ es un gas con un olor penetrante generado por la combustión de fósiles (carbón y petróleo) y la fundición de rocas o menas que contienen azufre. La principal fuente antropogénica del SO₂ es la combustión o incineración de fósiles que contienen azufre usados para la calefacción doméstica, la generación de electricidad y los vehículos a motor (3).

b. Efectos sobre la salud

El SO₂ puede afectar al sistema respiratorio, las funciones pulmonares y causar irritación ocular. La inflamación del sistema respiratorio provoca tos, secreción mucosa y agravamiento del asma, bronquitis crónica y aumenta la debilidad de las personas a contraer infecciones (2).

4. Material particulado de 10 μ (PM10)

Estos contaminantes son partículas consideradas inertes, sin embargo constituyen el componente sólido del smog o niebla espesa con humo. Su masa es tan mínima que la fuerza de gravedad no es capaz de atraerla al suelo permaneciendo como material en suspensión en el aire. En las redes de monitoreo ambiental, la medición de este parámetro determina las medidas contra la contaminación atmosférica (2,5).

Las partículas sólidas o líquidas en suspensión en el aire se constituyen principalmente de:

- polvo (proviene de la erosión de los suelos o de la actividad volcánica)
- polen (en ciertos periodos del año)
- residuos de combustión incompleta conocidos coloquialmente como hollín y humo (sobre todo debidos a los transportes).
- procesos industriales, como la tala de árboles (2,3).

La ligereza de estas partículas y su tamaño (aproximadamente 100 μm) les permite dispersarse con el viento. Pueden penetrar profundamente en los pulmones causando alergias, dificultades respiratorias o incluso cáncer en ciertos casos (1,3).

Las PM afectan a más personas que cualquier otro contaminante y sus principales componentes son los sulfatos, los nitratos, el amoníaco, el cloruro sódico, el carbón, el

polvo de minerales y el agua. Las PM consisten en una compleja mezcla de partículas líquidas y sólidas de sustancias orgánicas e inorgánicas suspendidas en el aire. Las partículas se clasifican en función de su diámetro aerodinámico en PM_{10} (partículas con un diámetro aerodinámico inferior a $10\ \mu m$) y $PM_{2.5}$ (diámetro aerodinámico inferior a $2,5\ \mu m$). Estas últimas suponen mayor riesgo porque al inhalarlas pueden alcanzar las zonas periféricas de los bronquiolos y alterar el intercambio pulmonar de gases (10).

Los efectos de las PM sobre la salud se producen a los niveles de exposición a los que está sometida actualmente la mayoría de la población urbana y rural de los países desarrollados y en desarrollo. La exposición crónica a las partículas aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares así como de cáncer de pulmón. Estas partículas son vehículos de transporte para hongos, virus y bacterias que producen enfermedades respiratorias. En los países en desarrollo, la exposición a los contaminantes derivados de la incineración de combustibles sólidos en fuegos abiertos y cocinas tradicionales en espacios cerrados aumenta el riesgo de infección aguda en las vías respiratorias inferiores y la mortalidad por esta causa, en los niños pequeños. La polución atmosférica en espacios interiores procedente de combustibles sólidos constituye también un importante factor de riesgo de enfermedad pulmonar obstructiva crónica y cáncer de pulmón entre los adultos. La mortalidad en ciudades con niveles elevados de contaminación supera entre un 15% y un 20% a la registrada en ciudades más limpias (11).

5. Compuestos orgánicos

Los compuestos orgánicos volátiles son hidrocarburos que se pueden emitir por factores antropogénicos (producción de gasolina, emanación de disolvente) y también por la vegetación (11).

6. Gases de efecto invernadero

a. Dióxido de carbono

El dióxido de carbono en el aire no es tóxico y favorece el crecimiento de las plantas, pero puede llegar a ser tóxico en ambientes cerrados. Su peligro ambiental radica en que el exceso de dióxido de carbono es la principal forma de contaminación responsable del proceso de calentamiento global (6,7).

b. Metano

El metano (CH_4) es perjudicial por su gran contribución al efecto invernadero. Tiene una capacidad de retención de calor 21 veces superior a la del CO_2 (4,5). Las fuentes son:

- Fermentación.
- Gas de digestión en los animales del ganado (rumiantes, sobre todo).
- Cultivo de arroz.
- Gas natural.

c. Clorofluorocarbonos (CFC) y similares

Desde los años 1960, se ha demostrado que los (CFC) también llamados "freones" tienen efectos potencialmente negativos, ya que contribuyen de manera importante a la destrucción de la capa de ozono en la estratósfera, así como a incrementar el efecto invernadero (6,7).

Estos son utilizados en los sistemas de refrigeración y de climatización por su fuerte poder conductor, y son liberados a la atmósfera en el momento de la destrucción de los aparatos viejos. Así también como propelente en los aerosoles, liberándose en cada utilización. Es por ello que los aerosoles utilizan otros gases sustitutivos, como el CO_2 (7).

d. Otros gases

- **Monóxido de carbono:** es uno de los productos de la combustión incompleta. Es peligroso para las personas y los animales, ya que se fija en la hemoglobina de la sangre, impidiendo el transporte de oxígeno en el organismo. Es un gas inodoro por lo que las personas al entrar en contacto con este y sentir un ligero dolor de cabeza ya es demasiado tarde. Se diluye muy fácilmente en el aire ambiental, pero en un medio cerrado su concentración lo hace muy tóxico, incluso mortal. Cada año aparecen varios casos de intoxicación mortal, a causa de aparatos de combustión puestos en funcionamiento en una habitación mal ventilada (8,11).

A través del monitoreo del aire se obtienen parámetros que identifican el tipo de sustancias y cifras comparativas que permiten determinar su tendencia de comportamiento y en que medida están sobrepasando los límites recomendados o valores guía tanto de la Organización Mundial de la Salud (OMS) como de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de Norteamérica (4,10).

E. Directrices sobre la calidad del aire

La contaminación, tanto en espacios interiores como al aire libre, constituye un grave problema de salud medioambiental que afecta por igual a los países desarrollados y en desarrollo. Las directrices sobre calidad del aire elaboradas por la OMS en 2005, están concebidas para ofrecer una orientación mundial a la hora de reducir las repercusiones sanitarias de la contaminación del aire. Las primeras directrices, publicadas en 1987 y actualizadas en 1997, se circunscribían al ámbito europeo. Las del 2005, son aplicables a todo el mundo y se basan en una evaluación de pruebas científicas llevada a cabo por expertos. En ellas se recomiendan nuevos límites de concentración para algunos contaminantes en el aire, entre ellas partículas en suspensión (PM), ozono (O₃), dióxido de nitrógeno (NO₂) y dióxido de azufre (SO₂) y son de aplicación en todas las regiones de la OMS (4,10).

1. Hallazgos fundamentales de las directrices sobre calidad del aire de 2005:

- Existen graves riesgos para la salud derivados de la exposición a las PM y al O₃ en numerosas ciudades de los países desarrollados y en desarrollo. Es posible establecer una relación cuantitativa entre los niveles de contaminación y resultados concretos relativos a la salud como el aumento de la mortalidad o la morbilidad. Este dato resulta útil para comprender las mejoras en materia de salud si se reduce la contaminación del aire.
- Los contaminantes atmosféricos, incluso en concentraciones relativamente bajas, se han relacionado con una serie de efectos adversos para la salud.
- La mala calidad del aire en espacios interiores puede suponer un riesgo para la salud de más de la mitad de la población mundial. En los hogares donde se emplea la combustión de biomasa y carbón para cocinar y como calefacción, los niveles de PM pueden ser entre 10 y 50 veces superiores a los recomendados en las directrices.
- Puede lograrse una considerable reducción de la exposición a la contaminación atmosférica si se reducen las concentraciones de varios de los contaminantes atmosféricos más comunes que se emiten durante la combustión de fósiles. Tales medidas reducirán también los gases de efecto invernadero y contribuirán a mitigar el calentamiento global (6,10).

Además de los valores recomendados para la contaminación atmosférica al aire libre, las directrices proponen unas metas provisionales para cada contaminante, con el fin de fomentar la reducción gradual de sus concentraciones. Si se alcanzarán estas metas, debería esperarse una considerable reducción del riesgo de efectos agudos y crónicos sobre la salud.

Tabla No.1 Valores de contaminantes fijados por la OMS

| Contaminantes | Valores fijados |
|-------------------------|--|
| PM_{2,5} | 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de media anual 25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de media en 24h |
| PM₁₀ | 20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de media anual 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de media en 24h |
| O₃ | 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de media en 8h |
| NO₂ | 40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de media anual 200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de media en 1h |
| SO₂ | 20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de media en 24h 500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de media en 10 min |

Fuente: Air quality guidelines for Europe, 2nd ed. Copenhagen, World Health Organization Regional Office for Europe, 2000 (WHO Regional Publications, European Series, No. 91).

F. Origen de los microorganismos

En el aire hay microorganismos, aunque no se puede asegurar que existe un verdadero “aeroplankton” en el que viven, alimentan y reproducen permanentemente. Muchos microorganismos que viven en la hidrosfera y litosfera pueden encontrarse en el aire. Son microbios alóctonos, procedentes del suelo, agua y seres vivos que pueblan estos ambientes. Los movimientos del aire y de los seres vivos son los que sitúan a los microorganismos en la atmósfera. Junto al suelo hay una capa laminar de aire que impide el paso fácil de microorganismos del suelo al aire, por lo que se necesita de una fuerte corriente de aire que levante polvo del suelo o agua de sus depósitos (mares, ríos) (9).

Las plantas en sus movimientos de dehiscencia y diseminación (polen, esporas) así como los animales en sus actos respiratorios normales y anormales (estornudos) lanzan estos microorganismos. A menudo, tanto las esporas como los microorganismos vegetativos entran en la atmósfera como bioaerosoles, los que pueden formarse por muchas causas: lluvia, movimiento del agua en los ríos y mar, tratamiento de aguas residuales, aspersores de riego, aire acondicionado o secreciones respiratorias del hombre y de los animales. Ésta última es muy importante en la dispersión de bacterias patógenas y virus animales. Los microorganismos también pueden encontrarse en el aire sobre partículas de polvo o en el suelo (9).

1. Tipos de microorganismos

El aire contiene en suspensión diferentes tipos de microorganismos, especialmente bacterias y hongos. La presencia de uno u otro tipo depende del origen, de la dirección e intensidad de las corrientes de aire y de la supervivencia del microorganismo. Algunos microorganismos se encuentran en forma de células vegetativas, pero lo más frecuente son las formas esporuladas, ya que las esporas son metabólicamente menos activas y sobreviven mejor en la atmósfera porque soportan la desecación. Las producen hongos, algas, líquenes, algunos protozoos y bacterias (11).

En el aire se aíslan frecuentemente bacterias esporuladas de los géneros *Bacillus*, *Clostridium* y Actinomicetos. Entre las bacterias también son muy frecuentes los bacilos pleomórficos Gram positivos (*Corynebacterium*) y los cocos Gram positivos (*Micrococcus* y *Staphylococcus*). Los bacilos Gram negativos (*Flavobacterium*, *Alcaligenes*) se encuentran en menor proporción y disminuyen con la altura. *Cladosporium* es el hongo que predomina en el aire, tanto sobre la tierra como sobre el mar, aunque también es frecuente encontrar otros mohos, como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Mucor* y la levadura *Rhodotorula*. Los virus también pueden encontrarse en el aire y ser transportados por él (12).

Numerosos virus humanos (Orto y Paramixovirus, Poxvirus, Picornavirus) se transmiten por vía respiratoria, principalmente en ambientes cerrados, y pueden formarse bioaerosoles de virus entéricos en las plantas de tratamiento de aguas residuales. Por otro lado, pueden encontrarse virus de vegetales en aerosoles procedentes de plantas infectadas. Se han descrito numerosos géneros de algas aisladas del aire los que proceden del suelo y de lagos eutróficos. Así mismo, amebas de vida libre como *Naegleria* y *Acanthamoeba* pueden ser aerolizadas de forma natural (lagos, manantiales termales) o artificial (sistema de aire acondicionado o humidificadores) (11).

G. Hongos

1. Generalidades

Los hongos son un reino de seres vivos unicelulares o pluricelulares que no forman tejidos y cuyas células se agrupan formando un cuerpo filamentosos muy ramificado (9).

El conjunto de filamentos de un hongo se llama micelio y cada filamento se denomina hifa. A veces las células que forman el micelio pueden parecer falsos tejidos. Las células de los hongos tienen una pared celular de quitina, sustancia propia de los animales artrópodos. Raramente acumulan también celulosa (9).

Los hongos tienen alimentación heterótrofa, puesto que no pueden realizar la fotosíntesis al carecer de clorofila. Tienen digestión externa, vierten al exterior enzimas digestivas y sustancias proteicas que actúan sobre los alimentos dividiéndolos en moléculas sencillas, las que atacan a los alimentos. Los hongos absorben los alimentos después de digerirlos (13).

Dentro del esquema de los cinco reinos de Wittaker y Margulis, los hongos pertenecen en parte al reino protista (los hongos ameboides y los hongos con zoosporas) y al reino Fungi (el resto). En el esquema de ocho reinos de Cavalier-Smith pertenecen en parte al reino Protozoa (los hongos ameboides), al reino Chromista (los Pseudofungi) y al reino Fungi todos los demás (14).

Los hongos pueden formar simbiosis basadas en asociaciones con algas líquenes o con otro grupo en forma de micorrizas. Acompañan a la mayor parte de las plantas, residiendo en sus raíces y ayudándolas a absorber nutrientes del suelo. Se piensa que esa simbiosis fue esencial para la conquista del medio terrestre por las plantas y para la existencia de los ecosistemas continentales (14).

Los hongos tienen una gran importancia económica para los humanos. Entre ellos las levaduras son las responsables de la fermentación de la cerveza y el pan así como el cultivo de setas que es una gran industria en muchos países (15).

Hay variaciones estacionales en el número de los hongos en la atmósfera. Los hongos son típicamente más abundantes en verano que en el resto del año debido a factores como la temperatura, humedad relativa del aire, exposición a la luz solar, etc. (13).

Cuando la humedad relativa del aire decrece, disminuye el agua disponible para los microorganismos, lo que causa deshidratación y por tanto la inactivación de muchos de ellos. La desecación puede causar una pérdida de viabilidad en las capas más bajas de la atmósfera, especialmente durante el día. A mayores altitudes, las condiciones son más favorables por la evaporación y algunas esporas pueden germinar en las nubes. La humedad relativa de la atmósfera varía de un 10-20 % en las regiones desérticas. El límite menor para el crecimiento de hongos es del 65 % (13).

La temperatura está muy relacionada con la humedad relativa, por lo que es difícil separar los efectos que producen ambas. La temperatura en la troposfera varía de 40° C cerca de la superficie a -80° C en las capas altas, alcanzándose temperaturas de congelación entre 3-5 Km. La congelación no destruye los microorganismos pero no pueden multiplicarse. Diversos estudios muestran que el incremento de la temperatura disminuye la viabilidad de los microorganismos (13).

H. Hongos en el aire

De todos los tipos de microorganismos presentes en la atmósfera, las esporas de los hongos (células encargadas de la reproducción) representan el grupo más numeroso. Estas esporas alcanzan concentraciones muy significativas en determinadas épocas (15). Las esporas fúngicas son componentes normales de ambientes externos. El aire de muchos ambientes internos también contiene esporas. Actualmente, se conoce que el aire presente en los ambientes exteriores puede ser la fuente de esporas fúngicas contaminantes de los ambientes internos (15).

El crecimiento de hongos en sistemas de aire acondicionado y edificios puede producir en sus habitantes determinadas patologías entre las que cabe destacar asma y alveolitis alérgicas. La contaminación ambiental por hongos en el interior de edificios, es debida básicamente a hongos filamentosos y levaduras (13,16).

Muchas especies de hongos se pueden diferenciar, identificar y clasificar según su morfología, estructura, mecanismo de formación y elementos formadores de las esporas. El conocimiento de estas características puede ser suficiente para identificar especies que pertenecen al grupo de los hongos filamentosos (16,17).

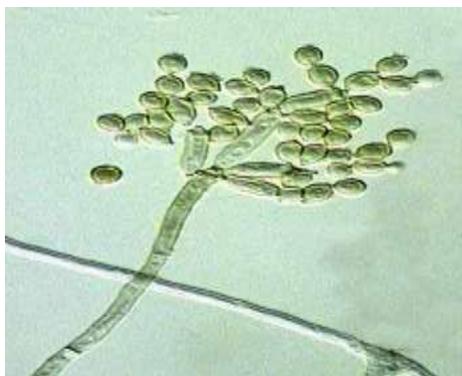
1. Aire exterior

En el ambiente exterior predominan las esporas de hongos. Los hongos de exteriores como *Cladosporium* y *Alternaria* están presentes en la atmósfera. Los principales hongos productores de alergias en el medio ambiente son *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus* (14,28).

a. Géneros fúngicos más comunes en el aire exterior

- i. *Cladosporium*: hongo filamentososo con conidióforos (de hasta 250 x 3-6 µm). Posee cadenas ramificadas de conidios elipsoides o cilíndricos de extremos redondeados (5,5-13 x 3,8-6 µm), formados por gemación sucesiva del conidio anterior. Las conidias son café, ovaladas usualmente lisas que forman cadenas de ramificaciones, las que no son fácilmente separables (13,17). Colonias de crecimiento lento, planas, finamente vellosas, aterciopeladas o lampiñas, de color verde oliva a pardo oliva, reverso negro oliva (13). (Figura 1).

Figura No. 1: *Cladosporium* sp.



Fuente: Rivas, S. Y Thomas C.M., 2005. Las interacciones moleculares entre el tomate y la hoja moldean el patógeno: Fulvum del *Cladosporium*. Revisión anual de *Phytopathology* 43: 395-436.

Las células que sostienen los conidios son largas y semejan un escudo de gladiador, y pueden ser confundidas con macroconidias cuando son vistas solas (9).

Los conidios de *Cladosporium* se encuentran frecuentemente en el aire libre en las zonas templadas del planeta. Produce abundantes conidios que pueden encontrarse en la atmósfera a lo largo del año, con mayores concentraciones en las últimas semanas de verano y primeras del otoño, especialmente en zonas boscosas y en el centro de las ciudades. Coloniza frecuentemente hojas y plantas, especialmente gramíneas, suelo y alimentos. Cuando se siega el césped o se podan los árboles aumenta considerablemente el número de conidios aerotransportados a largas distancias (13).

Las concentraciones de conidios por metro cúbico son hasta diez veces mayores que las de polen y se han llegado a contar hasta 35000 conidios por metro cúbico. La temperatura óptima de crecimiento se sitúa entre 18 y 28 °C, pero también puede crecer a temperaturas tan bajas como -6 °C. Este hongo se ha aislado de lugares tan diversos como tejados de paja, depósitos de combustible, cremas faciales, pinturas o ropa. Los conidios penetran en el interior de las casas y se encuentran en frigoríficos sucios, puede crecer sobre las bandejas de plástico de los refrigeradores domésticos, en ventanas de madera si están mojadas y en casas situadas en ambientes húmedos y mal ventilados. La concentración de conidios en espacios cerrados es un reflejo de la elevada concentración de conidios en el exterior (13). Es un hongo de exterior extraordinariamente frecuente, su poder de sensibilización es menor que la *Alternaria*, sin embargo de producirse alergia a éste los síntomas son los mismos pudiendo prolongarse la duración de ellos durante todo el año, con una leve disminución en invierno (16).

Cladosporium no es patógeno para los seres humanos, pero en climas cálidos, puede producir infecciones cutáneas, subcutáneas (feohifomicosis o cromomicosis) y queratitis. Estas infecciones tienen un desarrollo lento su tratamiento incluye la exéresis quirúrgica de los tejidos afectados en combinación con el empleo de anfotericina B (32).

También se ha asociado a sinusitis e infecciones pulmonares. Las esporas aerotransportadas de *Cladosporium* son alergénicas, y en cantidades grandes pueden afectar seriamente a personas asmáticas o con enfermedades respiratorias. La exposición prolongada puede debilitar el sistema inmune (32).

- ii. *Penicillium*: las especies de este género son reconocidas por su denso cepillar como las estructuras del espóra-cojinete. Los conidióforos son simples o ramificados y son terminados por los racimos de fialides en forma de botella. Las esporas (conidios) se producen en cadenas secas de las extremidades de los fialides, con la espóra más joven en la base de la cadena y son casi siempre verdes. La ramificación es una característica importante para identificar especie del *Penicillium*. Algunos no son ramificados y llevan simplemente un racimo de fialides en la tapa del estípote, otros pueden tener un racimo de ramas y en cada cojinete un racimo de fialides. Estos tres tipos de sistemas del cojinete de la espóra (penicilli) se llaman monoverticillate, biverticillate y terverticillate respectivamente (15). De la métula surgen las fialides, varias de cada una (generalmente tres) y de estas surgen las conidias en cadenas, no ramificadas las que pueden ser lisas o rugosas. La apariencia de este hongo es de “pincel” o de “cepillo” (17). (Figura No.2).

Figura No. 2: *Penicillium* sp.



Fuente: Frisvad JC. 1981. Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric *Penicillia*. *Applied and Environmental Microbiology* 45: 68-579.

Es un género grande y que se encuentra en casi todas partes, y siendo el género de hongos más abundante en suelos. La fácil proliferación de los

Penicillium en los alimentos es un problema. Algunas especies producen toxinas y pueden hacer el alimento no comestible o aún peligroso (15). Hongo saprófito se alimenta de desechos, encontrado de preferencia en interiores. Su nutrición comprende comidas descompuestas, quesos, etc. Se le asocia con asma, rinitis, y en forma ocasional y rara a neumonitis de hipersensibilidad. La alergia a este hongo no se relaciona con la alergia a la penicilina (28).

- iii. *Aspergillus*: los hongos se pueden clasificar en dos formas morfológicas básicas: las levaduras y las hifas. El género *Aspergillus* es un hongo filamentoso. El hábitat natural del *Aspergillus* es el heno y el compostaje. Tienen hifas tabiculares y conidioforas cuya cabeza está localizada en el extremo de un hifa, compuesta por una vesícula rodeada por una corona de fiálides en forma de botella directamente insertadas sobre la vesícula. De las fiálides se desprenden las esporas (conidios) (16). (Figura 3).

Figura No. 3: *Aspergillus* sp



Fuente: Bayman P *et al.* 2002. Ochratoxin production by the *Aspergillus ochraceus* group and *Aspergillus alliaceus*. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 2326-2329.

Aspergillus es un ejemplo de lo que denominamos "patógeno oportunista", es decir, que suele afectar a pacientes con mecanismos de defensa comprometidos. Entre los factores de patogenicidad de este hongo se encuentran: el pequeño tamaño de sus conidias que permite que sean aspiradas y que pueda causar infección en el pulmón y en los senos paranasales. Su capacidad de crecer a 37°C, lo que le hace idóneo para afectar al humano. Su capacidad de adherencia a superficies epiteliales y

posiblemente endoteliales y su gran tendencia a invadir los vasos sanguíneos. La producción de un gran número de productos extracelulares tóxicos para las células de los mamíferos (elastasa, restrictocina, fumigatoxina, etc.) (22,28).

Este género puede ser un colonizador, causar enfermedad alérgica, infección local o ser responsable de cuadros invasivos de gran gravedad. Las infecciones causadas por este microorganismo son: Onicomycosis, Otomicosis, Sinusitis alérgica (los senos paranasales están ocupados por moco rico en eosinófilos, cristales de Charcott-Leyden e hifas). Aspergilosis broncopulmonar alérgica que suele deberse a la inhalación de conidias e hifas de *Aspergillus*. El paciente presenta eosinofilia, infiltrados pulmonares hemorrágicos, bronquiectasias centrales y una prueba cutánea positiva para *Aspergillus*. Así como Aspergilosis pulmonar invasiva necrosante (33).

- iv. *Alternaria*: es un hongo aislado predominantemente de exteriores, por excelencia se registra en las muestras de aire sobretodo en primavera-verano y especialmente a principios de otoño. Prefiere sitios húmedos y con material orgánico por lo que hojas caídas, pastizales, regadíos, etc., son los lugares donde se encuentran en mayores concentraciones. Como hongo saprobio puede deteriorar alimentos y forrajes, produciendo compuestos biológicamente activos tal como micotoxinas. Como patógeno reduce el rendimiento de las cosechas o afecta a los vegetales almacenados. Es necesaria una identificación precisa de las especies porque cada nombre entraña un conjunto de características (preferencias para el crecimiento, patogenicidad, producción de metabolitos secundarios) que permiten predecir el comportamiento del hongo. Los conidios de *Alternaria* tienen septos transversales y longitudinales y se los conoce como dictiosporas, además son pardos y picudos (Figura 4).

Nacen por la brotación apical de una célula conidiógena o de la espora anterior, dando lugar en este último caso a una cadena que suele ramificarse si una espora produce más de un brote. Cuando las especies de *Alternaria* crecen en medios ricos y en la obscuridad bajo condiciones ambientales no

controladas, se forma un exceso de micelio aéreo que afecta al desarrollo tridimensional de la esporulación. Al hacer las preparaciones húmedas se destruyen las estructuras y como resultado solo se observan conidios (15).

Figura No. 4: *Alternaria* sp.



Fuente: Morisseau C *et al.* Multiple epoxide hydrolases in *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* and their relationship to medium composition and host-specific toxin production. Applied and Environmental Microbiology 65: 2388-2395.

Es un hongo de los que se registran con mayor frecuencia en las muestras de aire atmosférico. Habita en hojas caídas, plantas y material orgánico en descomposición, y sus esporas flotan en el aire. Se registra todo el año, pero más en los días calurosos y húmedos. Su presencia en el interior de las viviendas es reflejo de su concentración exterior y la proporción encontrada entre aire exterior e interior es de 4 a 1 aproximadamente (23,28).

Las especies de *Alternaria* sp. se reportan en enfermedades pulmonares alérgicas como la neumonitis por hipersensibilidad causada por la exposición al trabajo de maderas (pulpa de madera enmohecida) en la industria (17,30).

- v. *Rhizopus*: es un género de mohos que incluye especies cosmopolitas de hongos filamentosos hallados en el suelo, degradando frutos y vegetales, heces animales y residuos. Las especies de *Rhizopus* producen esporas asexuales y sexuales. Los esporangiosporos asexuales se producen dentro de una estructura aguzada, el esporangium y son genéticamente idénticos a su padre. En *Rhizopus*, el esporangio es soportado por una gran columela apofisada, y el esporangióforo asoma entre rizpodes distintivos. Cigosporos negros se producen después de dos fusiones compatibles de micelios durante

la reproducción sexual. Y hacen colonias que pueden ser genéticamente diferentes de sus padres (15). (Figura 5)

Figura No. 5: *Rhizopus* sp.



Fuente: Kobayasi S., Okazaki N., Koseki T. Purificación y caracterización de una sustancia antibiótica producida por *Rhizopus oligosporum*. 1992.

Algunas spp. de *Rhizopus* son agentes oportunistas de cigomicosis humana. Pueden causar serias (y con frecuencia fatales) infecciones en humanos y en animales debido a su rápido crecimiento a relativamente altas temperaturas. Algunas especies son patógenos vegetales. Dos son usados en fermentación: *Rhizopus oligosporus*, en la producción de tempeh, un alimento fermentado derivado de grano de soja; *R. oryzae* se usa en la producción de bebidas alcohólicas, en partes de Asia y de África (11,18).

Se encuentra con frecuencia en suelos con arena, en el compost, en el polvo de las casas, en la pulpa de la madera, estiércol, panales de abejas, nidos y plumas de aves y en diferentes frutos y semillas. Las esporas de estos hongos no son abundantes en el aire libre, aunque su frecuencia aumenta en lugares donde hay humedad y se acumula vegetación muerta. La exposición a concentraciones elevadas de esporangiosporas de *Rhizopus* se ha descrito como causa de alveolitis alérgica extrínseca (pulmón de serrador) enerrerías suecas. Se ha observado una pequeña proporción de pacientes con reactividad cutánea a *Rhizopus* sp. Puede ser un patógeno oportunista en personas inmunosuprimidas y se han descrito casos de micosis rinocerebrales en diabéticos (34).

- vi. *Fusarium*: es un extenso género de hongos filamentosos ampliamente distribuido en el suelo y en asociación con plantas. La mayoría de las especies son saprofitas y son unos miembros relativamente abundantes de la microbiota del suelo. Las esporas del hongo son fácilmente reconocibles al microscopio por su forma de media luna o de canoa (Figura 6). Algunas especies producen micotoxinas en los cereales y que pueden afectar a la salud de personas y animales si estas entran en la cadena alimentaria. La principal toxina producida por estas especies de *Fusarium* son fumonisinas. Son patógenos facultativos, capaces de sobrevivir en el agua y suelo alimentándose de materiales en descomposición. Son importantes agentes de contaminación en los laboratorios de microbiología (16).

Figura No. 6: *Fusarium* sp.



Fuente: Booth C. 1971. The Genus *Fusarium*. CMI. Kew, Surrey. pp. 19-31.

Las infecciones por el género *Fusarium* se incluyen dentro de las hialohifomicosis, esto es, las causadas por hongos oportunistas que presentan hifas hialinas septadas. También se encuentra la Queratitis la cual se puede producir tras la colonización de lentes de contacto, por conidias aerosolizadas en ambientes particularmente contaminados, o por traumatismos con ramas de árboles o plantas. La Onicomicosis que se caracteriza por la aparición de manchas blancas en la base de la uña que se extienden hacia el extremo libre, pudiendo ocasionar opacidad total de la uña, engrosamiento de su borde y, si progresa, destrucción de una parte o la totalidad de ésta. Se asocia generalmente con pequeños traumatismos en personas que trabajan con plantas, tierra, etc. (19).

Su amplia distribución se atribuye a su capacidad para crecer en gran número de substratos y a su eficaz mecanismo de dispersión; el viento y la lluvia juegan un importante papel en su diseminación. Se ha demostrado que el aire puede llevar las esporas hasta 400 km de distancia (17,19).

2. Aire interior

Las condiciones climatológicas de países tropicales, especialmente con alta humedad y temperatura, son idóneas para el desarrollo de una variedad de microorganismos específicamente los hongos. Los hongos más comunes existentes en el polvo de origen doméstico pueden fácilmente pasar al aire; y si se dan las condiciones adecuadas para su desarrollo, en cuanto a temperatura y humedad relativa, pueden encontrarse en cualquier tipo de material (como alfombras, moquetas, empapelado de una pared, etc.) donde crecen desmesuradamente, proyectando al ambiente un número elevado de esporas con el consiguiente riesgo para la salud (14,28).

Muchos de los alérgenos de interior son los mismos que se encuentran en el exterior de los edificios, penetrando por ventanas y puertas, sistemas de ventilación o por grietas u otras aberturas en las paredes. Los hongos pueden también ser introducidos en los edificios a través de la tierra arrastrada por los zapatos. Algunas especies de hongos, como *Penicillium* y *Aspergillus*, se encuentran en mayores concentraciones en el interior de los edificios que en el espacio abierto (30).

En el aire se han aislado esporas de un gran número de especies bacterianas (incluyendo actinomicetos) y fúngicas, así como una gran variedad de pólenes. La posibilidad de que una persona inhale esporas fúngicas, tanto en ambientes abiertos como cerrados, es elevada. Las respuestas alérgicas a los hongos se relacionan de una manera más directa con las esporas fúngicas que con la presencia de restos miceliares u otras células fúngicas. Las respuestas a cada tipo de spora difieren según las personas y de los alérgenos fúngicos. No siempre es posible establecer una relación directa entre los recuentos de esporas fúngicas en la atmósfera y la presencia de sintomatología alérgica. Esto puede deberse a diferentes factores como el uso de métodos inadecuados de muestreo del aire o un equipo inadecuado (25).

Los estudios realizados con niños alérgicos han demostrado que el riesgo de sintomatología respiratoria aumenta de 1,5 a 3,5 veces cuando viven en casas con porcentajes elevados de humedad o donde se demuestra el crecimiento de hongos. De forma similar a lo observado en ambientes donde los niños están expuestos a humo de tabaco y otros contaminantes ambientales. Se considera que estos problemas de humedad y crecimiento fúngico afectan a un 20–50% de las casas y se asocian a un mantenimiento inadecuado de los sistemas de calefacción, ventilación o de aire acondicionado, todos ellos factores importantes para el crecimiento fúngico (30).

Las condiciones óptimas para el crecimiento de los hongos se producen con un tiempo caluroso y con una humedad relativa elevada. En los hogares, son más frecuentes en los sótanos y armarios húmedos, cuartos de baño, frigoríficos, colchones, contenedores de basura y muebles tapizados (30).

La mayoría de los hongos presentes en los ambientes internos son saprofíticos, porque ellos obtienen lo que necesitan para su metabolismo de materiales muertos, materia orgánica o sustratos como madera, papel, pintura, suelo, polvo, piel y alimentos. Generalmente, la concentración fúngica de los ambientes internos es menor que la presente en los externos (14,28).

a. Géneros fúngicos más comunes en le aire interior

- i. *Cladosporium*: presenta hifas septadas, oscuras y sus conidióforos son oscuros, ramificados con longitud variada. Las conidias son café, ovaladas y usualmente lisas que forman cadenas de ramificaciones, las que no son fácilmente separables. Las células que sostienen las cadenas de conidias son largas y semejan un escudo de gladiador y pueden ser confundidas con macroconidias cuando son vistas sueltas (17).

Es ampliamente citado como productor de asma y esporosis, e incluso algunas de sus especies actúan como oportunistas y son capaces de intervenir en ciertos procesos micóticos pulmonares, atacar la piel, producir cromoblastomicosis y lesiones neurotrópicas. El mayor interés por estos hongos desde el punto de vista sanitario tanto en edificaciones interiores

como en exteriores, viene dado por la capacidad alergénica de sus conidios (13,20).

- ii. *Penicillium*: género de hongos conocidos como mohos verdes o azules; de algunas especies se obtiene la penicilina. El micelio del hongo, conjunto de filamentos tubulares llamados hifas, crece en la superficie de frutas, pan, quesos y otros alimentos. La reproducción asexual se produce en *Penicillium* mediante unas células, los conidios, que se forman en el extremo de hifas especializadas, los conidióforos. Éstos son ramificados y en forma de abanico. Los órganos sexuales son gametangios arrollados en hélice (30).

Presenta hifas septadas y su conidióforo puede ser ramificado o no, con ramificaciones secundarias, conocidas como métulas. De la métula surgen las fialides, varias de cada una (generalmente tres) y de estas surgen las conidias en cadenas, no ramificadas las que pueden ser lisas o rugosas. La apariencia de este hongo es de “pincel” o de “cepillo” (17,28).

- iii. *Streptomyces*: es el género más extenso de Actinobacteria, un grupo de bacterias Gram-positivas de contenido GC generalmente alto. Se encuentran predominantemente en suelos y en vegetación descompuesta y la mayoría produce esporas (también denominadas conidios) en los extremos de las hifas aéreas. Se distinguen por el olor "a tierra húmeda" que desprenden, resultado de la producción de un metabolito volátil, la geosmina. Las especies del género *Streptomyces* se caracterizan por poseer un metabolismo secundario (rutas metabólicas no requeridas para la supervivencia) complejo. Producen numerosos antibióticos de uso clínico como estreptomina, ácido clavulánico, neomicina, cloranfenicol, etc. Los *Streptomyces* son raramente patógenos, aunque pueden producir infecciones en humanos, tales como micetoma por *S. somaliensis* y *S. sudanensis*. En las plantas, *S. caviscabies* y *S. scabies* ocasionan costras (16).

- iv. *Aspergillus*: los hongos de este género son omnipresentes y oportunistas que viven como saprofitos en el suelo, vegetales en descomposición, cualquier tipo de materia orgánica como pintura fresca, alimentos enlatados abiertos,

ropa vieja, recipientes con agua sin usar, reactivos químicos, paredes de refrigeradores, sistemas de ventilación, cuartos de hospital, bolsas de diálisis e incluso lentes de contacto. Se ha demostrado que *A.flavus* se encuentra en el aire incluso en los desiertos y en las capas altas de la atmosfera; cualquiera puede dar reacciones alérgicas por hipersensibilidad cuando hay exposición continua (15). El color es la principal característica macroscópica para la identificación de los grupos de *Aspergillus*.

Poseen distintos tonos de verde, pardo, amarillo, blanco, gris y negro. Las cabezas conidiales presentan bajo el microscopio cuatro formas básicas: globosa, radiada, columnar o claviforme y a simple vista las más grandes suelen parecer diminutas alfileres sobre el substrato. Los conidios constituyen cadenas que se originan en la célula conidiógena o fiálide. En algunos aspergilos hay células adyacentes a las fiálides denominadas métulas o células de soporte. Los *Aspergillus* poseen una o dos series de células sobre la vesícula, o bien presentan simultáneamente cabezas de ambos tipos (13,27).

I. Niveles de esporas fúngicas en el aire

Aún hace falta un criterio oficial para los niveles normales de bioaerosoles en el interior de los locales sin embargo, algunas recomendaciones han sido publicadas en países de clima subártico y en general de clima frío (38).

El Comité sobre bioaerosoles celebrado en 1989, realizó las siguientes sugerencias:

La situación en un ambiente en mal estado puede ser considerado excepcional cuando el nivel de bioaerosoles está en un orden de magnitud más alto que aquellos que comúnmente ocurren en el control, en ambientes libre de síntomas o si los organismos difieren entre el control y el ambiente en mal estado (38).

Los hongos saprófitos en el aire interior deben presentar niveles más bajos que en el aire exterior, mientras que los taxones deben ser similares en el interior y exterior (38).

El grado de diferencia de interior/externo varía con el modo de ventilación:

- Interiores ventilados de forma natural, presentan más parecido al aire exterior que aquellos interiores con ventilación mecánica.
- Interiores ventilados mecánicamente siempre con un mínimo de filtración, deberán tener un nivel de hongos menor que la mitad del nivel en el exterior (38).

Un estudio realizado en Minnesota, Estados Unidos, señala que concentraciones de esporas de hongos en el aire que excedan de 500 UFC/m³ de aire indican una condición anormal en el ambiente interior (39).

Otro estudio estableció que la concentración de hongos en ambientes internos por encima de 2000 UFC/m³ puede ser considerada como un factor de riesgo serio para la salud de los ocupantes (40). Muchas esporas fúngicas son alergénicas, con capacidad de producir respuestas alérgicas en individuos susceptibles. Por otra parte Eagle Industrial Hygiene Associates plantea que la concentración debe ser menor de 1000 UFC/m³ y de especies combinadas para que no ocurran afectaciones a la salud (41).

J. Efectos nocivos de los contaminantes para la salud

Muchos estudios han demostrado asociaciones entre la contaminación y los efectos para la salud. El aumento en la contaminación del aire se han ligado a alteraciones en la función pulmonar y aumentos en los ataques cardíacos. Niveles altos de contaminación atmosférica, según el Índice de Calidad del Aire de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) perjudican directamente a personas que padecen asma y otros tipos de enfermedad pulmonar o cardíaca. La calidad general del aire ha mejorado en los últimos 20 años pero las zonas urbanas son aún motivo de preocupación. Los ancianos y los niños son especialmente vulnerables a los efectos de la contaminación del aire (2,3). El nivel de riesgo depende de varios factores:

- La cantidad de contaminación en el aire (esporas de hongos aerotransportadas)
- La cantidad de aire que respiramos en un momento dado,
- La salud general (4).

Otras maneras menos directas en que las personas están expuestas a los contaminantes del aire son:

- El consumo de productos alimenticios contaminados con sustancias tóxicas del aire que se han depositado donde crecen,
- Consumo de agua contaminada con sustancias del aire,
- Ingestión de suelo contaminado,
- Contacto con suelo, polvo o agua contaminados (2,3).

1. Síndrome del Edificio Enfermo

Fue reconocido como enfermedad por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1982, comprendiendo los edificios en los que un porcentaje de más del 20% de personas experimentan efectos agudos sobre la salud y el bienestar. Se ha demostrado mediante estudios realizados que cuando las personas permanecen gran cantidad de tiempo en el interior de los edificios y especialmente en oficinas o lugares de trabajo, pueden ser afectadas en su salud debido a que los niveles de polución pueden llegar a ser elevados (36).

El malestar físico, la irritación o la sequedad de los ojos, la nariz y la garganta, tos, náuseas y problemas respiratorios así como fatiga mental, alteraciones de memoria, somnolencia, apatía, mareos o el estrés son algunos de los problemas de salud en las personas afectadas por el Síndrome del Edificio Enfermo (25).

Se ha demostrado fehacientemente que los síntomas desaparecen o disminuyen de forma significativa cuando las personas salen del espacio afectado. Una característica de estas molestias es que se acentúan durante los días hábiles y que mejoran ostensiblemente durante el descanso del fin de semana (36).

2. Focos de contaminación biológica dentro del edificio:

- Sistemas de filtración: en ellos queda retenido buena parte del material particulado que lleva el aire y al que pueden ir asociados microorganismos, este material es un buen medio para la proliferación de los mismos (35).
- Sistema de refrigeración: durante la estación cálida el vapor de agua que contiene el aire condensado sobre los serpentines de refrigeración, puede quedar

estancado en el suelo del equipo donde, junto a la suciedad acumulada, crean las condiciones adecuadas para el desarrollo de agentes biológicos (26).

- Materiales porosos: en ocasiones están presentes en los sistemas de ventilación/climatización, normalmente como aislantes acústicos o como material de construcción de los conductos. En ellos se pueden dar las circunstancias que favorecen el crecimiento de agentes biológicos, por ejemplo la suciedad que aporta nutrientes y el agua que transporta el aire (35).
- Aire en el interior de los locales: el aire ha ido recogiendo la contaminación producida en los diferentes focos. Uno de los más importantes son las personas que ocupan el edificio, estas personas pueden ser portadores sintomáticos o asintomáticos de agentes biológicos. Hay que tener en cuenta que muchos sistemas de ventilación funcionan reciclando el aire interior por lo que el sistema puede, en conjunto, convertirse en el diseminador de la contaminación generada en una zona, al resto del edificio (26).

K. Impacto en el personal que trabaja en laboratorios

El riesgo derivado de la manipulación o exposición a los agentes biológicos trae como consecuencia la infección del personal expuesto con o sin manifestación de la enfermedad. Para el hombre, es el riesgo de infección el más significativo (por la frecuencia e importancia) y el más antiguo de los reconocidos por los profesionales de la salud. Disímiles causas son atribuidas a las infecciones del personal de laboratorio, entre las que se destacan: el uso de objetos punzo-cortantes contaminados con fluidos corporales, los derrames o salpicaduras, el trabajo con animales de laboratorio, la contaminación con hongos o bacterias, sin tomar las medidas de protección reglamentadas en este caso y que son procedimientos que se van haciendo habituales que generan aerosoles, siendo estos últimos, la causa más frecuente de este fenómeno (25,30).

La contaminación por hongos es un serio problema en ambientes cerrados, pequeños, mal ventilados o húmedos. La respiración de altas concentraciones de esporas fúngicas se asocia a procesos de reacciones alérgicas, hipersensibilidad e incluso asma. Los hongos son los microorganismos más asociados al síndrome del *edificio enfermo*, el

cual según la (OMS) es un conjunto de enfermedades originadas o estimuladas por la contaminación del aire en estos espacios cerrados. Conjunto de molestias y enfermedades originadas en la mala ventilación, la descompensación de temperaturas, las cargas iónicas y electromagnéticas, las partículas en suspensión, los gases y vapores de origen químico y los bioaerosoles, entre otros agentes causales identificados. El tipo de malestares que producen y estimulan estas situaciones es variado: jaquecas, náuseas, mareos, resfriados persistentes, irritaciones de las vías respiratorias, piel y ojos, etc. Entre estos malestares, las alergias ocupan un papel importante (30).

Los hongos microscópicos como *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp., *Streptomyces* spp. y levaduras son los géneros aislados con mayor frecuencia en ambientes interiores. La mayoría de estos hongos causan enfermedades oportunistas, esto sucede cuando los mecanismos de defensa de las personas están alterados como consecuencia de una enfermedad (diabetes, tuberculosis, asma bronquial, neoplasias, etc.), traumatismos como quemaduras y cuerpos extraños, además del uso mantenido de antibióticos, fármacos inmunosupresores como la cortisona y sus derivados, citostáticos y la exposición a radiaciones. Por ello, en todos los trabajadores que en un momento dado estén comprendidos en algunos de los grupos de riesgos antes mencionados, y ocupacionalmente estén expuestos a estos organismos, pueden desarrollar enfermedades a partir de estos microorganismos (30).

El género *Aspergillus* cuyas esporas se dispersan fácilmente en el aire, pueden causar alergias debido a la inhalación u otros contactos con el hongo, por sujetos alérgicos. Afecta a nivel de tracto respiratorio superior causando rinitis, puede desencadenarse una alveolitis o desarrollarse un proceso asmático, conjuntivitis o dermatitis. La gran mayoría de los asmáticos muestran evidencias de sensibilización a especies de *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*. Además, el *A. flavus* está asociado con aspergillosis en los pulmones y es identificado ocasionalmente como la causa de infecciones en la córnea, otomicóticas y en los senos nasales. *A. niger* ha sido reportado que causa infecciones en la piel y pulmonares y de ser la causa común de infecciones en los ojos y oncomicosis esta no es demasiado frecuente. Ciertas especies como *A. fumigatus* y *A. versicolor* pueden afectar a uñas distróficas, dando lugar a hiperqueratosis y a un cambio en la coloración de las mismas. La Otomicosis producidas principalmente por *A. niger* y *A. fumigatus*. *A. terreus* está asociado con aspergillosis en los pulmones y(o) diseminada y ha sido

encontrado en otomicosis, infecciones en los ojos y onigo-micosis en las uñas de los dedos. Algunos reportes mencionan al *A. versicolor* en lesiones nodulares humanas (27,30).

Algunas especies de *Penicillium* sp. y *Scopulariopsis* sp. han sido aisladas de pacientes con enfermedades broncopulmonares y en casos de otomicosis y queratitis micótica. El género *Cladosporium* sp. se reporta en alergias respiratorias (asma extrínseca) y los síntomas pueden ser edema, broncoespasmo, así como en los casos crónicos, enfisema pulmonar (30).

Las especies de *Alternaria* sp. se reportan en enfermedades pulmonares alérgicas como la neumonitis por hipersensibilidad causada por la exposición al trabajo de maderas (pulpa de madera enmohecida) en la industria (30). Se le asocia indiscutiblemente con la producción de cuadros de rinoconjuntivitis alérgica y asma bronquial. A diferencia de los pólenes , que producen principalmente rinoconjuntivitis alérgica, la *Alternaria* produce con mayor frecuencia la asociación de esta con asma , sobre todo en niños y en situaciones de exposición como lo son lugares húmedos con material orgánico Ej.: pastizales jardines , regadíos etc. Los síntomas por alergia a este hongo son más frecuentes en primavera tardía y otoño (29).

Los géneros *Rhizopus* y *Mucor* son los más comúnmente aislados en zigomicosis (Ficomicosis y Mucormicosis), con una profunda invasión micótica que envuelve las órbitas y los senos nasales, con extensión directa a las meninges y cerebro. La Mucormucosis pulmonar se inicia por inhalación de esporas. Puede presentar manifestaciones de bronquitis, bronconeumonía, embolia o cavitación pulmonar (17,9). El género *Fusarium* es alergénico y está involucrado en infecciones de los ojos como las Queratomicosis, generalmente confundidos por infecciones bacterianas por lo que es común que la infección llegue al oftalmólogo en mal estado, poniendo en muy alto el riesgo de perder el ojo, la piel y las uñas , y es la causa más común de keratitis micótica (30).

Con respecto a *Streptomyces* sp., se reporta como no patógeno al hombre; no obstante, son raramente patógenos, aunque pueden producir infecciones en humanos, tales como micetoma por *S. somaliensis* y *S. sudanensis*. igual que la *Curvularia* sp., que aparece en micetomas. El micetoma es una lesión localizada tumefacta, con gránulos que constituyen

las colonias compactas del agente causal, que se desarrolla cuando este microorganismo es implantado por trauma en el interior del tejido subcutáneo (29,30).

Los géneros *Monilia*, *Candida*, *Trichoderma*, *Paecilomyces* y *Sporotrichum* están reportados como alérgenos. La *Scopulariopsis* sp. está asociada con la alergia tipo III. El *Syncephalastrum* sp. puede causar una infección respiratoria (30).

El género *Geotrichum* sp. puede causar infecciones oportunistas en huéspedes inmunocomprometidos; esas infecciones se refieren como geotricosis. Las infecciones usualmente se adquieren vía ingestión o inhalación. Esta rara enfermedad puede causar lesiones en la piel, los bronquios, la boca, pulmones e intestinos (22,30).

Diversas cepas de *Stachybotrys* sp. pueden producir una micotoxina, la cual es un veneno por inhalación. Las toxinas están presentes en las esporas del hongo. Individuos con una exposición crónica a la toxina reportan fiebre, síntomas de gripe, llagas en la garganta, diarrea, dolor de cabeza, fatiga, dermatitis, pérdida de cabello local de forma intermitente y malestar generalizado (30).

L. Riesgos biológicos en ambientes interiores

Con frecuencia los laboratorios son considerados como ambientes de trabajo altamente especializados y peligrosos, donde la probabilidad de sufrir un daño, una lesión o incluso la muerte está siempre presente. Múltiples son los riesgos para la salud derivados del trabajo en estas áreas, entre los que se distinguen los riesgos por exposición a agentes biológicos, a sustancias químicas y a agentes físicos. A los que se le suma como factor de riesgo, la conducta del hombre y la deficiente organización laboral, que se erigen como riesgos psicosociales, porque precisamente están determinados, en gran medida, por los conocimientos, hábitos y actitudes de estos. Desde el ángulo del personal que trabaja en salud, la bioseguridad y la seguridad en general en la labor cotidiana, apunta a mejorar las condiciones de trabajo y a disminuir al máximo los accidentes que tienen al personal como víctima (24).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomendó el establecimiento de una clasificación de los agentes biológicos, ubicándolos en cuatro grupos de riesgo y que son enunciados en orden creciente, según el nivel de peligrosidad, además del riesgo que un agente puede representar para el individuo que trabaja con él y para la

comunidad. Cada región o país establece su propia clasificación de agentes biológicos por grupos de riesgo teniendo en cuenta su capacidad patogénica, los modos de transmisión y la gama de huéspedes la disponibilidad de medidas de prevención eficaces y la disponibilidad de tratamiento eficaz, así como las condiciones geográficas del territorio en cuestión (30).

Tabla No. 2: "Evaluación y control de agentes biológicos en ambientes laborales"

| Clasificación de los agentes biológicos por grupos de riesgo | |
|---|---|
| Grupos | Características |
| I | <i>Escaso riesgo individual y comunitario.</i> Microorganismos que tienen pocas posibilidades de provocar enfermedades humanas o de importancia veterinaria en los animales. |
| II | <i>Riesgo individual moderado, riesgo comunitario limitado.</i> Agente patógeno que puede provocar enfermedades humanas o en los animales, pero que tiene pocas posibilidades de entrañar un riesgo grave para el personal de laboratorio, la comunidad, el ganado o el medio ambiente. La exposición en el laboratorio puede provocar una infección grave, pero se dispone de medidas eficaces de tratamiento y de prevención, y el riesgo de propagación es limitado. |
| III | <i>Riesgo individual elevado, riesgo comunitario escaso.</i> Agente patógeno que suele provocar enfermedades humanas graves pero que de ordinario no se propaga de una persona infectada a otra. |
| IV | <i>Elevado riesgo individual y comunitario.</i> Agente patógeno que suele provocar enfermedades graves en las personas o en los animales y que puede propagarse fácilmente de un individuo a otro directa o indirectamente. |

Fuente: Hernández A. y Martí M. C. Evaluación y control de agentes biológicos en ambientes laborales. INSHT.

El cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio, el empleo de los equipos de seguridad; así como un adecuado diseño de instalaciones y la formación continua de los recursos humanos, son aspectos claves para lograr con éxito la reducción de eventos indeseables en los laboratorios biomédicos (30).

1. Causas potenciales de accidentes de trabajo

1.1 Equipos y materiales que entrañan riesgos:

1.1.1 Elementos-riesgos

- Las jeringas con aguja pueden ocasionar una punción, un aerosol o un derramamiento.
- Las centrifugas pueden producir aerosoles, salpicaduras como consecuencia de la rotura de tubos.
- Los homogenizadores pueden producir aerosoles y escapes.
- Los mezcladores podrían producir aerosoles, salpicaduras o un derramamiento.
- Almacenamiento de alimentos con reactivos y muestras clínicas dentro de refrigeradores domésticos.
- Los baños de María podrían producir proliferación de microorganismos.
- Dejar encendido el equipo cuando no está en uso.
- Contaminación con sangre en la punta de succión de los equipos de análisis.
- En los microscopios se podría producir contaminación de los objetivos y la platina con muestras de análisis.
- En las pipetas y goteros algún tipo de salpicadura o rompimiento.

1.1.2 Elementos-riesgos

- Con los portaobjetos o cubreobjetos se podría producir una salpicadura o rompimiento
- En las incubadoras se podría producir contaminación con microorganismos.
- Contaminación en los platos Petri con bacterias.
- Con los incineradores se podrían producir quemaduras.
- El fuego del mechero de Bunsen podría producir quemaduras.

1.2 Sustancias químicas peligrosas:

1.2.1 Sustancias-efectos

- El acetona produce irritación de los ojos
- El acetaldehído produce irritación de los ojos y las vías respiratorias.
- El ácido sulfúrico produce irritación de los ojos, mucosa nasal y las vías respiratorias.
- Quemaduras.
- El ácido clorhídrico produce irritación de los ojos y vías respiratorias.

1.2.2 Sustancias-efectos

- La anilina produce ligera somnolencia.
- El benceno produce somnolencia.
- El cloroformo produce dolor de cabeza, náuseas, somnolencia y lesión hepática.
- El formol produce irritación de las mucosas y las vías respiratorias.
- El metanol produce irritación de las mucosas, somnolencia y lesión del nervio óptico.
- El nitrobenceno produce cianosis.
- La piridina produce neurotoxicidad.
- El tolueno produce somnolencia
- El xylol produce irritación de los ojos y somnolencia.

1.3 Sustancias químicas incompatibles:

1.3.1 Sustancias incompatibles

- Ácido acético con ácido nítrico, perclórico, peróxido y permanganato.
- La mezcla de acetona con ácido sulfúrico y nítrico.
- Anilina con ácido nítrico y agua oxigenada.
- Cloro con amoníaco, acetileno, bencina y formaldehído.
- Cobre con agua oxigenada y acetileno.
- Hidrocarburos con cloro, flúor y ácido crómico.

- Peróxido de hidrógeno con cobre, hierro, líquidos inflamables y anilina.
- Líquidos inflamables con nitrato amónico, ácido crómico, nítrico y agua oxigenada.
- Mercurio con acetileno e hidrógeno.
- Oxígeno con aceites, grasas, hidrógeno y gases inflamables.
- Ácido perclórico con anhídrido acético, alcohol y materias orgánicas.
- Ácida de sodio con metales y gases inflamables.
- Yodo con acetileno y amoníaco (25).

2. Manual de bioseguridad

El más importante de todos los documentos en materia de seguridad, lo constituye el propio manual de bioseguridad. Es obvio entonces que el mismo debe ser repasado con alguna frecuencia por todo el personal. Para estos casos, la lectura y discusión en cada sección del laboratorio parece la mejor opción. Su evaluación puede ser de gran ayuda en la actualización periódica del manual con la participación y experiencia de todo el personal (25,26).

2.1 Divulgación de las normas de bioseguridad

Resulta muy difícil mantener un alto nivel de interés y alerta en materia de seguridad por un largo periodo de tiempo. Debido a esto la divulgación y refrescamiento de las regulaciones de seguridad se hacen imprescindibles. El supervisor de seguridad debe mantener su equipo trabajando continuamente para mantener el interés en la seguridad (24,25).

Muchas condiciones peligrosas y acciones inseguras, no siempre pueden ser anticipadas. En estos casos cada empleado debe utilizar su propia imaginación, sentido común y autodisciplina, para protegerse y proteger a sus compañeros. Algún estímulo al trabajo seguro del personal, puede en muchos casos ayudar a mantener la guardia en alto (23,24).

2.2 Advertencias

Una forma práctica de recordar las medidas de seguridad en el laboratorio, lo constituyen las advertencias, precauciones, poster y cualquier ayuda visual que pueda lograr los objetivos deseados. Estos avisos deben ser confeccionados en cartoncillo, con colores vivos y colocados en sitios estratégicos según las labores que allí se realicen (24).

Es responsabilidad del Comité de Bioseguridad o de la persona encargada del laboratorio la consecución del patrocinio para la elaboración de las advertencias, en cuyo caso la institución puede facilitar su elaboración (24,25).

2.3 Flujograma del procedimiento a seguir en caso de accidentes

El Jefe de laboratorio o la persona encargada del laboratorio elaborará un flujograma de los procedimientos a seguir en caso de accidentes de laboratorio, los cuales ayudarán a orientar al personal en forma rápida sobre los pasos a seguir en una emergencia. Estos flujogramas estarán adecuadamente colocados en el laboratorio para facilitar su utilización (25,25).

2.4 Medidas preventivas

La presencia de microorganismos no es un indicador de enfermedades potenciales, y dado que por el momento no están establecidos criterios de valoración cuantitativos para los agentes biológicos, lo más recomendable será mantener sus niveles lo más bajo posible, tanto por lo que respecta a los focos de contaminación como al aire interior (35).

El control de la contaminación microbiológica en ambientes interiores se puede conseguir con un buen diseño de los sistemas y un eficaz programa de mantenimiento de las instalaciones. El método más directo para limitar el desarrollo de microorganismos es restringir la disponibilidad tanto de nutrientes como de agua (35).

Medidas preventivas:

- Ubicar las fuentes de aire exterior de modo que se impida la reentrada de los aerosoles producidos en las torres de refrigeración.

- Mantener las instalaciones a ligera presión positiva para minimizar la infiltración del aire por lugares no controlados (puertas, ventanas, etc.).
- Suministrar suficiente aire fresco de ventilación cumpliendo con los estándares o recomendaciones técnicas relativas al tema.
- Disponer de accesos adecuados a los diferentes componentes del sistemas para su inspección, reparación y limpieza.
- Colocar filtros adecuados para el control de la entrada de materia particulada. Es recomendable usar prefiltros y filtros que tengan eficacias de retención superiores al 80%; cambiar los filtros a intervalos regulares de tiempo y cuando sea necesario instalar filtros tras los intercambiadores de calor.
- Prevenir la acumulación de agua estancada bajo los sistemas de refrigeración, implantando un sistema de drenaje continuo.
- Reparar de inmediato cualquier fuga de agua tanto dentro del sistema de ventilación/climatización como en el resto de las instalaciones.
- Seleccionar humidificadores que utilicen vapor de agua como fuente de humedad en lugar de los que utilizan agua reciclada. Dentro de los humidificadores de vapor son preferibles los de vapor seco.
- Mantener la humedad relativa del aire por debajo del 70% en los espacios ocupados y en los plenos de baja velocidad de aire.
- Establecer programas de mantenimiento que contemplen la inspección, la limpieza y la desinfección de los diversos componentes del sistema, registrando las operaciones que se realicen y su periodicidad, prestando especial atención a los humidificadores y torres de refrigeración:
 - Drenar y limpiar los humidificadores a intervalos de dos a cuatro meses, realizando aclarados con desinfectantes suaves. Es recomendable utilizar agentes descalcificantes del agua.
 - Mantener al menos un 10% de agua circulante en los depósitos, para eliminar el exceso de impurezas y minimizar la acumulación de incrustaciones.
 - Seleccionar biocidas y anticorrosivos que sean compatibles entre ellos y con los materiales de construcción de los diferentes elementos. El tratamiento continuo del agua con estos productos no es recomendable

ya que pueden incorporarse al flujo de aire y afectar a los ocupantes del edificio.

- Durante las operaciones de mantenimiento y limpieza del sistema es recomendable utilizar equipos de protección personal al entrar en espacios confinados, por ejemplo protectores de las vías respiratorias con filtros para materia particulada de alta eficacia y ropa de trabajo.
- Establecer programas de control periódico, mediante la realización de cultivos microbiológicos, en diferentes puntos del sistema (torres de refrigeración, condensadores por evaporación, unidades de climatización, humidificadores, etc.) (35).

M. Métodos de investigación de los microorganismos

El estudio de los microorganismos del aire depende de las técnicas desarrolladas para la toma de muestras. Desde que en el siglo XIX comenzaron las investigaciones sobre estos microorganismos, se han diseñado diversos aparatos, muchos de ellos con una aplicación limitada. Actualmente, existen una gran cantidad de métodos e instrumentos para detectar los microorganismos del aire. Las técnicas utilizadas son diversas, de las cuales, la sedimentación, filtración, el impacto sobre distintas superficies sólidas y el borboteo en medios líquidos, son las más importantes (35).

- **Técnica de sedimentación por gravedad:** el método de sedimentación en placa Petri ha sido el más ampliamente utilizado desde que Frankland y Hart lo emplearan por primera vez en 1887. Las placas con medio de cultivo estéril, permanecen abiertas durante determinados períodos de tiempo, permitiendo la sedimentación de los microorganismos. Este método es sencillo y económico. Tiene la ventaja de que se pueden identificar de los cultivos los microorganismos viables, pero su interpretación es difícil porque no pueden relacionarse con el volumen de aire muestreado. La deposición varía con el tamaño y forma de los microorganismos, la velocidad y la turbulencia del aire. El método no es cualitativa ni cuantitativamente exacto y detecta principalmente los microorganismos que más persisten en el aire, no detectándose, sin embargo, los microorganismos más pequeños (35).

- **Filtración:** la filtración se realiza a través de un material poroso, fibra de vidrio, alginato o filtros de membrana (éstos son los más utilizados en la actualidad). Los filtros recogen los tipos de microorganismos por sedimentación, impacto, difusión o atracción electrostática. Los filtros de membrana utilizados son de policarbonato, ésteres de celulosa o cloruro de polivinilo, con un diámetro de poro desde 0,01 a 10 mm, según la naturaleza de los bioaerosoles (11). Para realizar la filtración se han diseñado aparatos portátiles con una bomba de vacío y un flujo de aire de 1 a 50 litros por minuto (Millipore). Entre los problemas que destacan, encontramos la pérdida de viabilidad de las células vegetativas debido a la desecación durante el muestreo. En las muestras obtenidas en los filtros de membrana se pueden estudiar los microorganismos por microscopía o por cultivo, colocando los filtros en medios de cultivo sólidos, para determinar el número de colonias (35).
- **Impacto sobre superficies sólidas:** esta técnica es la más usada en la actualidad, los microorganismos se separan de la corriente de aire utilizando la inercia para forzar su sedimentación sobre las superficies sólidas. El proceso de impacto depende de las propiedades de inercia de la partícula (tamaño, densidad y velocidad) y de las propiedades físicas del aparato tales como las dimensiones de la boquilla y el recorrido del flujo de aire. Se han diseñado una gran variedad de aparatos que difieren por el número de boquillas o impactores, y por el tamaño, así como el número de pasos o etapas por las que pasa el aire (35). En la mayoría de ellos, los microorganismos quedan retenidos sobre un medio de cultivo sólido contenido en: placas de Petri de distinto tamaño, 65 o 90 mm (bioMérieux), 100 mm (Andersen y Burkard) y 150 mm (Casella), en tiras de plástico (Biotest) y en placas de contacto de 55 ó 84 mm (SAS y Microflow). Después de la incubación, se puede hacer el recuento e identificación de los microorganismos. Basados en estas técnicas, actualmente existen en el mercado aparatos fácilmente transportables que utilizan baterías para tomar muestras de campo, como el muestreador centrífugo Reuter RCS Plus (Biotest), el Air Ideal (bioMérieux) o los sistemas SAS y Microflow. El flujo de aire varía en los distintos aparatos, desde 10 hasta 700 litros por minuto (35).

- **Borboteo en líquidos:** el fundamento es similar al impacto sobre medios sólidos y la fuerza de inercia es esencial para separar los microorganismos contenidos en el aire y que se depositen en el medio líquido. El flujo de aire puede ser de 12,5 ó 20 litros por minuto. Este método también requiere una bomba de vacío. Estos dispositivos, también llamados de trampa líquida, hacen pasar el aire mediante un aspirador, a través de líquidos (generalmente soluciones tampón diluidas) que retienen los microorganismos. Este líquido puede sembrarse en placa para determinar el número de microorganismos, examinarse microscópicamente o analizarlo con ensayos bioquímicos para determinar endotoxinas(LAL), sondas genéticas, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) inmunoensayo y por citometría de flujo (11).

No existe un método de muestreo de aire ideal para todas las necesidades, por lo que para elegir uno se debe considerar qué se quiere investigar y qué información se necesita, es decir, se debe determinar previamente si interesa saber el número total de microorganismos o sólo los viables, si se desea identificarlos y cultivarlos o sólo observar su morfología microscópica, si se quiere detectar todos los presentes o sólo los patógenos, etc (11,35).

N. Cepas de referencia

Para llevar a cabo la correcta identificación de los microorganismos recirculantes en el aire, se debe contar con pruebas microbiológicas y cepas de referencia o material de referencia que ostenta valores de una o más propiedades suficientemente homogéneas y bien conocidas que permite su uso en la calibración de aparatos, la evaluación de un método de medición o la atribución de valores a estos materiales (42).

Las cepas de referencia, cepas de reserva y cepas de trabajo; se utilizan a fin de acreditar o conservar la acreditación de un ensayo, evaluación de la calidad de los medios de cultivo, controles de calidad interno durante la ejecución de los ensayos, controles de calidad de reactivos, pruebas confirmatorias y validación de métodos. El número, la elección del género y su especie son dependientes de los ensayos que se elaboran y de las necesidades de trazabilidad que asumen estos (42).

Las cepas de referencia son distribuidas y presentadas comercialmente liofilizadas;

asimismo, los organismos de acreditación son los encargados de considerar válida la fuente de procedencia de la cepa a fin de que se cumpla con el requisito de prevenir mutaciones, deterioro o alteración de las características típicas de las cepas (43). El número de aislamientos a partir de la cepa de referencia debe ser limitado, se aceptan hasta cinco aislamientos como máximo a partir de dicha cepa de referencia (42).

Como primer paso deben ser almacenadas entre 0-5 °C hasta su uso. En el segundo paso se realiza la reconstitución y siembra de las cepas de referencia, utilizando medios de cultivo, las condiciones de incubación y el procedimiento indicado en las disposiciones para cada tipo de microorganismo del organismo proveedor de las cepas. Por último las cepas de referencia serán sometidas a un control de calidad de pureza y viabilidad, así se le dará registro. (43).

O. Conservación de cepas

La conservación de cepas microbianas no es tarea fácil y debe garantizar la viabilidad, pureza y estabilidad genética de los cultivos, características que coinciden con los objetivos de un buen método de conservación. El conocimiento de las peculiaridades de las diferentes técnicas de preservación existentes para su correcta aplicación, así como el seguimiento continuo de las propiedades de las cepas, propician su empleo como inóculo confiable en la industria, la docencia y la investigación (44).

Por lo tanto, el método de conservación que se elija debe garantizar la supervivencia de al menos el 70 % de las células por un período considerable de tiempo, de forma tal que la población sobreviviente se asemeje a la original como sea posible, conserve las propiedades de importancia de los cultivos y minimice la ocurrencia de los eventos genéticos. De igual manera debe reducir al mínimo el riesgo de contaminación y permitir que la pureza del cultivo permanezca inalterable (45).

P. Técnicas de mantenimiento y conservación de los microorganismos

- **Subcultivo seriado:** consiste en resembrar el microorganismo cada cierto tiempo en un medio adecuado; generalmente se utiliza agar inclinado ya que en medio sólido se detectan mejor los contaminantes que en medio líquido y el hacerlo inclinado tiene por objeto el evitar la desecación rápida del medio. Este método es válido para cortos períodos de tiempo (desde una hasta dos semanas),

por lo que deben ser resembrados con frecuencia lo que incrementa el riesgo de contaminación. Además, al mantenerlos a temperatura ambiente, pueden crecer y espontáneamente cambiar sus características genéticas (mutación, pérdida de plásmidos, entre otros) que pueden afectar al carácter por el que fueron seleccionados (46).

- **Desecación:** la eliminación del agua (deshidratación) es un método de conservación que reduce drásticamente el metabolismo. Sin embargo, no todos los microorganismos sobreviven a estos métodos de secado, por lo que se hace necesario añadir agentes protectores (leche descremada, glutamato sódico al 10%). Una vez secos es importante mantener el producto sellado (tapón de rosca, ampolla) para evitar el contacto con el aire ya que son higroscópicos. Los soportes que se suelen utilizar son arena, suelo, sílica gel previamente secados y esterilizados por calentamiento con aire caliente (no utilizar autoclave y sí calor seco). Sobre estos soportes se añade la suspensión de los microorganismos y se deja secar a temperatura ambiente. También se pueden utilizar como soportes discos o tiras de papel, agar, discos de gelatina donde se añade la suspensión de microorganismos y posteriormente se seca al vacío evitando la congelación, lo que se denomina L-secado (L-drying). Estos métodos de secado son particularmente útiles para conservar microorganismos productores de esporas, p.j. actinomicetos (46).
- **Liofilización:** consiste en congelar rápidamente una suspensión de microorganismos y eliminar el agua como vapor de agua directamente del hielo sin pasar por el estado intermedio líquido. El sistema requiere tres componentes: mecanismo de congelación, bomba de vacío y una trampa de agua. Los liofilizados se conservan entre 0 y 5°C durante varios años. Para su recuperación se resuspende el liófilo en el medio de cultivo adecuado y se incuban a la temperatura adecuada (47).
- **Conservación en aceite mineral:** es una técnica simple y efectiva para prolongar la conservación de muchos organismos y consiste en cubrir

completamente el cultivo después de su desarrollo en medio sólido, con una capa de aceite mineral o vaselina estéril. Los cultivos en esta forma se pueden conservar a temperatura ambiente o aún mejor en refrigeración por períodos de varios años (2-20 años). Algunos autores sostienen que en estas condiciones los microorganismos pueden continuar reproduciéndose, con posibilidades de aparición de mutantes; sin embargo se acepta que estas alteraciones no se observan hasta los tres años de mantenimiento. Entre las ventajas es de bajo costo, bajo equipo requerido y entre las desventajas trabajo moderado y baja estabilidad genética (48).

Q. Estudios realizados en Guatemala

Suarez y col. en el 2004 realizaron el estudio titulado "Determinación cualitativa de la relación que existe entre la concentración de las partículas totales en suspensión en su fracción respirable PM_{10} y la función respiratoria de personas expuestas en dos puntos de muestreo en la ciudad de Guatemala" realizado en la Universidad de San Carlos de Guatemala, y determinaron la relación entre las partículas totales en suspensión en su fracción respirable PM_{10} y la función respiratoria de las personas expuestas en dos puntos de muestreo en la ciudad de Guatemala, con el fin de ratificar la importancia de disminuir los niveles de contaminación por representar un riesgo en la salud de las personas. Se observaron aspectos como la influencia meteorológica, ya que la cantidad de partículas PM_{10} disminuyen durante la época lluviosa, lo cual hace que mejore la función respiratoria de las personas y aumenta en la época seca. Concluyendo que efectivamente la cantidad de partículas PM_{10} en el ambiente afectó la función respiratoria de las personas en estudio (31).

En el estudio realizado en Laboratorio Microbiológico de Referencia- LAMIR- titulado "Estudio micológico del aire en áreas ocupacionales y exteriores de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y otras áreas de la Universidad de San Carlos de Guatemala" se muestrearon ocho locales, de los cuales siete se ubicaron dentro del campus de la Universidad de San Carlos de Guatemala, zona 12 (Laboratorio Microbiológico de Referencia-LAMIR-, Laboratorio de Investigación de Productos Naturales-LIPRONAT-, Decanatura, Laboratorio de Alimentos, Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas-IIQB-, Rectoría, y Biblioteca Central) y uno se

ubicó en el Centro de Información y Atención Toxicológica-CIAT en la antigua Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia USAC, zona 1. Para los muestreos se utilizó un aeroscopio Eco MAS 100 y agar Saboraud + NaCl. El muestreo se llevó a cabo en tres puntos ubicados dentro del local ocupacional y tres puntos ubicados en el área exterior, se obtuvo que un 44% de los puntos muestreados presentaron mayor concentración de colonias emergentes en el aire por la mañana y el 56% restante, presentó la mayor concentración fúngica por la tarde (37).

Los locales que presentaron mayor carga fúngica en el aire a lo largo de este estudio fueron LIPRONAT, el Laboratorio de Alimentos y el IIQB, cuyos valores se encuentran en riesgo para la salud ocupacional. El local que presentó la menor carga fúngica a lo largo de este estudio fue CIAT (37).

En este estudio se aislaron y caracterizaron los géneros fúngicos predominantes en los muestreos según su frecuencia de aparición en cada época (seca y lluviosa), *Cladosporium*, predominó en época seca; *Penicillium*, *Aspergillus* y *Monilia*, predominaron en época lluviosa; Levaduras (morfoespecies), *Trichosporum* y *Rhodotorula* predominaron en época seca. Además, se aislaron con menor frecuencia quince géneros fúngicos que tuvieron frecuencia de aparición algunos de ellos en época seca y lluviosa y otros sólo en alguna de las dos épocas (37).

Por la presencia de estos géneros fúngicos en el aire interior de los locales se consideró importante la implementación de los manuales de limpieza y desinfección para oficinas y cocinas, así como con un manual de normas de bioseguridad para laboratorios (37).

IV. JUSTIFICACIÓN

Es necesario establecer la calidad del aire tanto en el ambiente interior y exterior de 3 laboratorios LAFYM, AMSA y LAMIR, en base a la carga fúngica presente en el aire expresada en (UFC/m³) y los géneros predominantes de hongos, con el fin de determinar la salud ocupacional que hay dentro de cada uno de ellos.

Se considera importante la identificación de los géneros de hongos predominantes presentes en el ambiente interior y exterior de los tres laboratorios, para establecer su relación con afecciones en la salud permitiendo así determinar si existe un riesgo ocupacional.

En este estudio se caracterizaron los géneros de hongos predominantes causantes de enfermedades en humanos y del biodeterioro el cual afecta principalmente a los materiales orgánicos e inorgánicos como por ejemplo la corrosión biológica de los metales, materias primas y materiales manufacturados, aislados de áreas exteriores e interiores con las que labora el personal en estos laboratorios. También se evaluó la prevalencia de dichos géneros según la época del año ya sea seca o lluviosa.

V. OBJETIVOS

A. GENERAL:

Caracterizar los géneros de hongos predominantes durante el periodo de muestreo de los tres laboratorios en estudio.

B. ESPECIFICOS:

1. Identificar por medio de la caracterización de géneros, las cepas fúngicas aisladas de los muestreos realizados durante aproximadamente seis meses.
2. Determinar la frecuencia de los géneros fúngicos aislados del ambiente exterior e interior en cada uno de los tres laboratorios.
3. Determinar si el crecimiento de las cepas fúngicas se ve influenciado según la época del año.
4. Crear un cepario con las cepas fúngicas aisladas y caracterizadas del aire interior y exterior de los laboratorios LAFYM, LAMIR y AMSA por medio del método de conservación con aceite mineral. El cual estará disponible para futuras investigaciones.

VI. HIPÓTESIS

En la presente investigación no se presentó una hipótesis ya que este es un estudio de tipo descriptivo.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

Microorganismos presentes en el aire interior y exterior de los tres laboratorios en estudio: LAMIR (Laboratorio Microbiológico de Referencia), LAFYM (Laboratorio de Análisis Físicoquímico y Microbiológico) y AMSA (Autoridad en el Manejo Sustentable del Lago de Amatitlán).

B.Muestra

Cepas fúngicas recolectadas durante octubre de 2,008 a marzo del 2,009 en las instalaciones de tres diferentes puntos interiores y tres puntos de muestreo de ubicación exterior en los laboratorios LAMIR (Laboratorio Microbiológico de Referencia) con las coordenadas 4 ° 35'16.152", -90 ° 33'8.2368", LAFYM (Laboratorio de Análisis Físicoquímico y Microbiológico) 15 ° 45'0.4956", -90 ° 13'50.7324"y AMSA (Autoridad en el Manejo Sustentable del Lago de Amatitlán) 37 ° 3'45", -95 ° 40'37.4448".

C. Recursos

1. Humanos

- a. Dra. Karin Larissa Herrera (Asesor y encargada del Proyecto)
- b. Licda. Suzette Boburg (Auxiliar del proyecto)
- c. Julio Cesar Mass (Técnico de LAMIR)
- d. Br. Alejandra Marroquín (Auxiliar del proyecto)
- e. Br. Jeimy Alexandra Quan Lam (Investigadora)

2. Materiales

- Agar PDA
- Agar Sabouraud
- Tubos con Sabouraud
- Cajas de petri
- Guantes de látex

- Algodón
- Alcohol al 70%
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Asas bacteriológicas en punta y en L
- Asa en espátula
- Papel parafilm
- Tijeras
- Masking tape
- Etiquetas
- Marcadores

a. Reactivos

- Azul de lactofenol
- Agua esterilizada
- Agua desmineralizada
- Aceite mineral

b. Cristalería

- Pipeta volumétrica de 10 ml.
- Beacker

c. Equipo

- Autoclave
- Campana de flujo laminar
- Incubadora
- Aeroscopio (ECO MAS 100)
- Microscópio

d. Institucionales

- LAMIR (Laboratorio microbiológico de referencia)
- LAFYM (Laboratorio de análisis fisicoquímico y microbiológico)
- AMSA (Autoridad en el manejo sustentable en el lago de Amatitlán)

D. Metodología

Para la recolección de muestras se utilizó el método volumétrico por impactación utilizando un biolector de ranura por impactación (Eco Mas 100). Los puntos de muestreo del ambiente exterior e interior, se seleccionaron con base a un diseño de tipo triangular, según el cual se establecen tres puntos de muestreo que mostrarán mayor contaminación, con una réplica de tres cajas de Petri por punto. Las cajas de Petri a utilizar para la obtención de las muestras contenían como medio de crecimiento (Agar Saboraud con 7.5 % NaCl) para el crecimiento de hongos microscópicos. El muestreo tuvo una duración de 6 meses.

Esta investigación la cual formó parte del macroproyecto titulado “Impacto de la calidad microbiológica del aire externo en el ambiente interno de la salud del personal de cuatro laboratorios de instituciones públicas en la Ciudad de Guatemala y Bárcenas, Villa Nueva”, se centro en la identificación y clasificación hasta género de las diferentes especies de hongos microscópicos aislados.

E. Análisis de las muestras

La identificación de los hongos filamentosos se realizó por examen macroscópico de la colonia y de sus características microscópicas, las cuales fueron comparadas con claves dicotómicas para su caracterización hasta género.

1. Caracterización macroscópica

Se utilizaron parámetros como la forma de la colonia, el color de la superficie, la textura y la producción de pigmentos los cuales son muy útiles para la identificación de la cepa.

2. Caracterización microscópica

En general, la morfología microscópica de los hongos es estable y presenta pocas variaciones. La identificación definitiva se basó en la forma característica, método de producción y ordenamiento de las esporas, siendo también importante conocer el tamaño y la disposición de las hifas. La preparación del material para la observación microscópica se realizó en fresco y mediante cultivo en lámina (3).

Preparación en fresco

Para la identificación de *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria*, levaduras y *Fusarium*. Se realizó el procedimiento descrito a continuación:

1. Se limpió la campana con alcohol al 70% y se puso la luz UV por 15 minutos.
2. Se procedió a trabajar dentro de la campana.
3. Se seleccionó una colonia aislada.
4. Se calentó en el incinerador un asa de siembra en punta.
5. Con la ayuda del asa se extrajo un fragmento del centro de la colonia ya que es esta la parte donde van a estar mejor desarrolladas las estructuras por ser la más antigua.
6. Se depositó el fragmento extraído sobre un portaobjetos en el cual, previamente, se depositó una gota de azul de lactofenol.
7. Se cubrió con un portaobjetos y se presionó suavemente para dispersar la colonia; de esta forma la muestra quedó disponible para su observación al microscopio.

b. Cultivo en lámina

Para la identificación de *Monilia*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Rhodotorula*, *Scopulariopsis*, *Stenphylium*, *Trichophytum Georgia*, y *Trichosporum*. Se realizó empleando el procedimiento descrito a continuación:

1. Si la colonia seleccionada al observarla al microscopio en la preparación en fresco no se logró identificar se procedió a realizar el cultivo en lámina.

2. Se limpió la campana con alcohol al 70% y se puso la luz UV por 15 minutos.
3. Se procedió a trabajar dentro de la campana.
4. Se cortó un bloque de 1cm^2 de agar Sabouraud, con la ayuda de un asa en espátula.
5. Se colocó el bloque de agar Sabouraud sobre el portaobjetos estéril, el cual estaba contenido dentro de una caja de Petri de vidrio previamente esterilizada.
6. Con un asa en forma de L, se inoculó los cuatro cuadrantes del bloque de agar con la cepa fúngica a identificar (Figura No. 7).
7. A continuación se colocó un cubreobjetos estéril sobre la superficie del bloque de agar inoculado.
8. Se agregaron 6 ml de agua estéril a la caja de Petri que contiene el cultivo y luego se tapó. Se incubó a 26°C por 7 días.
9. Finalizado el período de incubación, se prepararon dos láminas para observar al microscopio de la siguiente manera:
 - se retiró el cubreobjetos de la superficie del bloque de agar y se colocó en un portaobjetos que con una gota de azul de lactofenol.
 - luego se retiró el bloque de agar que contenía la cepa fúngica inoculada del portaobjetos utilizado inicialmente y se agregó una gota de azul de lactofenol sobre la zona del cultivo colocando un cubreobjetos sobre ella.
10. La observación al microscopio se hizo con un aumento de 40x y esto permitió distinguir e identificar la forma y disposición de las esporas.

Figura No. 7: Cultivo en lámina



Fuente: Maldigan M, et al. Biología de los microorganismos. 10 ed. Madrid, España: Pearson Prentice Hall, 2004

c. Observación al microscopio

Para ello se utilizó azul de lactofenol como colorante para la preparación de las muestras en fresco y cultivos en lámina para la observación de las características morfológicas con un aumento de 10x y 40x.

Los procesos se llevaron a cabo en campana de flujo laminar para evitar cualquier contaminante tanto en el laboratorio, como al personal que labora dentro del laboratorio. Finalmente se logró determinar a qué género corresponde la cepa aislada con la ayuda de claves dicotómicas y cepas de referencia del cepario que se encuentra dentro del LAMIR (Laboratorio Microbiológico de Referencia).

3. Conservación de las cepas en aceite mineral

Se cubrió completamente el cultivo después de su desarrollo en medio sólido (agar Sabouraud en tubo), luego de su caracterización, con una capa de aceite mineral. Cada una de las cepas caracterizadas se clasificó en base al laboratorio del que había sido aislada. Es importante que antes de realizar el inóculo de la cepa fúngica por medio de picadura hacia el tubo con el medio de cultivo, se observe que la misma se encuentre en óptimas condiciones, ya que estas al seguir activas, excretan productos tóxicos del metabolismo que se acumulan, provocando el envejecimiento y muerte celular.

Todo esto con el fin de que dichas cepas sirvan de referencia para futuras investigaciones. Los cultivos en esta forma se pueden conservar a temperatura ambiente o aún mejor en refrigeración por períodos de varios años (2-20 años) (74).

A cada tubo conteniendo una cepa se le debe colocar la siguiente información: como las iniciales del laboratorio, si proviene del ambiente interior o exterior, el número de cepa aislada así como el género fúngico. Luego se clasificaron en gradillas por nombre de laboratorio y se fueron guardadas dentro del espacio destinado para cepario.

F. Diseño experimental:**a. Muestra y diseño de muestreo:**

Se seleccionaron por conveniencia 3 puntos en el exterior e interior de tres laboratorios LAMIR (Laboratorio microbiológico de referencia), LAFYM (Laboratorio de análisis fisicoquímico y microbiológico), AMSA (Autoridad en el manejo sustentable en el lago de Amatitlán), una vez al mes por seis meses. (Muestra por conveniencia).

b. Análisis de resultados: Se realizó una estadística descriptiva como la enumeración de los géneros fúngicos aislados y frecuencia en general. Para la evaluación de los resultados se elaboró:

1. Tablas
2. Gráficas

Utilizando el paquete informático Microsoft Office Profesional 2007.

VIII. AVAL DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

El presente proyecto fue realizado con el aval del ente ejecutor, Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR) y se deriva del proyecto denominado “Impacto de la calidad microbiológica del aire externo en el ambiente interno en la salud del personal de cuatro laboratorios de instituciones públicas en la Ciudad de Guatemala y Bárcenas Villa Nueva”. Proyecto FODECYT No. 002-08. Los resultados obtenidos en el presente proyecto cuentan con el aval del LAMIR para su publicación.

IX. RESULTADOS

En la presente sección se muestran los resultados obtenidos en este estudio en cuanto a los géneros fúngicos predominantes en el ambiente interior y exterior de los tres laboratorios –LAMIR, -LAFYM- y –AMSA-.

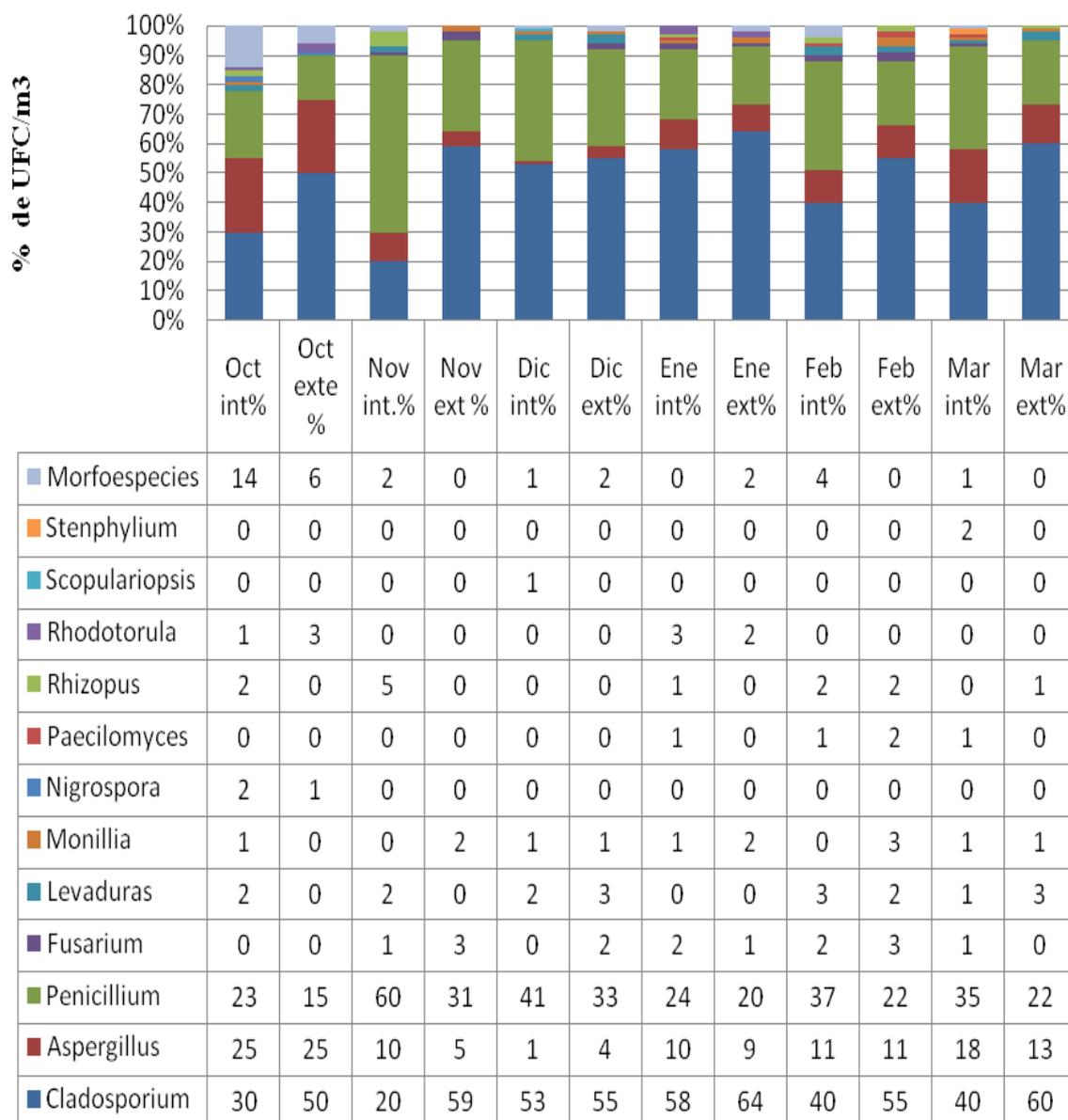
A. Identificación de géneros fúngicos

1. Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR):

En la gráfica 1 se muestra el comportamiento fúngico de los tres géneros predominantes en el aire interior y exterior a lo largo de los seis meses de muestreo dentro del Laboratorio Microbiológico de Referencia –LAMIR-, siendo estos *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Penicillium*. Sin embargo, el género *Cladosporium* fue el que presentó un mayor porcentaje de aparición durante octubre y de diciembre a marzo. En el ambiente interior el género *Penicillium* fue el segundo lugar en aparición a excepción del mes de noviembre cuando tuvo mayor porcentaje que *Cladosporium* y en octubre ocupó el tercer puesto, y el género *Aspergillus* como se muestra en la gráfica sólo en octubre ocupó el segundo lugar en porcentaje de aparición. Los siguientes cinco meses ocupó el tercer puesto de aparición, siendo de los tres géneros predominantes, el de menor porcentaje de aparición en el aire interior del laboratorio. En el ambiente exterior, *Penicillium* se mantuvo en segundo lugar de frecuencia de aparición en cinco meses, ya que en octubre el género *Aspergillus* (25%) reportó un valor más alto que el reportado por el género *Penicillium* (15%).

Los géneros *Fusarium*, las levaduras, *Monillia*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Rhizopus*, *Rhodotorula*, *Scopulariopsis* y *Stenphylium* predominaron durante los seis meses de muestreo pero en menor porcentaje (< 5%). Las morfoespecies o especies no identificadas en un porcentaje igual al (5%).

Gráfica 1. Porcentaje de carga fúngica en UFC/ m³ de los diferentes géneros muestreados periódicamente (Oct-Mar) en ambos ambientes del -LAMIR-

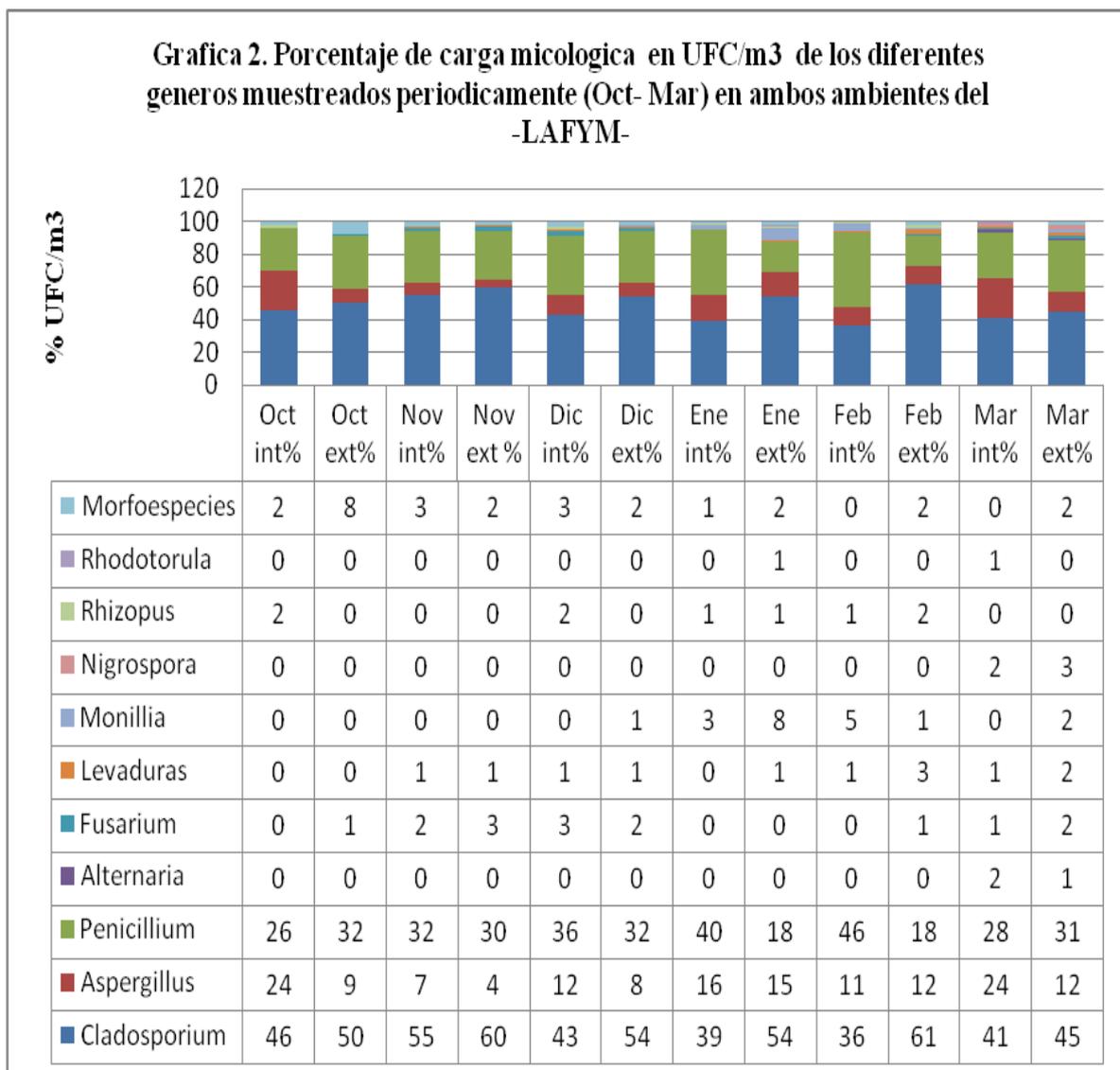


Fuente: datos experimentales obtenidos para este estudio

2. Laboratorio de Análisis Físicoquímico y Microbiológico (LAFYM):

En la gráfica 2 se observa que en el ambiente interior del Laboratorio de Análisis Físicoquímico y Microbiológico de los tres géneros fúngicos predominantes *Cladosporium* ocupa el primer lugar en porcentaje de aparición en los meses de octubre, noviembre, diciembre y marzo, y registró el valor máximo durante noviembre (55%),

en los meses de enero y febrero. El género *Penicillium* alcanzó su valor máximo en febrero (46%). El género *Aspergillus* ocupó el tercer lugar de géneros más frecuentes alcanzando su valor máximo en octubre y en marzo con un valor de porcentaje de (24%) en ambos meses. En el aire exterior a diferencia del comportamiento que se registró en el ambiente interior, *Penicillium* ocupó el segundo lugar de frecuencia de aparición en los seis meses de muestreo del aire.

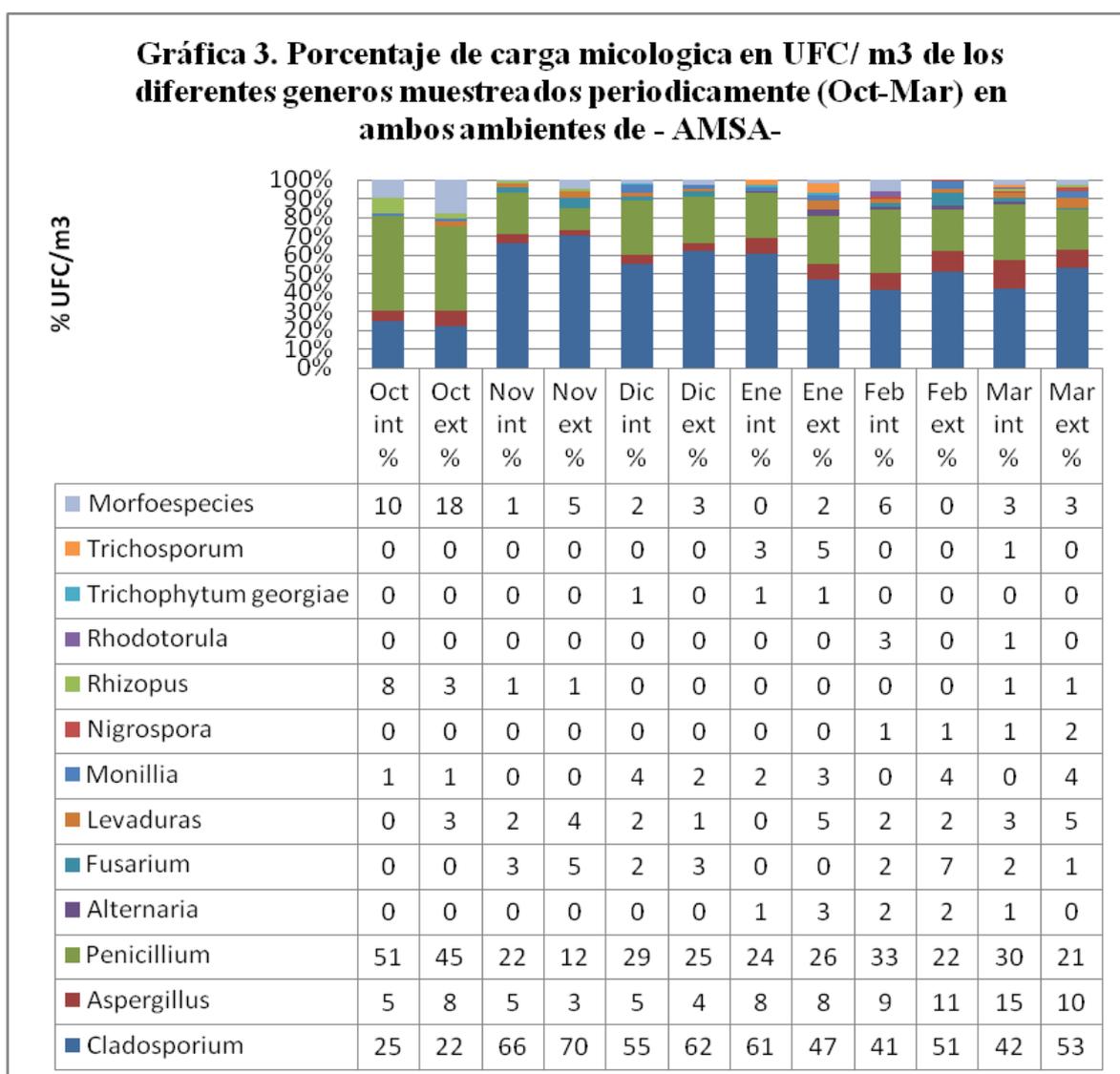


Fuente: datos experimentales obtenidos para este estudio

Los géneros *Alternaria*, *Fusarium*, levaduras, *Monillia*, *Nigrospora*, *Rhizopus*, *Rhodotorula*, predominaron durante los seis meses de muestreo, pero en menor cantidad (<5%). Las morfoespecies o generos fúngicos no identificados también se encontraron en porcentajes (<5%).

3. Laboratorio de la Autoridad para el Manejo Sustentable del Lago de Amatitlán (AMSA):

Como se presenta en la gráfica 3, en el aire interior y exterior del laboratorio de AMSA, *Penicillium* (51% interior y 45% exterior), ocupó el primer lugar de frecuencia de aparición en octubre, ya que se registró un porcentaje mayor al reportado para *Cladosporium* (25% interior y 22% exterior). En los otros cinco meses de muestreo se registraron valores menores a los de *Cladosporium*, situándose en el segundo lugar de frecuencia de aparición.

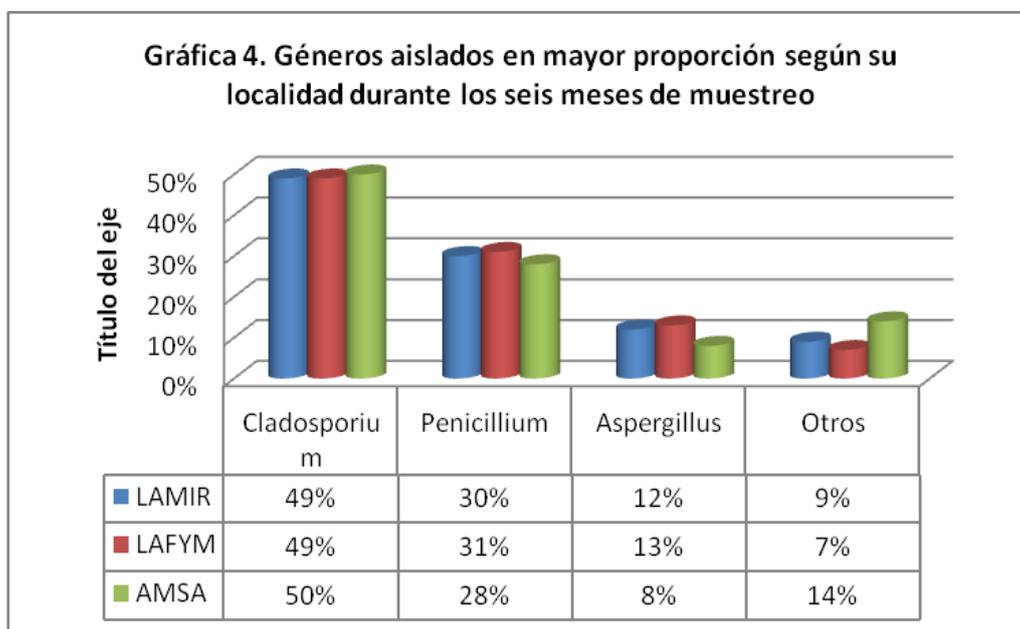


Fuente: datos experimentales obtenidos para este estudio

Los géneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Monillia*, *Nigrospora*, *Rhizopus*, *Rhodotorula*, *Tricophytum georgiae*, *Trichosporum* y las especies no identificadas se encontraron a lo largo de los seis meses de muestreo en porcentajes (<5%).

B.Géneros predominantes

Como se observa en la grafica 4, el género *Cladosporium* fue el más predominante a lo largo de los seis meses de muestreo en los tres laboratorios estudiados con porcentajes del 49 para el LAMIR y LAFYM, con porcentajes similares AMSA del 50. Luego el segundo género con mayor predominancia fue *Penicillium* con porcentajes de aislamiento del 30, 31 y 28 para LAMIR, LAFYM y AMSA respectivamente. Y para el género *Aspergillus* se presentaron resultados de 12, 13 y 8 para LAMIR, LAFYM y AMSA. A lo largo de los seis meses de muestreo también se encontraron varios géneros fúngicos pero en proporciones mucho menores y algunas morfoespecies. Cabe resaltar que el laboratorio en el que más variedades de especies se encontraron fue el laboratorio de AMSA.



Fuente: datos experimentales obtenidos para este estudio

X. DISCUSION DE RESULTADOS

Los hongos son considerados entre los más importantes componentes de los aerosoles biológicos presentes en el aire interior. Debido a que crecen en superficies húmedas en forma de placas de moho, los hongos suelen poner en evidencia problemas de humedad y de riesgo potencial para la salud en un edificio. La concentración de esporas en el aire están influenciadas por un gran número de factores biológicos y medioambientales que interaccionan entre ellos, de este modo cada localidad presenta su propia aeromicroflora (50).

1. Géneros fúngicos predominantes en los tres laboratorios en estudio

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran la existencia de hongos filamentosos y levaduras como contaminantes del ambiente, por lo que se consideró importante determinar los géneros presentes en cada uno de los tres laboratorios. Los géneros encontrados con mayor frecuencia de aparición en los tres laboratorios son *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*, como géneros predominantes en ambos ambientes a lo largo de todo el estudio. Estos resultados coinciden con los obtenidos en un estudio realizado por Rosas y Calderón en diferentes zonas de urbanización de México (51).

El género *Cladosporium* es el hongo microscópico que predominó en el aire interior y exterior a lo largo de los seis meses de muestreo (gráfica 4), lo que coincide con lo expuesto por Cosentino y colaboradores en 1995, que determinaron que *Cladosporium* es frecuente en el aire de numerosas ciudades (52). A su vez coincide con Takahashi en 1997, quien publicó que el género *Cladosporium* predominó tanto sobre la tierra como sobre el mar y el aire aunque también es frecuente encontrar otros hongos, como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Mucor*, y la levadura *Rhodotorula* según Underwood, 1992. Este género tiene capacidad de producir trastornos alérgicos en el hombre, además su elevada concentración podría potenciar la respuesta inmunológica de aquellas personas sensibles a otros géneros fúngicos patógenos oportunistas como *Penicillium*, *Aspergillus* y otros géneros que tuvieron menor frecuencia de aparición y que se discutirán más adelante (48).

Estos resultados coinciden con lo planteado por Bartra en el 2003, el cual dice que las cantidades exteriores de esporas de *Cladosporium* son usualmente altas durante el verano y se reducen durante el invierno (72). Este género es cosmopolita saprófito, patógeno de plantas y con una gran importancia por su capacidad para producir trastornos alérgicos en el hombre y diversas patologías en cultivos (50).

El segundo género más abundante fue *Penicillium* (gráfica 4). Es un hongo saprófito que se alimenta de desechos, encontrado de preferencia en interiores. Su nutrición comprende comidas descompuestas, quesos, etc. La importancia de este género radica en que ha sido reportado como agente causal de penicilosis broncopulmonar, de infecciones del oído externo (Arenas, 1,993), neumonitis por hipersensibilidad, alveolitis alérgica en individuos susceptibles y se ha reportado como alergénico a nivel de piel. También ha sido reportado como contaminante común de varios sustratos, como es el caso de los materiales poliméricos, responsable de micotoxicosis y micosis, así como también es útil en la industria y en procesos de fermentación de alimentos.

Con registros inferiores al género anterior se encuentra *Aspergillus* (gráfica 4). Las esporas de este género se dispersan fácilmente en el aire y pueden causar alergias, debido a la inhalación u otros contactos con el hongo. Afecta a nivel de tracto respiratorio superior causando rinitis, puede desencadenarse una alveolitis o desarrollarse un proceso asmático, conjuntivitis o dermatitis. Su capacidad para crecer a 37°C lo hace idóneo para afectar al ser humano (22,28). Su importancia radica en la ubicuidad de los aspergilos es debida a su capacidad para crecer a diferentes temperaturas sobre sustratos con diversos contenidos de humedad (27). Este es un género grande y se encuentra en casi todas partes, siendo el género de hongos aislado con más frecuencia en suelos (15). La gran mayoría de los asmáticos muestran evidencias de sensibilización a especies de *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus* (27,30).

Según la gráfica 4, en los tres laboratorios se aislaron otros géneros fúngicos en menor porcentaje. Los cuales serán discutidos a continuación, pero cabe resaltar que se aislaron en porcentajes tan pequeños que no son significativos para la salud del personal que trabaja dentro de los laboratorios. Pero si es importante tomar las precauciones y medidas de higiene adecuadas para evitar que dichos géneros predominen dentro del ambiente interior de los laboratorios.

2. Géneros fúngicos aislados con menor porcentaje de frecuencia de aparición durante los seis muestreos periódicos en los tres laboratorios en estudio

En el LAMIR se aisló el género *Fusarium*, el cual es común en tierra y presentó un porcentaje de aparición en el aire exterior e interior durante los seis meses de muestreo del 1% (gráfica 1). Esto pudo deberse al elevado tránsito de personal dentro de las instalaciones del laboratorio, pudiendo arrastrar hacia el interior las esporas de este hongo en el polvo de los zapatos. El ambiente exterior de este laboratorio se encuentra rodeado de vegetación, de donde provienen estas esporas fúngicas presentes en el aire exterior.

En el ambiente interior del LAFYM se registró el género *Fusarium* con un porcentaje de 1%. En el ambiente exterior se encontró con un porcentaje de 2% (gráfica 2). Hubo mayor frecuencia de aparición en el ambiente exterior que en el ambiente interior, lo cual pudo deberse al tránsito abundante de personal en esta área y la exposición que posee esta área a la contaminación provocada por camionetas y carros, así como también a las aves que llegan a este ambiente exterior, quienes transportan muchos microorganismos. Debe evitarse la presencia de *Fusarium* en el aire interior y exterior, ya que pueden formar micotoxinas. Otros fusarios pueden crecer en el refrigerador. La persistencia de los fusarios en el suelo durante uno a varios años se debe, principalmente, a la presencia de las clamidosporas. Estos requieren para germinar fuentes exógenas de nutrientes, por lo que son muy sensibles al antagonismo, pero su distribución casi universal indica la omnipresencia de los microambientes específicos. La tolerancia de algunos fusarios, tales como: *F. oxysporum* y *F. solani*, a una alta presión parcial de CO₂, permite el aislamiento selectivo de los mismos a partir de algunos substratos muy poblados (66). Los fusarios no compiten bien con las especies de *Aspergillus* y *Penicillium* (67), esta es una de las razones por las cuales, se registró un bajo índice de representantes de este género en esta investigación, ya que *Aspergillus* y *Penicillium* son géneros que predominaron a lo largo de los seis meses de monitoreo del aire en los tres laboratorios.

En el laboratorio de AMSA en el ambiente interior se registró el género *Fusarium* durante los meses fríos con porcentajes menores al 1% y durante los meses cálidos con porcentajes de 1%. En el ambiente exterior durante los meses de muestreo, se aisló con una frecuencia de aparición de 1% (gráfica 3). En este laboratorio se presentó mayor

contaminación en el ambiente exterior, lo cual pudo deberse a la gran cantidad de vegetación que rodea este laboratorio, así como la influencia del relleno sanitario donde puede haber sustratos enriquecidos que favorezcan la presencia de este género, como son cereales, granos, frutas podridas y hortalizas (66).

Alternaria es un género fúngico versátil en el aire. Este género incluye un gran número de especies patógenas de plantas de interés agrícola pertenecientes a Solanáceas, Crucíferas, Cucurbitáceas, etc. Se encuentran como saprobios sobre partes muertas o marcescentes de estos vegetales. Es capaz de vivir sobre una gran cantidad de sustratos (suelo, cuero, pinturas, papel, madera, lana, semillas, restos vegetales, etc.). Se encuentra en baja proporción en el aire de numerosas ciudades (65).

En el LAFYM se aisló únicamente en marzo, en el ambiente interior 2% y exterior 1%, presentando así un porcentaje tan pequeño que no es significativo para afectar la salud del personal (gráfica 2). *Alternaria* produce esporas largas de 20-200 μ m de largo y 7-18 μ m de ancho, lo que sugiere que estas esporas se depositan en la nariz, boca y tracto respiratorio superior, por lo que se le asocia con asma, hipersensibilidad a neumonías, sinusitis, onicomicosis, phaeophomycosis subcutáneas e infecciones invasivas con presencia de enfisema pulmonar. También, se aisló este género en el ambiente interior de AMSA durante los meses de enero a marzo con un porcentaje de aparición menor al 1%. Un comportamiento similar se registró en el ambiente exterior con la diferencia que únicamente se encontró en enero 3% y febrero 2% (gráfica 3). Aunque estas concentraciones no son significativas es importante tomar las medidas pertinentes para proteger la salud del personal.

Las levaduras fueron descritas, sin embargo se presentan como morfoespecies, ya que no se logró la identificación de las mismas. La mayoría son mesófilas, con una temperatura máxima de crecimiento entre 24 y 48°C. Sólo unas pocas (2%) son psicrófilas con una temperatura máxima de crecimiento por debajo de 24°C, pero mayor es el número de las levaduras que tienen la temperatura óptima de crecimiento por debajo de 20°C. Estas se registraron con un porcentaje de aparición en el aire interior y exterior de LAMIR, durante todo el muestreo del 2% (gráfica 1). Se registró la mayor presencia de representantes de este género en el ambiente interior de este laboratorio, lo cual pudo deberse al tránsito de personal dentro de las instalaciones de este, así como la falta de ventilación del mismo. Estas están ampliamente distribuidas en la naturaleza. Se

encuentran sobre hojas, flores, frutos, piel, cuero, plumas y tracto digestivo de animales hervívoros y omnívoros. Algunas están asociadas con insectos, pero el suelo es el mayor reservorio (53).

Existen 623 especies conocidas de levaduras distribuidas en 60 géneros taxonómicos. Aproximadamente 30 pueden producir enfermedades humanas y animales, o contribuir a ellas, por lo que se las considera levaduras de importancia médica. Dentro de estas, las más frecuentemente aisladas como agentes causales de infecciones en humanos son *Candida albicans*, otras especies de este género: *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae* y otros hongos levaduriformes, entre los cuales los de mayor importancia son *Cryptococcus neoformas*, *Trichosporon beigeli*, *Malassezia furfur*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces* y *Hansenula* (69). En el LAFYM se reportó una frecuencia de aparición menor al 1% en el aire interior. En el ambiente exterior se reportó un porcentaje de aislamiento mayor al 1%, durante los seis meses de muestreo (gráfica 2). Se registró la mayor frecuencia de aparición en el ambiente exterior, que en el ambiente interior, también se observó un mayor porcentaje de la época seca, ya que su crecimiento se ve favorecido por un ambiente cálido y húmedo. Otra causa importante es el alto índice de palomas que llegan a esta área, así como la contaminación automotriz de esta zona.

En el ambiente interior de AMSA, se registró una frecuencia de aparición de levaduras (morfoespecies) del 2% y en el ambiente exterior con porcentaje del 3% (gráfica 3). Este aumento en el índice de contaminación de levaduras en el ambiente exterior es a causa de la vasta vegetación que rodea este laboratorio, así como la cercanía del relleno sanitario, que es una fuente de contaminación para el ambiente exterior.

En la mayoría de las muestras de aire interior se encuentran levaduras, y en ocasiones pueden estar presentes en cantidades elevadas. Las levaduras rosas como *Rhodotorula* o *Sporobolomyces* son componentes destacados de la flora en suspensión en el aire y también pueden aislarse de superficies afectadas por mohos (54). En LAMIR se reportó *Rhodotorula* con porcentajes menores a 1% en el ambiente interior; en el ambiente exterior se reportó la presencia de esta levadura en mayor proporción, en los mismos meses que se reportó en el ambiente interior, registrando porcentajes

cercanos al 1% (gráfica 1), evidenciando una contaminación mayor en el ambiente exterior. Esta levadura es considerada contaminante ambiental de fácil propagación aérea, y causante de enfermedades respiratorias (neumonías) en hospitalizados (69).

La presencia de *Rhodotorula* en el ambiente interior y exterior del LAFYM, en cantidades menores al 1% no son significativas para causar algún daño al personal del laboratorio (gráfica 2), su presencia pudo deberse a la vasta vegetación que se encuentra en el área exterior de este laboratorio.

El género *Rhodotorula* es considerado contaminante ambiental de fácil propagación aérea, y causante de enfermedades respiratorias (neumonías) en hospitalizados. En el laboratorio de AMSA únicamente se registró la presencia de esta levadura en el ambiente interior en bajos porcentajes, durante los meses de febrero y marzo. Esto indica que en el ambiente interior de este laboratorio, se encuentra el foco de contaminación por esta levadura. Esto era de esperarse, puesto que es una especie que se encuentra habitualmente como parte de la microbiota normal del aire por la contaminación automotriz y las fuertes ráfagas de viento que las transportan hacia lugares con vegetación permitiendo así la supervivencia de ellas en el aire (54).

El otro género identificado en el laboratorio de AMSA es *Trichosporum*, con una baja frecuencia de aparición durante enero y marzo, en el aire interior. Es ubicuo y generalmente se encuentra en sustratos ambientales y madera descompuesta. Forma parte de la microbiota comensal intestinal en el ser humano y coloniza de manera transitoria la piel y las vías respiratorias (54). Además se encontró en el aire exterior de este laboratorio en enero.

En el laboratorio de AMSA se reportó el género *Trichophyton* en el aire interior en diciembre y enero, en el ambiente exterior en enero (gráfica 3). A pesar de haberse encontrado en cantidades bajas dentro del laboratorio es importante estudiar la presencia del mismo en el aire, ya que es un hongo cosmopolita, de distribución mundial. Es endémico en México, donde ocasiona alrededor del 70% de las *tinea capitis*, y otros países latinoamericanos y en las islas del Pacífico Sur. Los movimientos migratorios y los viajes juegan un importante papel en su expansión, ya que a través de los portadores asintomáticos, puede pasar de zonas endémicas a otras áreas geográficas (71).

El género *Monillia* se encuentra muy relacionado con infecciones de ojos envolviendo la córnea así como en asma y alergias. En el LAMIR, se registró en el ambiente interior y exterior con una frecuencia de aparición del 1% durante todo el muestreo. En el ambiente exterior se reportó mayor frecuencia de aparición que en el ambiente interior (gráfica 1). Esto es importante puesto que la menor frecuencia de aparición debe ser en el ambiente interior, lo que disminuye el riesgo de afecciones en la salud. También en el LAFYM, en el ambiente interior se registró su presencia en un porcentaje del 1%. Por el contrario en el ambiente exterior, se reportó presencia de este hongo en un porcentaje del 2% a lo largo de los seis meses de muestreo (gráfica 2). Se encontró mayor contaminación por este género en el ambiente exterior, el cual puede ser afectado por el tránsito frecuente de personal así como a la contaminación automotriz, ya que este laboratorio se encuentra ubicado dentro de una zona urbana dentro de la capital.

Para el laboratorio de AMSA se registró mayor contaminación por *Monilia* en el aire interior que el reportado en los dos laboratorios anteriores, lo cual pudo deberse a la cercanía del relleno sanitario donde se descarta material como restos de flores y frutos en descomposición que puede contener contaminación por este hongo. Se reportaron valores de 1% y en el ambiente exterior se registró un porcentaje menor al 1% durante los meses de época fría y 1% en los meses de época cálida (gráfica 3).

Nigrospora es un hongo filamentoso, considerado como alérgeno y causante de procesos pulmonares, por lo que se puede establecer la relación entre los síntomas alérgicos y la presencia de estos géneros (56). Se aisló con un porcentaje de aparición en el ambiente interior y exterior del LAMIR, durante el mes de octubre de 2% y 1% respectivamente. Es un hongo ampliamente distribuido en los suelos, plantas en descomposición y semillas. Es un contaminante común de los laboratorios. Aunque en porcentajes tan bajos realmente no es significativo. Además, este hongo registró bajos porcentajes de frecuencia de aparición en los ambientes muestreados en el LAFYM (gráfica 2). Para el laboratorio de AMSA este género registró bajos porcentajes de aislamiento en los ambientes muestreados (gráfica 3), durante los meses de febrero y marzo. Esto indica que en particular durante marzo, se presentaron las condiciones climáticas favorables para la supervivencia de estas esporas en el aire y evitar su desecación.

El género *Paecilomyces* se encontró únicamente en el ambiente interior del LAMIR, en enero, febrero y marzo con una frecuencia de aparición en los tres meses de 1%, y en el ambiente exterior de este laboratorio en febrero con un 2% de frecuencia de aparición (gráfica 1). A pesar de no ser este el laboratorio que reportó mayor contaminación, es uno de los laboratorios donde se registró mayor diversidad de géneros fúngicos, lo cual puede deberse a la cantidad de personal que labora dentro de las instalaciones de este laboratorio. Se ha determinado que los hongos clásicamente descritos como patógenos en pacientes inmunocomprometidos (*Cándida* y *Aspergillus*), se agregan otras especies menos conocidas como *Mucor*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Alternaria* y *Paecilomyces*, constituyéndose estos últimos, en nuevos agentes infecciosos emergentes.

El género *Rhizopus* estuvo presente en porcentajes de 1% a lo largo de los seis meses de muestreo en el LAMIR (gráfica 1). Lo cual pudo deberse a los residuos de polvo, en los cuales, se depositan estas esporas y a la pulpa de ciertos materiales como café que se ingresan en este laboratorio para ser esterilizados, como materia prima de otros proyectos de investigación.

Rhizopus tiene importancia debido a que presenta gran cantidad de representantes saprófitos, se encuentra con frecuencia en suelos con arena, en el compost, en el polvo de las casas, en la pulpa de la madera, estiércol, panales de abejas, nidos y plumas de aves y en diferentes frutos y semillas. En el LAFYM se registró en el ambiente interior y exterior, durante los meses de muestreo con un porcentaje menor a 1% (gráfica 2), como resultado del alto índice de palomas que llegan a estas instalaciones, botando sus plumas en áreas cercanas a este laboratorio. Las esporas de estos hongos no son abundantes en el aire libre, aunque su frecuencia aumenta en lugares donde hay humedad y se acumula vegetación muerta. La exposición a concentraciones elevadas de esporangiosporas de *Rhizopus* se ha descrito como causa de alveolitis alérgica extrínseca (pulmón de serrador) en serrerías suecas (56). También se reportó este género, en el ambiente interior de AMSA con una frecuencia de aparición baja en los ambientes muestreados (gráfica 3). Este género puede presentar manifestaciones de bronquitis, bronconeumonía, embolia o cavitación pulmonar (17).

El género *Scopulariopsis* únicamente se reportó en diciembre en el aire interior de LAMIR con un porcentaje de frecuencia de aparición de 1% (gráfica 1). Con esto, se denota que las esporas de este género son muy estrictas en cuanto a condiciones

climáticas, y su diseminación en octubre a marzo fue muy baja, presentándose únicamente en el ambiente interior. Este género es el agente causal de diversas infecciones en humanos. Provoca Onicomycosis en las uñas, lesiones de piel, micetomas, sinusitis invasiva (61), queratitis, infecciones pulmonares, endocarditis y abscesos cerebrales. Las infecciones invasivas provocadas por representantes de este género suelen presentarse con mayor frecuencia en pacientes inmunocomprometidos (62).

El género *Sthemphylium* al igual que *Scopulariopsis*, únicamente se registró en el ambiente interior del LAMIR (gráfica 1), en el mes de marzo con una frecuencia de aparición del (2%). Este hongo filamentoso junto con *Alternaria* es uno de los hongos alérgicos cosmopolitas más comunes en el hemisferio norte, sobre todo en sus zonas templadas y subtropicales. Ambos hongos comparten fracciones alérgicas. Se ha aislado de suelos de bosques, praderas, cultivos de trigo y otros cereales, cultivos de cítricos y cafetales. Su asociación con diferentes cuadros alérgicos respiratorios ha sido observada en múltiples estudios. No se han descrito infecciones humanas por este hongo. Es considerado normalmente como un contaminante ambiental. Su principal importancia radica su presencia en el aire exterior, puesto que es un hongo que ataca principalmente a plantas, cuando poseen una herida natural en las hojas. Es el agente causal de la mancha púrpura y estenfilosis en plantas (64).

Cabe resaltar que el laboratorio AMSA presentó la mayor diversidad de géneros fúngicos con respecto a los dos laboratorios anteriores, esto puede deberse a que el laboratorio de AMSA se ubica cercano a un basurero y entre sus actividades están el constante contacto con materiales, equipo y movimiento del personal que labora en el lago de Amatitlán.

Es importante caracterizar los géneros fúngicos, para así saber la calidad de aire, ya que algunos de estos son considerados patógenos; por lo que debe controlarse su presencia en el aire interior de los laboratorios. Por otra parte, se indica la cantidad de géneros que no pudieron ser caracterizados en las gráficas de los tres laboratorios en estudio, aunque se observaron algunas de sus características microscópicas, no se logró identificar el género por la falta de información suficiente y problemas en el aislamiento. Por lo que únicamente fueron identificados como morfoespecies.

XI. CONCLUSIONES

1. Se caracterizaron 16 géneros fúngicos, aislados de los diferentes laboratorios *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Monilia*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Rhodotorula*, *Scopulariopsis*, *Stemphylium*, *Trichophyton georgiae*, *Trichosporum* y levaduras.
2. Los géneros fúngicos que se obtuvieron con mayor frecuencia en los tres laboratorios, en orden de predominancia son: *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*.
3. El género que se reportó en los seis meses de muestreo, siendo este el de mayor predominancia durante el estudio fue *Cladosporium*.
4. Los géneros fúngicos con menor predominancia fueron *Paecilomyces*, *Scopulariopsis* y *Stemphylium*, únicamente aparecieron en el aire interior del Laboratorio Microbiológico de Referencia–LAMIR-.
5. El LAMIR fue el laboratorio que presentó mayor diversidad de géneros fúngicos, se considera que influyó la ubicación en medio de los laboratorios del Departamento de Microbiología.
6. Se aislaron géneros fúngicos que son reconocidos como agentes oportunistas con comportamiento patógeno en diversos problemas clínicos en humanos: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*.
7. *Trichophyton georgiae* se reportó únicamente, en el aire interior y exterior del laboratorio de AMSA.
8. Se aislaron géneros fúngicos con una importante acción celulolítica (*Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* sp.) que representan un riesgo para la documentación que se archiva en cada laboratorio.
9. Se aislaron géneros fúngicos conocidos como oportunistas, alérgenos y biodeteriorantes (*Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*), los cuales en condiciones climatológicas adecuadas que permitan su supervivencia, constituyen un factor indirecto que provoca afecciones en la salud en personas inmunocomprometidas.

XII. RECOMENDACIONES

1. Sensibilizar al personal de trabajo, estudiantes, investigadores y personal administrativo, sobre la importancia de la limpieza ambiental y sus consecuencias.
2. Realizar otros estudios aeromicológicos en diferentes puntos del país a fin de establecer los parámetros de carga fúngica en los diferentes climas que posee Guatemala.
3. En el caso de los laboratorios que poseen climatización (aire acondicionado) se les recomienda darles mantenimiento continuo, para mantener un buen funcionamiento de los filtros de aire, y no poseer reservorios de microorganismos que los mantengan en recirculación en el aire interior, al momento de entrar y salir el aire de estos equipos.
4. Llevar un control de la temperatura y humedad relativa en el ambiente interior de cada uno de los laboratorios como medida de prevención, esto evita la supervivencia de los microorganismos en el aire interior.
5. Para prevenir problemas de salud relacionados con enfermedades respiratorias y de tipo alérgico, se debe realizar de manera rutinaria un análisis de la calidad microbiológica del aire, así como una limpieza periódica de cada laboratorio para evitar los padecimientos asociados con los microorganismos presentes en el ambiente.
6. Promover las medidas de bioseguridad que deben ser aplicadas en cada laboratorio a nivel administrativo, para contar con el apoyo necesario para las gestiones de mejoras en la infraestructura y readecuación de los laboratorios.
7. Promover la formación académica en el área de Micología para contar con más expertos en el aislamiento e identificación de los hongos microscópicos.

8. Ampliar documentación o material de referencia como claves dicotómicas que permitan la identificación de una mayor cantidad de géneros fúngicos en futuras investigaciones.

XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Herrera, J.L. Informe Ambiental de Guatemala y bases para la evaluación sistemática del estado del ambiente 2002-2005. Instituto de incidencia ambiental URL-IARNA. Universidad Rafael Landívar, (Informe Final, Facultad de Ciencias Ambientales y agrícolas). 95p.
2. De la Rosa M., Mosso M., Ullán C. El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. Observatorio Medioambiental ISSN;5:375-402.
3. Arango, M. Microbiología del aire.2005. 11 de Enero del 2009. <<http://www.fing.edu.uy/servadm/plandeobras/aire2005.pdf> .>
4. Baudilio M., et al. Aerobiological study of fungal spores from Palencia (Spain). *Aerobiología*. 1996;12: 27-35.
5. Indoor Air Quality (IAQ). 1999. 11 de Agosto del 2009. <<Http://www.indoor air.htm>>.
6. Mandrioli, P. and Ariatti, A. Aerobiology: future course of action. *Aerobiología*. 2001;17:1-10.
7. Domínguez, E. The Spanish Aerobiology Network (REA). *Aerobiologia*, 1992;8(2/1): 45-46.
8. Air quality guidelines for Europe. 2ed. Copenhagen, World Health Organization Regional Office for Europe, 2000:91.
9. Herrera T, Ulloa M. El reino de los hongos; Micología básica y aplicada. 2ed. México: 1998.
10. OMS. Calidad del aire y salud. 2008. 20 de Diciembre del 2008.<<Http://www.who.int/mediacentre/factsheets/.../index>>.
11. Andersen, Gary *et al.* El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos, Observatorio ambiental 2002:375-402.
12. Aira M., La-Serna I., Dopazo A. Identification of fungal spores in the atmosphere of Santiago de Compostela (NW Spain) in the winter period. *Polen*. 2003;12:65-76.
13. Brock T, Madigan M. *Microbiología*. 10ed. México: Prentice Hall Hispanoamericana S.A., 2001.

14. Maldigan M, *et al.* Biología de los microorganismos. 10ed. Madrid, España: Pearson Prentice-Hall, 2004.
15. Arenas R. Micología Médica ilustrada. 2ed. México: McGraw Hill Interamericana, 2003.
16. Peman, J, Pozuelos M, Rubio M. Guía práctica de identificación y diagnóstico en Micología Clínica. Rev. Iberoam. Micol., 2001.
17. Logeman, H. Manual práctico de Micología Medica. Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1995.
18. Kobayasi S., Okazaki N., Koseki T. Purificación y caracterización de una sustancia antibiótica producida por *Rhizopus oligosporus*. 1992. 30 de Julio del 2009. <[Http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?>](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?)
19. Monzón A., Rodríguez J. Infecciones causadas por el género *Fusarium*. Servicio de Micología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.
20. *Cladosporium*. 2008. 20 de Agosto del 2009. <[Http://www.uco.es/aerobiologia/hongos/cladospo.htm](http://www.uco.es/aerobiologia/hongos/cladospo.htm)>.
21. Berenguer, S., y Martí, C. Ambientes cerrados: calidad del aire. Centro Nacional de condiciones de trabajo. Seguridad, Higiene y Medio Ambiente. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. España, 1985.
22. Husman, T. Health effects of indoor air microorganisms. Scand. J. Work Environ. Health. 1996:5-13.
23. Concepción O., Rojas, T. Contaminación fúngica en ambientes ocupacionales de la Facultad de Biología. Universidad de la Habana, Cuba, 2006.
24. Fleming D, *et. al.* Laboratory Safety- Principles and Practices. Second edition, American Society for Clinical Microbioloy Press, Washington D.C: 1995.
25. David, L. Occupational Health and Safety, Second edition, USA: Prentice Hall, 1996.
26. Berenguer M J. *et. al.* El síndrome del edificio enfermo. Guía para su evaluación. Madrid: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 1994.

27. Klich, M. Morphological studies of *Aspergillus fumigatus* section *versicolores* and related species. The New York Botanical Garden. *Micologia* 1993;85(1):100-107.
28. Mardones, P. Hongos y alergias. 2008. 9 de Julio del 2009. <http://www.polenes.cl/especies/hongos.htm>.
29. Garrett M, *et al.* Indoor airborne fungal spores, house dampness and associations with environmental factors and respiratory health in children. *Clin Exp Allergy*. 1998;28:459-467.
30. Labarrere N, *et al.* Riesgos Biológicos en ambientes confinados. *Rev. de Salud y trabajo*. La Habana, Cuba: 2003.
31. Suarez, M. Determinación cualitativa de la relación que existe entre la concentración de las partículas totales en suspensión en su fracción respirable pm10 y la función respiratoria de personas expuestas en dos puntos de muestreo en la ciudad de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2004.
32. Aristegui, B. *Cladosporium herbarum*. *Rev. Iberoamericana de Micol.* 2002. 03 de Julio del 2010. [Http://www.hongos-alergicos.reviberoammicol.com/files/038.PDF](http://www.hongos-alergicos.reviberoammicol.com/files/038.PDF).
33. Alcalá, L.*et al.* *Aspergillus* y aspergilosis. 2007. 03 de Julio del 2010. <http://www.seimc.org/control/revi.../asperguillus.htm>.
34. Aristegui, B. *Rhizopus stolonifer*. *Rev. Iberoamericana de Micol.* 2002. 03 de Julio del 2010. <http://www.hongos-alergicos.reviberoammicol.com/files/038.PDF>.
35. Hernández, A. NTP 313: Calidad del aire interior: riesgos microbiológicos en los sistemas de ventilación/climatización. 2008. 06 de Julio del 2010. http://www.jmcprl.net/ntps/@datos/ntp_313.htm
36. El síndrome del edificio enfermo. 2009. 05 de Julio del 2010. <http://www.acondicionamiento.com.ar/nueva/wp.../01/sindedifenf.pdf>.
37. Herrera, K. *et al.* Estudio micológico del aire en áreas ocupacionales y exteriores de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y otras áreas de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Proyecto de Investigación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2007.128 p.

38. American Conference of Governmental Industrial Hygienist-ACGIH. Guidelines for the assesment of bioaerosols in the indoor environment. Cincinnati, American Conference of Governmental Industrial Hygienist. 1989. 110.
39. Reynolds, S.J.; Streifel, A.J. & Mc Jilton, C.E. Elevated airborne concentrations of fungi in residential and office environments. American Industrial Association Journal, Vol. 51, 1990, (p.601-604).
40. Klanova, K. The concentrations of mixed populations of fungi in indoor air: rooms with and without mould problems rooms with and without health complaints. Cent. Eur. J. Public. Health. 2000:8:59-61.
41. Eagle Industrial Higiene Associates. 2004. 15 de Julio del 2010. Microbial Sampling and Analysis: molds and bacteria. <[Http://www.eagleih.com/micro.html](http://www.eagleih.com/micro.html)>.
42. Valentin, N. En:Conservación arqueológica. Reflexión y debate sobre teoría y práctica. Rev. Cuadenas. Universidad de Alcalá. 1993:113-120.
43. Rodríguez, C. Manual de medios de cultivo. 2 ed. La Habana: Centro Nacional de Biopreparados (BIOCEN); 2001:200.
44. Mahon, C. and Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology. Second Edition. W.B. Saunders Company. USA, 2000.
45. Garrity, G. M., Winters, M., Searles, D. B. Taxonomic outline of the prokaryotic genera. Bergey´s Manual of Systematic Bacteriology. (2 ed.) New York: Springer Verlag; 2001:13-14.
46. Kirsop, B. Maintenance of yeasts. In Maintenance of microorganisms (2nd ed.), London, Academic Press, 1991.
47. Mateos, P. Mantenimiento y Conservación de Microorganismos Industriales. México, 2007.
48. García, M. D., Uruburu, F. La conservación de cepas microbianas. Actualidad SEM; 2000:30:6-12
49. Miller, J.D. Atm. Envir.. Citado por Buttner, P.M.; Willeke. K.; Grinshpun, S.A. Sampling and analysis of airborne microorganisms. Manual of enviromental Microbiology. A.S.M. Press. 26a. Washington, D.C. 1997:629-640.
50. García, Neyma, Araujo, Ismenia, Fernandez, Mayli et al. Calidad microbiológica y fisicoquímica del aire en tres laboratorios de la

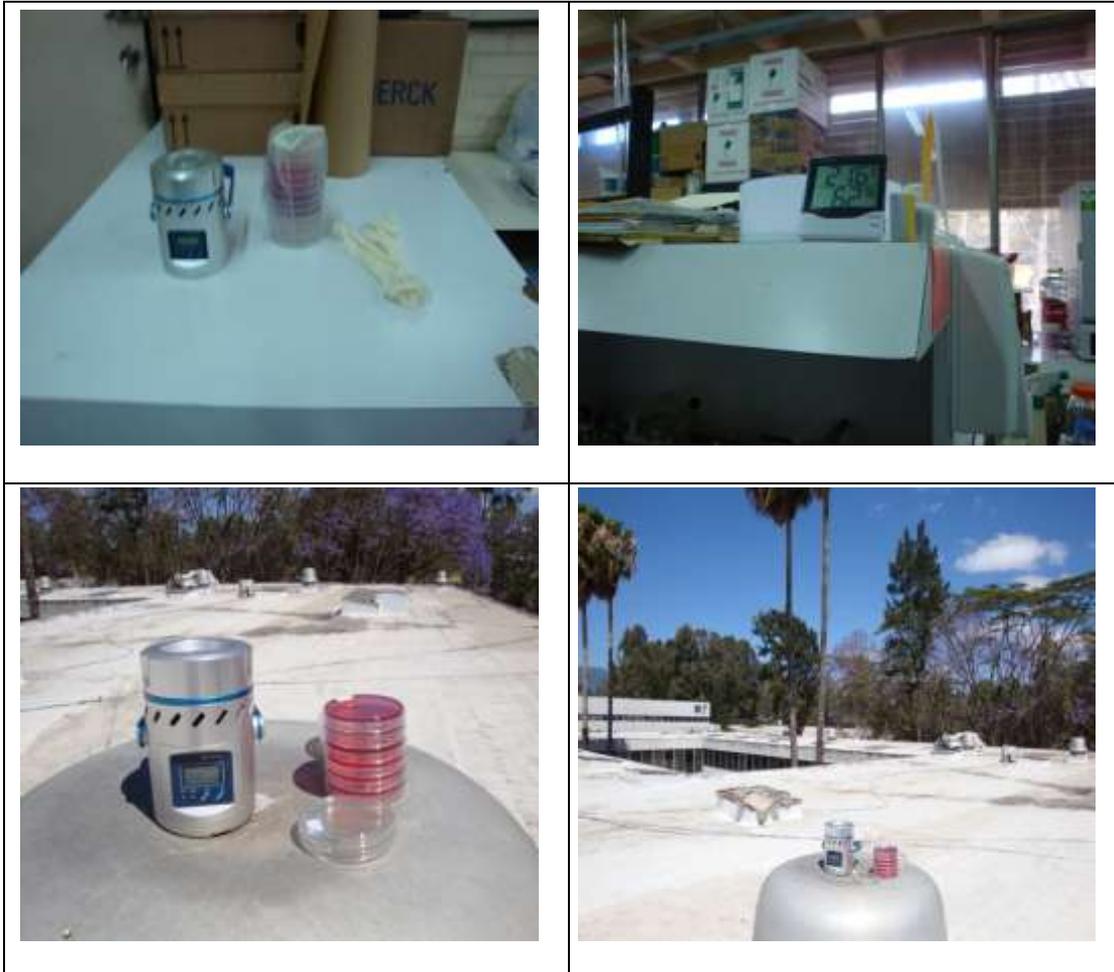
- Facultad de Ingeniería de la Universidad del Zulia. CIEN, Vol.13, 2005:182-192.
51. Rosas, I.; Calderón, C.; Martínez, L.; Ulloa, M. y Lacey, J. Indoor and outdoor airborne fungal propaule concentration in Mexico City. *Aerobiologia*, 1997;13:13-23.
 52. Consentino, S., Fadda, M.E. y Plamas. F. Pollen and mould allergy in southern Sardinia (Italy): comparison of skin-test frequencies and air sampling data. *Grana*.1995;34:338-344.
 53. Déak, T., Beuchat, L. R. Handbook of Food Spoilage Yeasts. CRC Press, Boca Ratón, Florida. 1996.
 54. Flannigan, B. Indoor microbiological pollutants—sources, species, characterisation: An evaluation. En *Chemical, Microbiological, Health and Comfort Aspects of Indoor Air Quality—State of the Art in SBS*. dirigido por H Knöppel y P Wolkoff. Dordrecht: Kluwer. 1992.
 55. Labarrere, N., Gómez, A., Ávila, I., Guevara, M.E., Fernández, B.. Riesgos Biológicos en Ambientes Confinados. *Revista Cubana de Salud y Trabajo*; 2003:4-7.
 56. Calvo, A. M. *et al.* Relationship between secondary metabolism and fungal development. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 66. 2000: 447-459.
 57. García, S., Roque, J., Ruza, F., González, M., Madero, R., Alvarado, F. et al. Infection and associated risk factors in the immediate postoperative period of pediatric liver transplantation: a study of 176 transplants. *Clin Transplant*. 12;1998:190-7.
 58. Diven, D., Newton, R., Lee Sang, J., Beightler, E., McGinnis M, MacDonald-Davidson E. Cutaneous hyalolymphomycosis caused by *Paecilomyces lilacinus* in a patient with lymphoma. *J Am Acad Dermatol*. 35;1996:779-81.
 59. Ono, N., Sato, K., Yokomise, H., y Tamura, K. Lung abscess caused by *Paecilomyces lilacinus*. *Respiration*. 66;1999:85-7.
 60. Perfect, J. R y Schell, W. A. The new fungal opportunists are coming. *Clin Infect Dis*; 22 Suppl. 2:112-8.

61. Kriesel, J. D., Adderson, E. E., M. r. Gooch, W., and Pavia, A. T. Invasive sinonasal disease due to *Scopulariopsis candida*: case report and review of scopulariopsosis. *Clin. Infect. Dis.* 19;994:317-319.
62. Morrison, V. A., R. J. Haake, and D. J. Weisdorf.. The spectrum of non-*Candida* fungal infections following bone marrow transplantation. *Medicine (Baltimore)*.72;1993:78-89.
63. Barnett, H. L., Hunter, B.B.. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 3.ed. APS Press, St. Paul, Minnesota. Co.1998:242.
64. Machado, J.C.. *Patologia de sementes fundamentos e aplicações*. Brasília: MEC / ESAL / FAEPE. 1988:106.
65. Comtois, P. y Mandrioli, P. The aerobiological results from the 1994 cruise of the *Urania* (cnr) on the Adriatic. Pollen and spore counts on the Mediterranean sea as compared to mainland Italia. *Aerobiologia*. 12; 1996:167-172.
66. Griffin, D. M. *Ecology of Soil Fungi*. Chapman & Hall, Londres. 1973: 57, 90, 135.
67. Lacey, J.. Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *Journal of Applied Bacteriology, Symposium Supplement*. 1989:11S - 25S.
68. Bejarano, G.). *Métodos de inoculación artificial y factores favorables para la infección de *Monilia roreri* Cif y Par*. Quito (Ecuador): Universidad Central del Ecuador, (Tesis de graduación) 1961:69.
69. Castillo, Machalskis, I., Darmas, H. Centeno, Sara *et al*. Actividad antifúngica de extractos crudos de hongos marinos aislados de raíces del mangle rojo (*Rhizophora mangle* L.). *Bol. Centro Invest. Biol.*, abr. vol.40, no.1. 2006:68-77. ISSN 0375-538X.
70. Suárez, Llovera, V., Lancha Perurena, M. Identificación de levaduras de exudados vaginales: características clínicas asociadas a la candidiasis. Universidad de Carabobo Núcleo Aragua. Venezuela. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". *Rev Cubana Med Trop*. Ciudad de la Habana. vol.56 no.1. 2004.
71. Pontón, J. y Cabañes, F. J. *Aspergillus* y aspergilosis nosocomial. *Rev. Iberoamericana Micol*. 2000;17: S77-S78.

72. Bartra, T. Mapa fúngico y estudio multicentrico de sensibilización de hongos en Cataluña. *AlergolInmunol Clin*; (Extraordinario Num.3). 2003:106-121.
73. Kontoyiannis, D, Bodey G. Invasive Aspergillosis in 2002: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002;21:161-172.
74. M. D., Uruburu, F. La conservación de cepas microbianas. *Actualidad SEM*. 2000;30:12-6.

XIV. ANEXOS

A.Muestreo ambiente interno y externo del laboratorio LAMIR



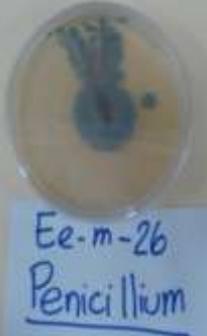
B. Muestreo ambiente interno y externo del laboratorio LAFYM

C. Muestreo ambiente interno y externo del laboratorio AMSA

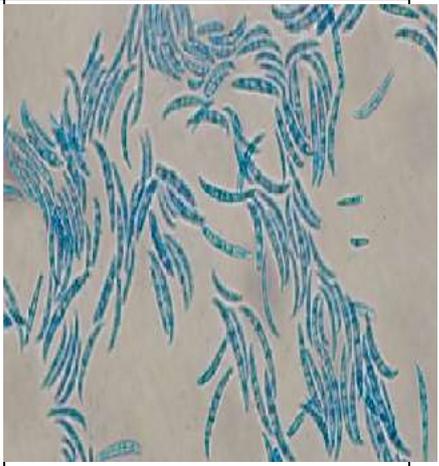
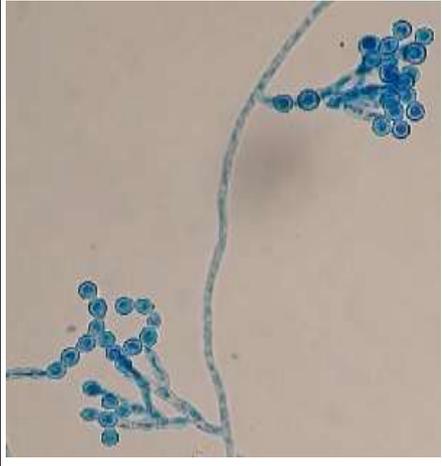
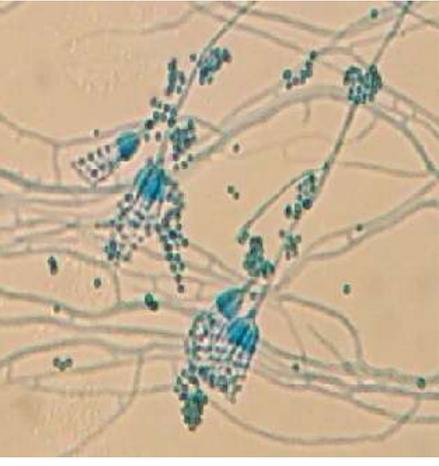
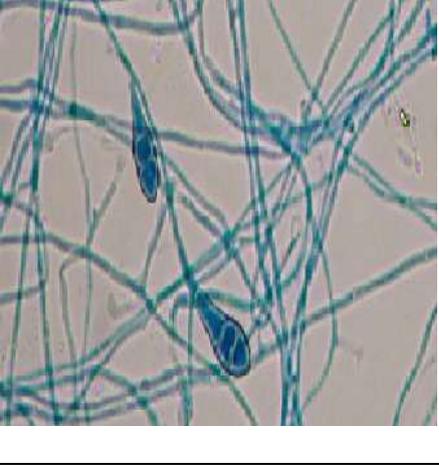


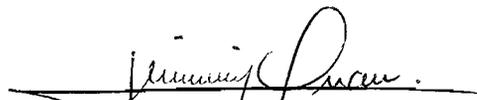
D. Aislamiento, identificación y conservación de cepas fúngicas

E. Vista macroscópica de cultivos fúngicos en cajas de Petri (anverso)

| | | |
|--|---|---|
|  <p>Emf-18 <u>Aspergillus</u></p> |  <p>Ee-m-26 <u>Penicillium</u></p> |  <p>Lalo-m-19 <u>Nigrospora</u></p> |
| <p><i>Aspergillus sp.</i></p> | <p><i>Penicillium sp</i></p> | <p><i>Nigrospora sp.</i></p> |
|  <p>Ame-f-18 <u>Alternaria</u></p> |  <p>AMe-m-20 <u>Fusarium</u></p> |  <p>Lalo-m-20 <u>Cladosporium</u></p> |
| <p><i>Alternaria sp.</i></p> | <p><i>Fusarium sp.</i></p> | <p><i>Cladosporium sp.</i></p> |

F. Vista microscópica de las diversas estructuras fúngicas para llevar a cabo la caracterizadas hasta género de los hongos microscópicos

| | | |
|---|--|--|
|  |  |  |
| <i>Cladosporium sp.</i> | <i>Aspergillus sp.</i> | <i>Fusarium sp.</i> |
|  |  |  |
| <i>Scopulariopsis sp.</i> | <i>Penicillium sp.</i> | <i>Rhizopus sp..</i> |
|  |  | |
| <i>Nigrospora sp.</i> | <i>Alternaria sp.</i> | |


Jeimy Alexandra Quan Lam
Autora


Dra. Karin Larissa Herrera
Asesora


Licda. María Eugenia Paredes
Revisora


Licda. María Eugenia Paredes
Directora de Escuela de Química Biológica


Ph.D. Oscar Cobar Pinto
Decano