

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GÉNEROS
FÚNGICOS AISLADOS DEL MUESTREO DE LA
CALIDAD DEL AIRE**

MARÍA ALEJANDRA MARROQUÍN ROSALES

QUÍMICA BIÓLOGA

Guatemala, Noviembre de 2012

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GÉNEROS FÚNGICOS AISLADOS DEL MUESTREO DE LA
CALIDAD DEL AIRE**



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR

MARÍA ALEJANDRA MARROQUÍN ROSALES

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

QUÍMICA BIÓLOGA

Guatemala, Noviembre de 2012

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cobar 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

Índice

Tema	Página
I. Ámbito de la investigación.....	4
II. Resumen.....	5
III. Antecedentes.....	6
A. Aerobiología.....	6
B. Características de la microbiota del aire.....	6
1. Aire exterior.....	6
2. Aire interior.....	7
C. Características de las especies de los géneros <i>Aspergillus</i> y <i>Cladosporium</i>	8
1. Genero <i>Aspergillus</i>	8
2. Genero <i>Cladosporium</i>	13
D. Importancia de los niveles fúngicos en el aire en áreas exteriores e interiores.....	14
1. Efecto de los hongos sobre la salud.....	14
2. Hongos patógenos primarios.....	15
3. Hongos oportunistas.....	19
E. Aire exterior e interior como factores contaminantes en la salud pública.	20
F. Estudio sobre la calidad fisicoquímica del aire.....	21
G. Esporas fúngicas en el aire.....	21
1. El grado de diferencia de interior/externo varía con el modo de ventilación.....	22
H. Medios de cultivo.....	23
1. Tipos de medios de cultivo.....	24
2. Preparación de los medios de cultivo.....	25
3. Control de calidad.....	25
4. Soporte de los medios de cultivo.....	25
5. Almacenamiento.....	26
6. Elección de los medios de cultivo.....	26
IV. Justificación.....	27

V.	Objetivos.....	28
A.	General.....	28
B.	Específicos.....	28
VI.	Materiales y métodos.....	29
A.	Universo de trabajo.....	29
B.	Análisis de las muestras.....	29
1.	Muestra.....	29
2.	Aislamiento de las colonias fúngicas.....	30
3.	Caracterización e identificación de los géneros fúngicos.....	30
4.	Evaluación del grado de agresividad de las cepas fúngicas.....	30
5.	Cultivo en lámina o microcultivo.....	31
C.	Conservación de las cepas fúngicas.....	32
1.	Conservación en agar Saboraud.....	32
2.	Conservación en medio semisólido caldo de corazón.....	32
D.	Preparación de medios de cultivo para el aislamiento fúngico.....	33
1.	Agar CZAPEK-DOX.....	33
2.	Agar de Sabouraud a 4 % de glucosa más NaCl (cloruro de sodio).....	33
3.	Agar Corazón-Cerebro (BHI) con 5% de sangre carnero.....	33
E.	Diseño de la investigación.....	34
1.	Muestra y diseño del muestreo.....	34
2.	Análisis de resultados.....	34
VII.	Aval de la unidad de investigación.....	35
VIII.	Resultados.....	36
IX.	Discusión de resultados.....	50
X.	Conclusiones.....	57
XI.	Recomendaciones.....	59
XII.	Referencias.....	60
XIII.	Anexos.....	64

I. **Ámbito de la Investigación**

Este estudio se centró en el área de salud y medio ambiente, por lo que se evaluó los géneros fúngicos, recolectados en las muestreos periódicos realizados en los meses de febrero a agosto del año 2008, tanto en el interior como en el exteriores de las diferentes áreas de estudio (LAMIR Edificio T-12, Laboratorio de Alimentos Edificio T-11, Biblioteca Central y Rectoría). Así mismo, se aislaron las cepas de interés para caracterizarlas en base a género y especie, se evaluó el grado de agresividad de estas cepas aisladas y se determinó en base al predominio de las especies fúngicas, la calidad microbiológica del aire.

La agresividad de cada género fúngico, se determinó tomando en consideración factores como: competitividad, liberación de pigmento, producción de exudado y características morfológicas de la colonia. Con lo que se clasificaron en un nivel o grado de agresividad patógena en base a su comportamiento, al someterlas a las evaluaciones antes mencionadas. Se evaluó la carga micológica del aire ocupacional en dependencia del predominio de los géneros fúngicos aislados. Con esto se buscó determinar una posible incidencia en la salud humana para tomar medidas preventivas.

Por último, con el aislamiento y caracterización fúngica se trató de establecer el predominio de los diferentes géneros, según ambiente estudiado, intentando generar datos de referencia para los diferentes microclimas predominantes en el campus central de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

II. Resumen

En los ambientes exteriores e interiores se encuentran un gran número de partículas orgánicas (microorganismo, material vegetal, etc.) e inorgánicas (morfológicamente diferentes) suspendidas en el aire, ellas constituyen el aerosol atmosférico. Sin embargo, a medida que se producen cambios en las condiciones ambientales, los microorganismos, suspendidos en el aire, pueden ejercer efectos negativos, tanto desde el punto de vista del biodeterioro así como del punto de vista de la salud de las personas desde alergias hasta enfermedades graves en personas inmunocomprometidas (Samson *et al.*, 1992).

En este estudio se analizó la carga fúngica obtenida durante los siete muestreos periódicos, realizados a Rectoría, Biblioteca Central, Laboratorio de Alimentos y Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR). También se determinaron dos géneros predominantes, *Aspergillus* y *Cladosporium*, los cuales se caracterizaron hasta especie. Así mismo se hizo pruebas de agresividad para cada especie aislada de ambos géneros.

Para el género de *Cladosporium*, la carga fúngica fue mayor durante mayo en el laboratorio de alimentos en ambos ambientes (3010UFC/m³ exterior y 6630UFC/m³ interior). En lo que respecta a *Aspergillus*, la mayor carga fúngica interior se dio en agosto en el LAMIR (574UFC/m³) y para el exterior en mayo en el Laboratorio de Alimentos (240UFC/m³).

Se realizaron pruebas de competitividad, liberación de pigmento y exudado, con el fin de determinar el nivel de agresividad entre las diferentes especies de cada género. Entre los resultados, se observó que para *Aspergillus*, las especies más agresivas son *A. niger*, seguida de *A. fumigatus* y *A. terreus*, ya que estas presentaron las tres características patogénicas definidas. En lo que respecta a *Cladosporium*, la especie más agresiva y predominante fue *C. herbarum*.

III. Antecedentes

A. Aerobiología

La aerobiología estudia las partículas vivas o biológicamente activas, constituyendo una parcela más del control del medio ambiente. Más específicamente consiste en el estudio del transporte pasivo de organismos y partículas de origen biológico presentes en el aire de ambientes interiores y exteriores ya que este estudia el origen (fuente), liberación, dispersión, deposición e impacto sobre las superficies de las partículas biológicas transportadas por el aire presente en la troposfera, así como la diversidad, concentración y distribución de las mismas (Samsonet *al.*, 1992).

El polen y las esporas fúngicas presentes en la atmósfera son partículas vivas, dispersas en el aire que entran en contacto con el organismo a través de las mucosas, durante el proceso de respiración. Su estudio en aire comprende la parte de la aerobiología denominada aeropalinología, que por otra parte presenta los casos más corrientes de la aerobiología. La evaluación de la calidad micológica del aire en el ambiente nos indica la cantidad de hongos que están presentes en un área determinada (Samsonet *al.*, 1992).

B. Características de la microbiota del aire

Varía de acuerdo a: la hora del día, la época del año, según las lluvias, las altas temperaturas y la desecación (Arango &Clavell, 1992).

1. Aire exterior

En el exterior predominan las esporas de hongos. Pero cerca de concentraciones de edificios y animales predominan bacterias. Zona rural menos esporas que en la zona urbana (Arango &Clavell, 1992).

1.1. Géneros fúngicos más comunes en aire exterior

- *Aspergillus*
- *Penicillium*
- *Cladosporium*
- *Hormodendrum*
- *Sporobolomyces*(Arango &Clavell, 1992).

2. Aire interior

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, también pueden encontrarse en cualquier tipo de material (como alfombras, moquetas, empapelado de una pared, etc.) y crecer desmesuradamente, proyectando al ambiente un número elevado de esporas con el consiguiente riesgo para la salud (Samsonet *al.*, Arango &Clavell, 1992).

2.1. Géneros fúngicos más comunes en aire interior

- *Cladosporium*sp.
- *Penicillium*sp.
- *Sistrottemabrinkmannii*
- *Levaduras rosas y blancas*
- *Botrytis cinérea*
- *Aspergillus sp.* (Samsonet *al.*, Arango &Clavell, 1992).

C. Características de las especies de los géneros *Aspergillus* y *Cladosporium*.

1. Género *Aspergillus*

Las especies del género *Aspergillus*, se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza pudiéndose aislar de una gran variedad de substratos. Gracias a la facilidad de dispersión de sus conidios y a su pequeño tamaño, éstos pueden permanecer en suspensión en el ambiente durante un largo periodo de tiempo, por lo que el hombre se encuentra expuesto constantemente a su inhalación. En los últimos años se ha producido un notable incremento en las infecciones fúngicas nosocomiales. Diferentes especies del género *Aspergillus* son una causa frecuente de micosis invasivas, normalmente fatales, en pacientes inmunocomprometidos en los países desarrollados. Aunque *A. fumigatus* es el agente etiológico más común, otras especies del género como *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger*, *A. nidulans* (*Emmericellanidulans*) se consideran también responsables de infecciones invasivas. De forma mucho más esporádica, se han citado también otras especies como *A. candidus*, *A. clavatus*, *A. restrictus*, *A. sydowii* y *A. ustus* entre otras. Los criterios seguidos hasta el momento para clasificar las especies del género *Aspergillus* y sus teleomorfos son principalmente morfológicos (Rojas *et al.*, 2002).

1.1. *Aspergillus fumigatus* Fresenius: *Características macroscópicas:* Colonias en agar Czapek de color verde-azulado a verde-grisáceo; micelio blanco; reverso incoloro, amarillento, marrón rojizo o verde; textura aterciopelada a flocosa, plana o con surcos radiales. *Características microscópicas:* Cabezas conidiales uniseriadas y predominantemente columnares; estipes hialinos y lisos; vesícula piriforme o en forma de cuchara; fiálides ocupando la mitad o dos tercios de la vesícula. Conidios globosos a ovoides, lisos o ligeramente rugosos (Rojas *et al.*, 2002).

1.2. *A. flavus* Link: *Características macroscópicas:* Colonias en agar Czapek de color verde oliváceo a verde amarillento; micelio blanco; esclerocios, cuando están presentes, de color marrón oscuro a negro, variables en forma y tamaño; reverso incoloro, marrón claro o anaranjado; textura de la colonia variable, generalmente lanosa o flocosa. *Características*

microscópicas: Cabezas conidiales uniseriadas y biseriadas, principalmente radiales; estipes normalmente rugosos, hialinos o de color marrón pálido. Vesícula esférica; métulas ocupando prácticamente toda la superficie de la vesícula. Conidios globosos o elipsoidales, lisos o ligeramente rugosos (Rojas *et al.*, 2002).

1.3.A. *nigervan* Tieghem: *Características macroscópicas*: Colonias en agar Czapek de color negro o marrón muy oscuro; micelio blanco apenas visible, reverso incoloro a amarillo; colonia densa, granular a flocosa. *Características microscópicas*: Cabezas conidiales biseriadas y radiales; estipes de paredes gruesas, lisos, hialinos, amarillentos o de color marrón pálido, en especial cerca de la vesícula. Vesícula casi esférica; métulas ocupando toda la superficie de la vesícula. Conidios globosos de color marrón, normalmente muy rugosos con crestas irregulares y protuberancias (Rojas *et al.*, 2002).

1.4.A. *terreus* Thom: *Características macroscópicas*: Colonias en agar Czapek de color marrón canela o marrón amarillento; micelio blanco; reverso amarillo, dorado o marrón; a veces pigmento difusible amarillento. Colonia aterciopelada, lanosa o a veces flocosa en la zona central, plana o con surcos radiales. *Características microscópicas*: Cabezas conidiales biseriadas, en columnas compactas; estipes de pared lisa, hialinos. Vesículas de forma variable, esférica o subglobosa; métulas ocupando la mitad o dos tercios de la vesícula. Conidios lisos, globosos o subglobosos (Rojas *et al.*, 2002).

1.5.A. *nidulans*: *Características macroscópicas*: Colonias en agar Czapek de color verde a verde oscuro; micelio blanco o gris; cleistotecios de color amarillo pálido; reverso incoloro a naranja marronáceo o rojo púrpura; pigmento difusible de la misma coloración; colonia aterciopelada o algo flocosa, densa, plana o con surcos. *Características microscópicas*: Cabezas conidiales biseriadas; radiales o en columnas poco compactas y columnares; estipes marronáceos y de pared lisa. Vesículas hemisféricas; métulas ocupando sólo la mitad superior de la vesícula. Conidios esféricos, normalmente rugosos (Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.6.A. *pseudoelegans*: *Características macroscópicas*: Colonias en agar Czapek de color café claro a café amarillento; micelio blanco; reverso café rojizo a café claro. *Características*

microscópicas: Cabezas conidiales irradian, partiendo en columnas con paredes rugosas. Vesículas globosas a espatuladas(Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.7. *A.wentii*: *Características macroscópicas*: Colonias en agar Czapek de color amarillento a café olivo. Hifas aéreas y flocosa de color blanca a amarillas. Reverso incoloro a café rojizo. *Características microscópicas*: Cabezas conidiales largas y globosas; con paredes rugosas incoloras. Vesículas globosas. Conidios en largas cadenas, elípticas e incoloras en colonias jóvenes, luego en colonias maduras globosas a subglobosas de color amarillo a amarillo-café(Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.8. *A.sydwii*: *Características macroscópicas*: Colonias en agar Czapek de color azul verdoso con sombras café rojizo generalmente con exudado abundante color rojizo. Hifas aéreas y flocosa de color blanca a amarillas. Reverso incoloro a café rojizo. *Características microscópicas*: Las cabezas conidiales irradian; conidióforos hialinos con pared lisa. Vesículas esféricas a subesféricas. Células conidiogenasbiseriadas. Células de Hülle esféricas pueden estar presentes(Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.9. *A.ochraceus*: *Características macroscópicas*: Colonias en agar Czapek con crecimiento restringido de color amarillo naranja. *Características microscópicas*: Las cabezas conidiales irradian separándose en varias columnas. Células conidiogenasbiseriadas. Métulas cubren toda la vesícula. Conidios esféricos a subesféricos(Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.10. *A.subolivaceus*: *Características macroscópicas*: Colonias en agar Czapek con micelio blanco resistente, irregularmente arrugado, llevando un soporte denso de estructura conidial de color grisáceo-olivo pálido; reverso incoloro o amarillo pálido. *Características microscópicas*: Las cabezas conidiales globosas que irradian Conidióforos de tamaño variable, paredes incoloras equinuladas, vesículas subglobosas(Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.11. *A.unilateralis*: *Características macroscópicas*: Colonias en agar Czapek crecen lentamente en el área del centro y son muy delgadas. Son de color grisáceas verdosas y el reverso es negro. No tiene exudado. *Características microscópicas*: Las cabezas

conidiales diminutas, consisten en unas pequeñas esporas en cadenas divergentes. Conidióforos lisos y hialinos. Vesículas irregularmente globosas (Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.12. *A. terricola*: *Características macroscópicas:* Colonias en agar Czapek blancas y luego amarillas a color verde olivo. *Características microscópicas:* Las cabezas conidiales irradian separadas. Conidióforos incoloros, lisos y algunos granulados. Vesículas subglobosas a hemisféricas (Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.13. *A. sparsus*: *Características macroscópicas:* Colonias en agar Czapek café grisáceas; reverso con sombras café. *Características microscópicas:* Las cabezas conidiales típicamente globosas convirtiéndose con el tiempo en radiales. Conidióforos estrechos. Vesículas con paredes delgadas, globosas a hemisféricas (Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.14. *A. versicolor*: *Características macroscópicas:* Colonias en agar Czapek amarillas, naranja- amarillentas; reverso rosado pálido a amarillo-verdoso. Frecuentemente con poca esporulación. *Características microscópicas:* Las cabezas conidiales radiales. Conidióforos con paredes hialinas. Vesículas subesféricas a elipsoidales. Células conidiogenas biseriadas, con fialides del largo o más grandes que la métula (Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.15. *A. parasiticus*: *Características macroscópicas:* Colonias en agar Czapek con micelio basal, compacto con borde blanco, y centro amarillento a verdoso. *Características microscópicas:* Las cabezas conidiales radiales. Vesículas subesféricas a elipsoidales. Conidios globosos y equinulados (Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.16. *A. tamarii* Kita: *Características macroscópicas:* Colonias en agar Czapek café oscuro con crecimiento rápido. *Características microscópicas:* Las cabezas conidiales compactas y esféricas o libremente radiadas. Conidióforos hialinos usualmente arrugados. Vesículas esféricas. Células conidiogenas uniseriadas y biseriadas. Métulas o fialides cubriendo toda

la superficie de la vesícula. Conidio equinulado a tuberculado-subesférico(Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.17. *A.aureolus*:*Características macroscópicas:* Colonias en agar Czapek convirtiéndose de amarillas a naranja pálido, con micelio floculento separado y márgenes blancos. Reverso de amarillo a naranja, y convirtiéndose café con la edad.*Características microscópicas:* Las cabezas conidiales nacen en conidióforos cortos a partir de hifas aéreas. Conidio globoso a subgloboso, y delicadamente equinulado(Rojas *et al.*, Gobernado, 2002, 2001).

1.18. Materiales y fuentes de *Aspergillus*, donde juegan un papel importante como agente biodeteriorante.

Tabla 1. Fuentes y capacidad biodeteriorante del genero *Aspergillus*

Fuentes	Especie
Madera	<i>A.niger</i>
	<i>A.fumigatus</i>
	<i>A.sydwii</i>
Textil	<i>A.restrictus</i>
	<i>A.fumigatus</i>
Papel	<i>A.fumigatus</i>
Gomas y Plásticos	<i>A.niger</i>
	<i>A.fumigatus</i>
Vidrio	<i>A.fumigatus</i>
	<i>A.versicolor</i>
Materiales poliméricos	<i>A.candidus</i> Link
	<i>A.fumigatus</i>
Granos en almacén	<i>A.flavus</i>
Aire de locales interiores	<i>A.fumigatus</i>
	<i>A.niger</i>
	<i>A.flavus</i>
	<i>A.versicolor</i>

Fuente :Rojas, T. et al Airbone spores of *Aspergillus* species in cultural institutions at Havana University. Cuba : Granada. 2002 ; 25:190-193.

2. Género *Cladosporium*

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 corta el césped o se podan los árboles aumenta considerablemente el número de conidios aerotransportados a largas distancias. 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 bajas como -6°C (Pasanenet *al.*, 1992).

Cladosporium herbarum es el hongo que con más frecuencia se encuentra presente en el aire. Junto con *Alternaria alternata* es uno de los hongos alergénicos respiratorios más importantes y se le ha implicado en casos de asma y fiebre del heno. Este hongo se asocia a aquellos casos de rinitis en los que los síntomas no parecen coincidir con la cantidad de polen de gramíneas (Pasanenet *al.*, 1992).

2.1. *Cladosporium herbarum*: *Características macroscópicas:* Colonias en agar Czapek verde oliva o pardo oliva, planas, finamente vellosas y de crecimiento lento. Reverso negro oliva. *Características microscópicas:* Conidióforos con cadena ramificadas de conidios elipsoides o cilíndricos de extremos redondeados, formados por gemación sucesiva del conidio anterior (Pasanenet *al.*, 1992).

2.2. *C. cladosporioides*: *Características macroscópicas:* Colonias en agar Czapek aterciopeladas verde a café oliva, con reverso negro verdusco. *Características microscópicas:* cabezas conidiales con gran densidad, muy ramificadas cadenas, elipsoide, limoniformes o

fusiformes con extremos truncados. Conidióforos con cadenas ramificadas de conidios ramificado, intercalares o terminales (Pasanenet *al.*, 1992).

D. Importancia de los niveles fúngicos en el aire en áreas exteriores e interiores

Es de conocimiento general que la contaminación del aire exterior puede afectar la salud de los individuos, sin embargo, el aire existente en el interior de los edificios también puede generar efectos perjudiciales sobre la salud, tales como jaquecas, náuseas, mareos, resfriados persistentes, irritaciones de las vías respiratorias, piel y ojos (EPA, 1991). Diversos estudios realizados por la Agencia de Protección Medio-ambiental de los Estados Unidos (EPA) sobre la exposición de humanos a contaminantes del aire indican que en el aire del interior de recintos cerrados los niveles de contaminación son de entre 2 a 5 y en algunos casos 100 veces más concentrados que los niveles presentes en el aire exterior (EPA, 2005). Estos resultados son de particular importancia ya que la mayoría de las personas pasan cerca del 90 % de su tiempo en el interior de recintos cerrados. En la calidad del ambiente atmosférico interior inciden factores físicos (temperatura, humedad relativa, corrientes de aire, etc.), factores químicos (concentración de gases por ejemplo: dióxido de carbono, monóxido de carbono, dióxidos de azufre, radón, etc.) y factores microbiológicos. Además el grado de contaminación microbiana en estos ambientes está influenciado por: la frecuencia de ventilación, el número de personas presentes en la sala, la naturaleza y el grado de las actividades que las mismas desempeñan (Rivas *et al.*, 1988).

1. Efecto de los hongos sobre la salud

Los hongos a través de sus esporas, micotoxinas y por la emisión de VOC (compuestos volátiles orgánicos), pueden causar diferentes tipos de enfermedades o alteraciones de la salud:

- Enfermedad infecciosa o patogénica: aspergilosis (por exposición a *Aspergillus fumigatus*), histoplasmosis (por *Histoplasma*), criptococosis (por *Cryptococcus*) y coccidiomicosis (por *Coccidioides*).
- Reacciones alérgicas, como rinitis y asma.
- Neumonitis por hipersensibilidad.
- Cáncer debido a micotoxinas carcinogénicas.

- Desórdenes inmunológicos por micotoxinas inmunosupresivas
- Reacciones tóxicas por micotoxinas.
- Reacciones de inflamación debidas al β -1,3-glucano, compuesto de la pared celular de los hongos.
- Irritación debida a VOC fúngicos como por ejemplo alcohol.
- Síndrome del edificio enfermo (Fanger, 2002).

1.1. Agentes de micosis pulmonares invasoras

La infección micótica pulmonar se produce por la inhalación de las esporas fúngicas y su posterior desarrollo en el parénquima pulmonar. Sólo aquellas esporas que sean capaces de alcanzar los sacos alveolares pueden germinar y atravesar su pared para dar lugar a un proceso invasor, siempre y cuando sean capaces de resistir a los mecanismos de defensa del huésped (Fanger, 2002).

El tracto respiratorio funciona como una compleja red para la distribución del aire inspirado, formada por tubos que se van ramificando y disminuyendo de diámetro progresivamente hasta alcanzar los alvéolos, por lo que todo el tracto respiratorio actúa a modo de trampa atrapa-esporas, filtrando y reteniendo la mayoría de las partículas que acompañan a los más de 8.000 litros de aire que diariamente movilizan los pulmones (Fanger, 2002).

Al igual que ocurre en otros procesos fúngicos, la micosis pulmonares invasoras pueden clasificarse en dos grandes grupos: las causadas por hongos patógenos primarios y las causadas por hongos oportunistas (Fanger, 2002).

2. Hongos patógenos primarios

Los hongos patógenos primarios tienen la capacidad de vencer los mecanismos de defensa del huésped, produciendo enfermedad en los individuos sanos y dando lugar a infecciones particularmente graves en los pacientes inmunodeprimidos. Entre los principales se pueden mencionar:

- *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*
- *Blastomyces dermatitidis*
- *Coccidioides immitis*
- *Paracoccidioides brasiliensis*
- *Penicillium marneffe*
- *Emmonsia parva*
- *Sporothrix schenckii* (Koneman, 1994).

2.1. Características macroscópicas y microscópicas de los principales géneros de hongos patógenos primarios

- ***Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*:** Las macroconidias son esféricas a piriformes, con una superficie rugosa o tuberculada. Pueden verse microconidias unicelulares piriformes (algunos aislados no esporulan) (Rivas *et al.*, Koneman, 1988, 1994).
- ***Blastomyces dermatitidis*:** Las conidias de la forma de mohó son pequeñas, redondas a piriformes en las puntas de conidióforos largos o cortos (Rivas *et al.*, Koneman, 1988, 1994).
- ***Coccidioides immitis*:** Cadenas de artroconidias alternadas, algunas con forma de barril, algunas rectangulares. Algunas veces se ven hifas en raqueta. Las esférulas son grandes (15-60 μm) y cuando maduran contienen endosporas, sin brotes, de 2-4 μm . Colonias como tela de araña, con áreas vellosas que alternan con áreas que se adhieren a la superficie del agar (Koneman, 1994).
- ***Paracoccidioides brasiliensis*:** A menudo no forman conidias características; más bien pueden predominar numerosas clamidosporas e hifas retorcidas; cuando están presentes, las conidias son similares a las de *B. dermatitidis* (Koneman, 1994).

- ***Sporothrixschenckii***: Las hifas son delicadas. Las conidias se producen con una disposición en florecillas en la punta de conidióforos únicos. Las conidias están unidas por una inserción como una hebra. Pueden verse conidias únicas y levemente pigmentadas a lo largo de las hifas en cultivos más viejos. Las formas de levaduras tienen característicamente una forma en cigarro; cuando son redondas, pueden simular células de levaduras de *H. capsulatum*. La conversión de mohó a levadura ocurre fácilmente en 12-48 h a 37°C (Koneman, 1994).
- ***Penicillium* sp**: Colonias pulverulentas, cerebriformes, de color gris en el anverso y marrón en el reverso, redondeadas con radiaciones, borde regular y superficie lisa. Hifas largas que terminan en pequeños racimos de microconidias (Koneman, 1994).

2.2. Géneros fúngicos primarios en Guatemala

2.2.1. Coccidioidomycosis

La coccidioidomycosis es causada por *Coccidioides immitis*, hongo dimórfico cuya forma micelial o saprofítica se desarrolla en ambientes secos, áridos, en regiones en las que predominan una vegetación xerófito (cactus) y donde abundan las cuevas de roedores. Al penetrar al hospedero, se transforma en la fase parasítica que son esférulas con endosporas. A nivel mundial existen varias zonas confirmadas como endémicas: el valle de San Joaquín en California, el desierto de Phoenix en Arizona, El Chaco Argentino en Argentina, el valle de Comayagua en Honduras y el valle del Motagua (Zacapa, El Progreso) en Guatemala. A través de la prueba intradérmica con coccidioidina se ha logrado delimitar la zona endémica en el país, así como detectar positividad en otras regiones distantes del área del Motagua, como en la región de Tiquisate, Escuintla y Totonicapán (esto último de mucho interés ya que las condiciones ambientales son muy distintas a las encontradas en las regiones descritas como endémicas) (Logemann, 1995).

En Guatemala, se han realizado varios estudios a partir de 1945. Andrade investigó la reactividad cutánea a la coccidioidina en la ciudad de Guatemala, encontrando un 0.5% de positividad. Mayorga en 1971 describió el área endémica de coccidioidomycosis en el valle del

río Motagua con base en la ecología de la región. Luego David en 1977 hizo una encuesta epidemiológica desde la ciudad capital hasta Esquipulas, utilizando coccidioidina para establecer la reactividad cutánea a ésta y obtuvo el más alto porcentaje de positividad en Usumatlán, Zacapa, además delimitó la zona endémica. Desde 1978 se habían hecho varios intentos para aislar al hongo del ambiente, sin embargo esto no fue posible sino hasta 1990 como resultado de una expedición dirigida por Arathoon, a una zona arqueológica localizada entre Usumatlán y El Progreso, lugar de donde se tomaron varias muestras, lográndose el aislamiento de *C. immitis* en una de ellas (datos no publicados)(Logemann, 1995).

2.2.2. Paracoccidioidomicosis

La paracoccidioidomicosis, es causada por el hongo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis*, el cual en la forma micelial o saprofítica se desarrolla en un ambiente tropical húmedo y al penetrar en el hospedero se transforma en la fase parasítica o levaduriforme. Las zonas endémicas para esta micosis se caracterizan por tener un clima tropical húmedo, principalmente en zonas boscosas. Los principales países afectados pertenecen a América del Sur: Colombia, Brasil, Venezuela, Argentina, Perú, Ecuador, y Uruguay. Se presenta en menor cantidad en América Central y México (Logemann, 1995).

En Guatemala, el estudio epidemiológico con la paracoccidioidina ha presentado una mayor reactividad cutánea en la región de San Marcos. Los primeros casos en Guatemala fueron descritos por Tejada, Ordóñez y Castro en 1960. Hasta el momento se han diagnosticado aproximadamente 50 casos desde 1963, con base en la microscopía inicial y del cultivo. A partir de 1989, con la creación del área de micoserología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC, se han diagnosticado 7 casos por serología, la mayoría de ellos procedentes de la región de San Marcos, (López de García, comunicación personal). La infección es más frecuente en el sexo masculino, aunque esto es evidente antes de la pubertad (Logemann, 1995).

2.2.3. Histoplasmosis

El aislamiento del hongo *Histoplasma capsulatum* del ambiente ha sido posible en varias oportunidades: en 1972 en un sigúan de Senahú, Alta Verapaz por Mayorga y Camey; el segundo en un arriate del parque central de la ciudad de Escuintla por Del Cid en 1976; Izaguirre lo aisló de las cuevas de Lanquín en 1983 y finalmente Leytán lo aisló del arriate central de la Avenida La Reforma y calles cercanas, en la ciudad capital en 1991 (Leytán, 1991).

Histoplasmosis, es una infección causada por la inhalación de esporas del hongo, mostrando manifestaciones clínicas que suelen caracterizarse por la afectación inicial del pulmón, ya que la vía de infección es inhalatoria. La mayoría de las veces la infección es asintomática o con manifestaciones clínicas muy leves, como fiebre, tos, malestar general y neumonitis. Cuando se cura la enfermedad pueden observarse masas fibrosas con calcificaciones en el pulmón o en ganglios linfáticos y bazo. La histoplasmosis puede originar reacciones alérgicas en personas sensibilizadas. También existe una forma de histoplasmosis pulmonar crónica. Se han detectado pequeñas epidemias de histoplasmosis en grupos de arqueólogos y de estudiantes, los que dentro de sus excursiones planifican la visita a cuevas en Petén, Cobán o en otras áreas de Guatemala (Leytán, 1991).

Según la revisión de los archivos de pacientes, tanto en el servicio de micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC, como en el laboratorio de micología de la Policlínica del IGSS (Instituto Guatemalteco de Seguridad Social), hasta 1994 se habían diagnosticado aproximadamente 85 casos de histoplasmosis, la mayoría de ellos por cultivo. A partir de 1989, con la creación del área de micoserología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, se diagnosticado 20 casos por métodos serológicos (Leytán, 1991).

2.2.4. Estudio realizado con esporas de Criptococosis

En el año de 1991 se desarrolló el estudio de aislamiento de cepas de *Cryptococcus neoformans* de excretas de palomas en Guatemala. Se logró aislar este hongo en varias iglesias en donde se encuentran gran cantidad de palomas. Es de gran importancia porque este hongo se transmite por inhalación y se puede trasladar a través del aire (Morales, 1991).

3. Hongos oportunistas

- *Aspergillus fumigatus*
- *Aspergillus flavus*
- *Pneumocystiscarinii*
- *Absidiacorymbifera*
- *Rhizopusoryzae*(arrhizus)
- *Scedosporiumapiospermum*
- *Cryptococcusneoformans*
- *Fusarium solani*
- *Candidaalbicans*(Rippon, 2001).

3.1. Características macroscópicas y microscópicas de los principales géneros de hongos oportunistas.

- ***Aspergillus fumigatus***: Colonias granulosas de color verde o verde-gris. Uniseriado, fiálides sobre la mitad superior de una vesícula hemiesférica (Rippon, 2001).
- ***Aspergillus flavus***: Colonias habitualmente amarillas o amarillo-verdes. Vesículas redondas, esporulación en toda la superficie. Puede haber fiálides solas (uniseriado) o con métulas (biseriado) (Rippon, 2001).
- ***Cándida albicans***: Colonias blancas y cremosas. Pseudo hifas compuestas por blastosporas alongadas, con puntos irregulares, en germen oval o esférico (Rippon, 2001).

E. Aire exterior e interior como factores contaminantes en la salud pública

En estudios realizados por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos (EPA), en los últimos años, ha situado a los contaminantes del aire del interior y exterior de los espacios ocupacionales entre los primeros cinco mayores riesgos para la salud pública. En la actualidad se admite que aquellos ambientes que no disponen de ventilación natural y que

están cerrados para conseguir un mayor rendimiento del sistema de aire acondicionado, pueden ser áreas de exposición a contaminantes. Entre ellos se encuentran oficinas, edificios públicos, escuelas, guarderías, edificios comerciales e incluso, residencias particulares. No se conoce con exactitud la magnitud de los daños que pueden representar para la salud, ya que los niveles de contaminantes que se han determinado, principalmente en estudios realizados en oficinas y en residencias particulares, suelen estar muy por debajo de los respectivos límites permisibles de exposición para ambientes industriales. Por otro lado, las técnicas tradicionales de la higiene industrial resultan con frecuencia, inadecuadas o insuficientes para encontrar soluciones, ya que las causas primarias de esta situación son a menudo difíciles de identificar (Cabrales *et al.*, 2001).

F. Estudio sobre la calidad fisicoquímica del aire

De los estudios del aire, basados en la calidad fisicoquímica del aire, en el año de 2004 se llevó a cabo en Guatemala un estudio sobre la calidad del aire exterior por el Licenciado Pablo Oliva basado en pruebas físico químicas en diferentes puntos de la ciudad de Guatemala, obteniendo altos índices de contaminación química (estos estudios se siguen realizando hoy en día). Además algunas industrias (alimentos, farmacéuticas, químicas, etc.) y hospitales en Guatemala realizan algunos análisis rutinarios de densidad microbiológica con fines de calidad del aire por medio de muestreos ambientales en los locales o salas que deben permanecer con cierto grado de esterilidad o con esterilidad completa como son salas de operaciones e intensivo (Oliva, 2007).

G. Esporas fúngicas en el aire

En el año de 1987 en Alemania, se realizaron estudios sobre las esporas fúngicas del aire en 130 habitaciones de 11 edificios de oficinas con daños de agua. Basado en las medidas de habitaciones con colonización fúngica aparente y en habitaciones sin crecimiento de hongos visibles, sugirieron que concentraciones del aire interior por encima de 100 UFC/m³ de aire, es un indicador de colonización fúngica de materiales de edificio (Ohgke, Geers&Beckert, 1992).

Además en el año de 1987 en Suecia, en estudios en casas en mal estado, planteó que los niveles de contaminación de especies de *Aspergillus* debían ser más bajo que 50 UFC/m³ de aire para que no constituya un problema para la salud (16). El Comité sobre bioaerosoles celebrado en 1989, realizó las siguientes sugerencias (ACGIH, 1989):

- 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.
- 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 (ACGIH, 1989).
- La calidad del aire en el interior de un edificio es función de una serie de parámetros que incluyen la calidad del aire exterior, la compartimentación, el diseño del sistema de aire acondicionado, las condiciones en que este sistema trabaja y se revisa y la presencia de fuentes contaminantes y su magnitud (ACGIH, 1989).

1. 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 (Holmberg, 1987).

En un estudio realizado en Minnesota, Estados Unidos, en el año de 1990 se estableció 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 (Holmberg, 1987).

En 1992 se propone un nivel límite de esporas de hongos como normal, de 500 UFC/m³, aplicable para el invierno de un clima subártico, ejemplo de diciembre a marzo en Finlandia.

Los mismos autores señalaron que esos niveles podrían ser aplicables en locales con sistemas de ventilación, ya que en invierno no existieron diferencias entre las casas con diferentes sistemas de ventilación. Donde el nivel normal límite se excedió, indicó que fuentes de microbios anormales estuvieron presentes (Holmberg, 1987).

En el año de 1995 se indicó que esta condición anormal en el ambiente interior puede estar dada por una ventilación insuficiente del local, en ambientes de residencias y oficinas en respuesta a enfermedades del personal (Reponen, 1995).

Durante el año 2000 se 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. Muchas esporas fúngicas son alergénicas, con capacidad de producir respuestas alérgicas en individuos susceptibles (Klanova, 2000).

En el año del 2002 se reportó en un estudio llevado a cabo en locales de La Universidad de La Habana, que valores de UFC/m³ de aire superiores a 10³ constituye un indicativo de contaminación ambiental en ambientes interiores (Larone, 2002).

En general los niveles señalados sólo sirven como referencia teniendo en cuenta que han sido registrados en el interior de almacenes, museos, bibliotecas y residencias (Larone, 2002).

Por otra parte en el año 2004, Tagle Industrial Higiene Associates plantea que la concentración debe ser menor de 1000 UFC/m³ y de especies combinadas para que no ocurran afectaciones a la salud (Maldigan *et al.*, 2004).

H. Medios de cultivo

El objetivo fundamental de la utilización de los medios de cultivo es optimizar el crecimiento de los microorganismos. La composición básica de un medio incluye nutrientes, agente solidificante (en los medios sólidos o semisólidos), pH adecuado y componentes específicos. En los medios de cultivo para el aislamiento de hongos, los antimicrobianos se utilizan con frecuencia, tanto para inhibir el crecimiento bacteriano como el de otros hongos ambientales.

Atendiendo a la composición, los medios de cultivo pueden ser generales, enriquecidos, selectivos, diferenciales y especializados (Mahon&Manuselis, 2000).

1. Tipos de medios de cultivo

- **Generales:** El más característico y clásico es el agar glucosado de Sabouraud (SDA), y su equivalente en EEUU, el medio para mohos. Ambos se utilizan frecuentemente para el aislamiento a partir de la muestra y para la descripción de las características de la mayoría de los hongos (Centro de Micología del Departamento de microbiología, 1994).
- **Enriquecidos:** Se utilizan especialmente en micosis sistémicas endémicas (histoplasmosis, coccidioidomycosis, etc). Un ejemplo es la infusión cerebro-corazón (BHI) (Centro de Micología del Departamento de microbiología, 1994).
- **Selectivos:** Son medios que favorecen el aislamiento de los microorganismos deseados impidiendo el de otros. Los componentes más utilizados como agentes selectivos son antibacterianos (cloranfenicol, gentamicina, penicilina, estreptomycin) y también inhibidores de hongos, como la cicloheximida que es especialmente útil en las muestras cutáneas y respiratorias de micosis sistémicas endémicas (Centro de Micología del Departamento de microbiología, 1994).
- **Diferenciales:** Se utilizan para ayudar a la identificación del hongo basada en su apariencia en el medio, merced a la adición de determinados componentes como por ejemplo sustancias cromógenas, o indicadores de pH (Centro de Micología del Departamento de microbiología, 1994).
- **Especializados:** Son aquellos medios que contienen algún componente (*Guizotia abyssinica*) destinado a aislar un agente concreto (*Cryptococcus neoformans*) o favorecer la identificación de ciertas especies (medio de Czapek) (Centro de Micología del Departamento de microbiología, 1994).

2. Preparación de los medios de cultivo

La buena calidad de los medios es indispensable para conseguir el aislamiento y la identificación en micología; por lo tanto, cuando se utilicen medios comerciales es necesario tener en cuenta la garantía que aporta el proveedor y la calidad de la distribución (Centro de Micología del Departamento de microbiología, 1994).

3. Control de calidad

Para asegurar la correcta utilización de los medios, debe controlarse periódicamente sus características más importantes: apariencia, esterilidad, pH y funcionamiento. El funcionamiento se puede evaluar utilizando las cepas de control adecuadas para cada medio (Centro de Micología del Departamento de microbiología, 1994).

Los controles de calidad deben realizarse tanto, a los medios elaborados en el laboratorio, como a los medios comerciales ya preparados; en este caso, es conveniente solicitar al fabricante los controles a utilizar y los resultados para el lote suministrado (Centro de Micología del Departamento de microbiología, 1994).

4. Soporte de los medios de cultivo

El soporte habitual para los medios de cultivo en micología suele ser tubos de cristal o placas de Petri (90 mm). La elección depende del usuario, autores como De How y Guarro proponen el uso habitual de placas excepto, por razones de seguridad, en los casos de sospecha de histoplasmosis, coccidioidomicosis, blastomicosis, paracoccidioidomicosis e infecciones por *Penicilliummarneffeii*(Centro de Micología del Departamento de microbiología, 1994).

Si se utilizan tubos, deben incubarse en posición horizontal las primeras 24 h para el inóculo no se concentre en el fondo. Los tubos no deben ser los habituales de microbiología porque ellos las colonias no son fáciles de aislar. Si los tubos utilizados son de tapón de rosca, el cierre debe mantenerse parcialmente abierto para garantizar las mejores condiciones atmosféricas. Cuando se eligen placas, es conveniente que contenga 40 ml de medio para evitar que se sequen y deben sellarse con cinta adhesiva para que no abran involuntariamente. El precintado debe ser permeable al aire, ya que cuando el aire circula libremente se favorece la producción de pigmento y la superficie del agar se seca, permitiendo el desarrollo del micelio aéreo y esporas (Centro de Micología del Departamento de microbiología, 1994).

5. Almacenamiento

Los medios se deben guardar refrigerados a 2-8°C. Para mejorar su conservación y prevenir la desecación, es aconsejable invertir las placas e introducirlas en bolsas de plástico. Las placas de Petri suelen conservarse en buen estado unos tres meses, mientras que los medios semisólidos o líquidos en tubo de rosca se conservan bien hasta seis meses. Sin embargo, ciertos medios, al contener sustancias inestables (antibióticos, vitaminas, sangre, etc.), no se conservan en buen estado (García & Uruburu, 2000).

6. Elección de los medios de cultivo

Los medios más utilizados en el cultivo de hongos son: agar glucosado de Saboraud, habitualmente con la modificación de Emmons (SDA); agar infusión cerebro-corazón (BHIA) con o sin sangre de cordero al 5%, con o sin antibacterianos; agar inhibidor para mohos (MIA); agar MycoseMycobiotic y agar glucosado de patata (PDA). Sin embargo, los hongos también pueden crecer en medios no selectivos, si se incuban el tiempo suficiente, incluidos la mayoría de los medios bacteriológicos (García & Uruburu, 2000).

El aislamiento de algún hongo puede verse dificultado por otros factores como la acidificación del medio utilizado (para impedir el crecimiento de bacterias). Para el aislamiento, la utilización de 3-4 medios prácticamente cubre todas las necesidades: agar glucosado de

Saboraud (SDA) con/sin antimicrobianos; un medio con cicloheximida y agar infusión cerebro-corazón, para las micosis sistémicas endémicas (García & Uruburu, 2000).

IV. Justificación

Se hace necesario identificar géneros fúngicos predominantes en el aire, así como determinar también unidades formadoras de colonia por metro cúbico de aire (UFC/ m³ de aire) y el grado de agresividad de los géneros encontrados, en las áreas ocupacionales y exteriores de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y otras áreas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, ya que hay pocos estudios realizados sobre la aerobiología en Guatemala, específicamente sobre nivel fúngico en el aire y por tanto un vacío de información sobre este tema.

El propósito de este estudio fue realizar un análisis, de la distribución de partículas fúngicas microscópicas aerotransportadas en la atmósfera, para determinar que géneros predominan (caracterización) y en que proporción se encuentran (UFC/m³ de aire). Y con esto determinar si llegan a ser un riesgo en la salud de las personas que asisten a estas áreas ocupacionales y sus alrededores (exteriores), como personal administrativo, docente y estudiantil. Buscando evitar a futuro, efectos capaces de alterar tanto la salud física como la mental del trabajador, estudiantes, personal administrativo y docente provocando un mayor estrés y con ello una disminución del rendimiento laboral. Por esto es importante iniciar un documento que trate sobre la calidad del aire interior y exterior, ya que pasamos más del 80% de nuestro tiempo en ambientes interiores.

V. Objetivos

A. General

1. Identificar y caracterizar las cepas de los diferentes géneros fúngicos aislados del muestreo de la calidad del aire.

B. Específicos

1. Determinar la calidad microbiológica del aire en distintas zonas (áreas ocupacionales y exteriores) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y otras áreas de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
2. Aislar y caracterizar los principales géneros de hongos presentes en el aire interior y exterior de distintos lugares de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y otras áreas ocupacionales de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
3. Evaluar el grado de agresividad de los géneros fúngicos presentes en el aire obtenido del estudio, para observar sus características y su comportamiento.

VI. Materiales y Métodos

A. Universo de trabajo

Aerosol atmosférico de áreas ocupacionales y exteriores de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y otras áreas de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Siendo estas áreas LAMIR (Laboratorio Microbiológico de Referencia) Edificio T-12, Laboratorio de Alimentos Edificio T-11, Biblioteca Central y Rectoría.

B. Muestra

Las muestras analizadas fueron obtenidas de los muestreos mensuales realizados en el proyecto macro, donde se muestrearon los locales seleccionados (LAMIR Edificio T-12, Laboratorio de Alimentos Edificio T-11, Biblioteca Central y Rectoría). Este muestreo se hizo a la hora de mayor índice de contaminación fúngica (determinada en el proyecto macro). Los muestreos se realizaron mediante el método volumétrico por impactación. Para llevarlo a cabo se utilizó el biocolector MAS-100 Eco, el cual se utilizó para que aspirara 100 L/minuto de aire. Se siguió un diseño diagonal, tomando tres puntos a la altura de un metro en dependencia de las dimensiones del local.

En cada muestreo se siguió el mismo procedimiento para el recuento de carga fúngica presente en las áreas muestreadas. De estas cajas se realizó el aislamiento de las cepas de interés para su posterior caracterización. Las cepas aisladas se sembraron en diferentes medios de cultivo para observar sus características macroscópicas, y se hicieron preparaciones en fresco con azul de lactofenol para observar sus características microscópicas. Para determinar el grado de agresividad de las cepas aisladas se realizaron diferentes pruebas de competitividad, liberación de pigmento y exudado.

1. Obtención de muestras

Las muestras fúngicas fueron aisladas del aire interior y exterior presente en los cuatro locales que se muestrearon durante febrero a agosto del año 2008, a la hora seleccionada como de

mayor contaminación. Para esto se utilizó un aeroscopio ECO MAS-100, recolectando 100L por minuto de aire en agar Sabouraud con cloruro de sodio al 7.5%.

2. Aislamiento de las colonias fúngicas

Para la identificación del género de los hongos se realizó un aislamiento de las colonias obtenidas después del muestreo. Cada colonia se aisló en una nueva caja de Petri, se utilizó tres diferentes medios para el aislamiento según las características de la colonia, en los cuales se utilizó agar CZAPEK-DOX, agar Sabouraud con NaCl al 7.5 % y agar PDA (Agar papa dextrosa). Si la colonia no presentaba un buen crecimiento en alguno de estos medios de cultivo, para llegar a establecer la identidad correcta del género del hongo, se realizó un cultivo en lámina o microcultivo con el objetivo de la obtención y preservación de la morfología microscópica típica de los hongos obligando al hongo a que esporulara, lo que permitió realizar la identificación definitiva de algunos de ellos.

Ya con el aislamiento de los hongos en los diferentes medios de cultivo, se obtuvieron colonias puras y con esto características morfológicas macroscópicas de los cultivos. También se realizó una descripción microscópica del género fúngico. Con las características macroscópicas y microscópicas se llegó a caracterizar los géneros de *Aspergillus* y *Cladosporium* hasta especie. Todos estos procesos se llevaron a cabo en una campana de extracción de flujo laminar para evitar cualquier contaminante en el laboratorio y al personal que allí labora.

3. Caracterización e Identificación de los géneros fúngicos

Para la identificación del género de los hongos predominantes, se utilizaron las técnicas habituales de observación directa y al microscopio. Para ello, se utilizó azul de lactofenol como colorante para la preparación de las muestras en fresco con láminas y cubreobjetos, y así establecer características morfológicas en el microscopio. También se observaron las características macroscópicas de la colonia.

4. Evaluación del grado de agresividad de las cepas fúngicas

A los géneros de las cepas con características morfológicas patógenas, los que produjeron algún exudado o pigmento del medio de cultivo, se les realizó un aislamiento en diferentes medios de cultivo CZAPEK-DOX o PDA, para observar sus características, tales como tasa de crecimiento, morfológicas, biodeterioro, competitividad entre especies de los géneros *Aspergillus* y *Cladosporium*.

5. Cultivo en lámina o microcultivo

Se cortaron pequeños cuadros de 1 x 1 cm de agar CZAPEK-DOX, previamente preparados en una caja de Petri, con un grosor de 4 mm. Este corte se realizó con un asa en espátula previamente flameada. Se colocó el cuadro de agar encima de la lámina portaobjetos. Con un asa en L se removió una pequeña porción de la colonia fúngica, y se inoculó los cuatro cuadrantes del agar. Se cubrió con un cubreobjetos el cuadro de agar inoculado. Se saturó con agua estéril, el disco de papel filtro (para mantener la humedad necesaria). Se incubó a 27°C y se examinó visualmente el cultivo en forma periódica, hasta que se determinó que la colonia había madurado y desarrollado sus estructuras.

Con unas pinzas, se separó el cubreobjetos del fragmento de agar, se retiró del portaobjetos el agar ahí adherido. Con el cubreobjetos se realizó una preparación en fresco con azul de lactofenol y se procedió a su caracterización microscópica de la siguiente forma:

- Se colocó una gota de azul de lactofenol en una lámina portaobjetos y luego se colocó encima el cubreobjetos para hacer contacto con el lado que tiene el crecimiento del hongo.
- Se le adicionó una gota de azul de lactofenol a la lámina portaobjetos con el crecimiento del hongo, se cubrió con un cubreobjetos y se eliminó las burbujas de aire que pudieran formarse presionando suavemente.
- Se selló las preparaciones con esmalte de uñas para preservarlas.

- Se observó al microscopio en seco débil.

C. Conservación de las cepas fúngicas

1. Conservación en agar Saboraud

Este método se basó en el empleo de agar Saboraud el cual se preparó, según las indicaciones del proveedor.

- Se esterilizó en autoclave a 121 °C por 15 min.
- Se distribuyó asépticamente 5 mL del medio en tubos de 90 x 10mm y se tapó con tapón de goma previamente esterilizado (tubos y tapones por separado) y se dejaron solidificar, con un ángulo de inclinación para formar un slant o cuña (Centro de Micología del Departamento de Microbiología, 1994).
- Se llevó a cabo la siembra del microorganismo de la siguiente manera:
- Se tomó inóculos de las cepas cultivadas, previa comprobación de pureza.
- Se sembró en el slant con asa de nicromo de manera estriada.
- Se incubó por 18-24 h a 37 °C y posteriormente se mantuvo en refrigeración.

2. Conservación en medio semisólido caldo corazón

Este método se basa en el empleo del caldo corazón en sustitución de los componentes de la fórmula original del medio de conservación, propuesto en el año de 1995 en Bacteriological Analytical Manual (García & Uruburu, 2000).

- Se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 min y se distribuyó asépticamente 3 mL del medio en tubos de 90 x 10 mm y se taparon con tapón de goma previamente esterilizados (tubos y tapones por separado).
- Se llevó a cabo la siembra del microorganismo de la siguiente manera:
- Se tomó los inóculos de las cepas cultivadas, previa comprobación de pureza.
- Se sembró en el medio con asa de nicromo hasta la mitad del tubo.

- Se incubó por 18-24 h a 37 °C y posteriormente se mantuvo a temperatura ambiente (Peñalva, 2000).

D. Preparación de medios de cultivo para el aislamiento fúngico

Para el crecimiento, aislamiento y esporulación de las cepas a analizar se preparó y utilizó los siguientes medios:

1. Agar CZAPEK-DOX

Se disolvieron 48 gramos del agar en un litro de agua desmineralizada. Se calentó como parte de la preparación para su disolución total. Se esterilizó en la autoclave (15 minutos a 121°C) y se vertió en placas. El pH de 7.3 ± 0.2 se verificó a 25°C. (Centro de Micología del Departamento de Microbiología, 1994).

2. Agar de Sabouraud a 4 % de glucosa más NaCl (cloruro de sodio)

Se disolvieron 65 gramos del agar en un litro de agua desmineralizada. Se calentó como parte de la preparación para su disolución total. Se esterilizó en la autoclave (15 minutos a 121°C). El pH de 5.6 ± 0.2 se verificó a 25°C y se agregó 7.5 gramos de NaCl por cada 100 ml de agar. (Centro de Micología del Departamento de Microbiología, 1994).

3. Agar Corazón-Cerebro (BHI) con 5% de sangre carnero

Se disolvieron 52 gramos del agar en un litro de agua desmineralizada. Se calentó como parte de la preparación para su disolución total. Se esterilizó en la autoclave (15 minutos a 121°C). El pH 7.4 ± 0.2 se verificó a 25°C. (Centro de Micología del Departamento de Microbiología, 1994).

E. Diseño de la investigación

1. Muestra y diseño del muestreo

Las muestras consistieron de hongos recolectados del ambiente de 4 locales (LAMIR Edificio T-12, Laboratorio de Alimentos Edificio T-11, Biblioteca Central y Rectoría), con el biocolector MAS-100 Eco. Estos crecieron en cajas de petri con medio de agar Saboraud con NaCl (cloruro de sodio) al 7.5 %. Se aislaron los géneros fúngicos de interés y los que tenían mayor predominancia.

Para el análisis de agresividad fúngica, se utilizaron siete muestras de cada local, siendo estas áreas LAMIR Edificio T-12, Laboratorio de Alimentos Edificio T-11, Biblioteca Central y Rectoría, solamente una por mes para cada área.

2. Análisis de resultados

La calidad microbiológica para cada muestra se evaluó en función de las especies presentes, su cantidad por cada lugar de muestreo (áreas) y una comparación descriptiva entre el espacio interior y exterior de cada área de muestreo. El nivel de agresividad de las cepas aisladas, se evaluó en función de competitividad, liberación de pigmento, liberación de exudado y morfología macroscópica de la cepa, el cual se presentó en forma descriptiva.

VII. 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 “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”. FODECYT 40-2007. Los resultados obtenidos en el presente proyecto cuentan con el aval del LAMIR para su publicación.

VIII. Resultados

A. Determinación de la carga fúngica total y por especie en los cuatro locales muestreados.

1. *Cladosporium*

En la tabla 2 se observa las especies caracterizadas de *Cladosporium*, las cuales presentaron una aparición constante en los cuatro locales muestreados.

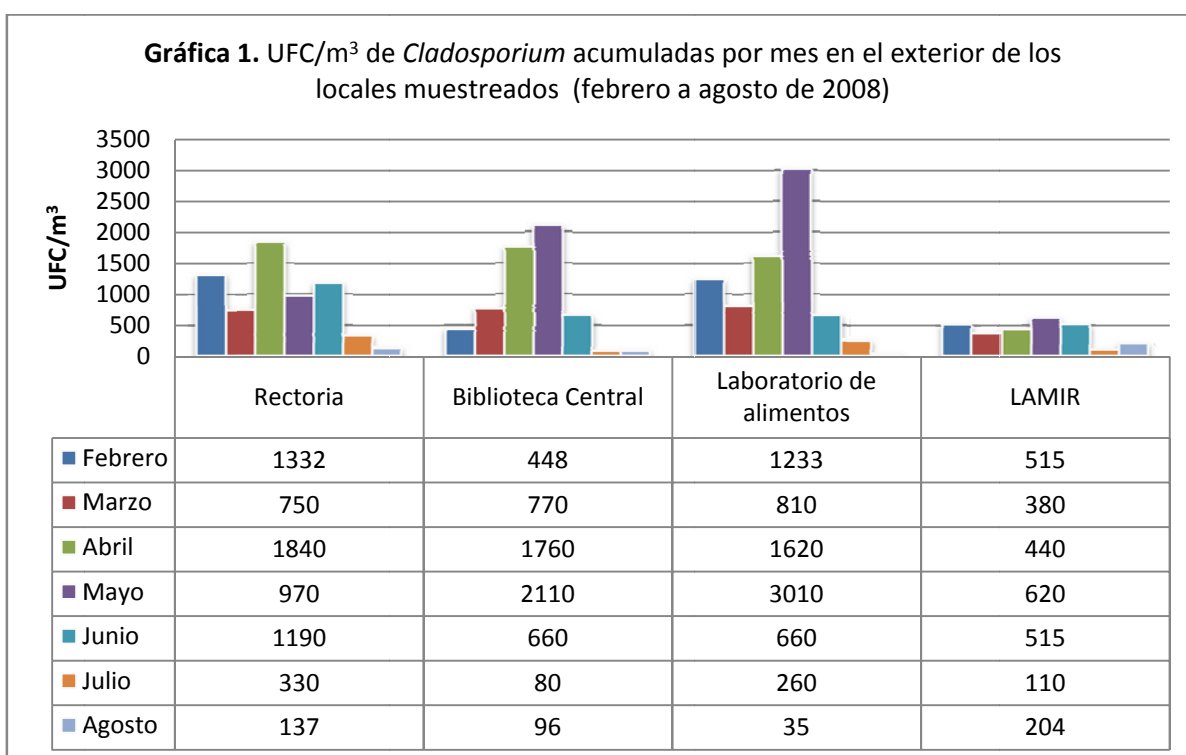
Tabla 2. Especies caracterizadas de *Cladosporium* en los cuatro locales aisladas de febrero a agosto 2008.

Número	Especies de <i>Cladosporium</i>
1	<i>Cladosporium</i> sp.
2	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>
3	<i>Cladosporium herbarum</i>
4	<i>Cladosporium cladosporoides</i>
5	<i>Cladosporium melatum</i>
6	<i>Cladosporium variabile</i>
7	<i>Cladosporium oxysporum</i>

Fuente: Datos generados por el proyecto.

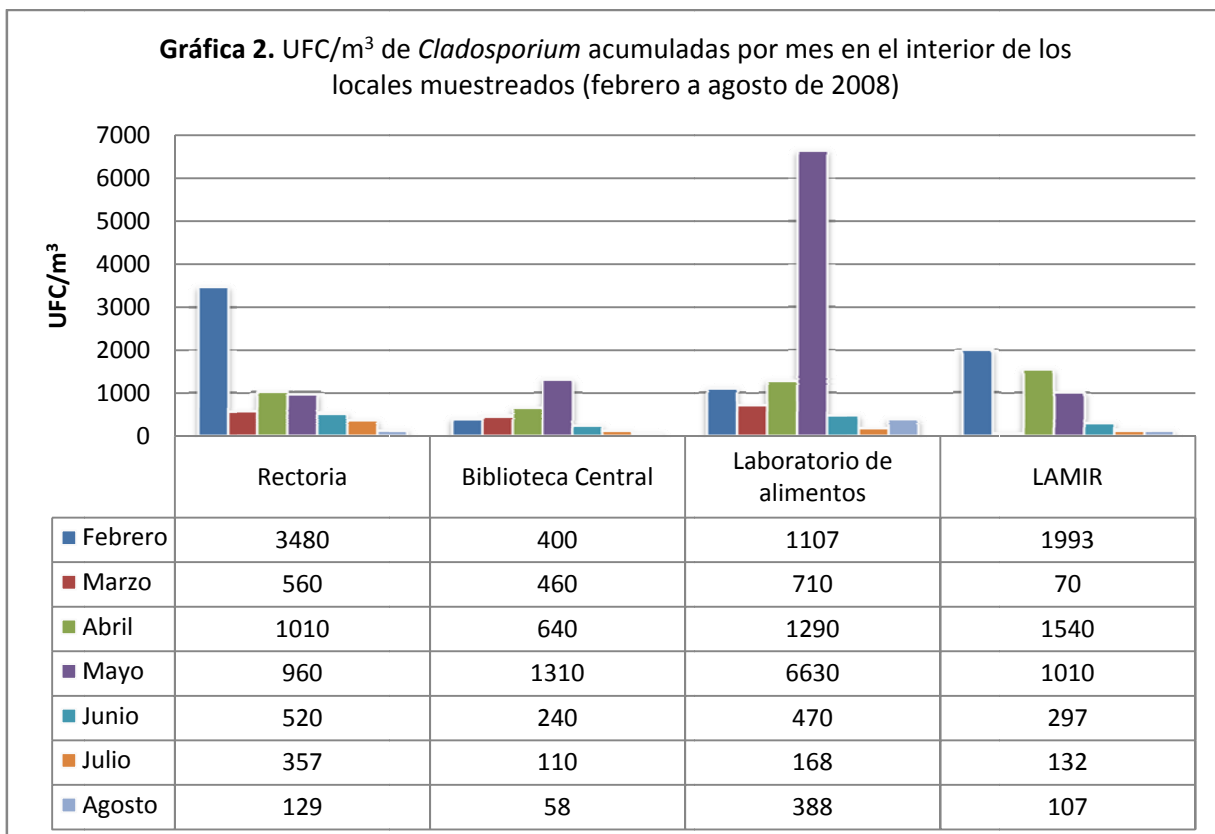
Nota: Las especies analizadas provienen de aislamientos realizados de géneros de *Cladosporium* obtenidos en el proyecto 40-2007.

En la gráfica 1 presenta que la mayor concentración total de UFC/m³ del género *Cladosporium* en el área exterior de los locales, se presentó en el Laboratorio de Alimentos con 3010 UFC/m³ en el mes de mayo, en el área exterior. Mientras que la menor concentración total de UFC/m³ de *Cladosporium* se presentó en el mes de agosto en el Laboratorio de Alimentos en el área exterior. La carga fúngica del género *Cladosporium* en el resto de los locales se notó mayor en abril y mayo, mientras que la menor contaminación del género *Cladosporium* se presentó en agosto y julio en el área exterior.



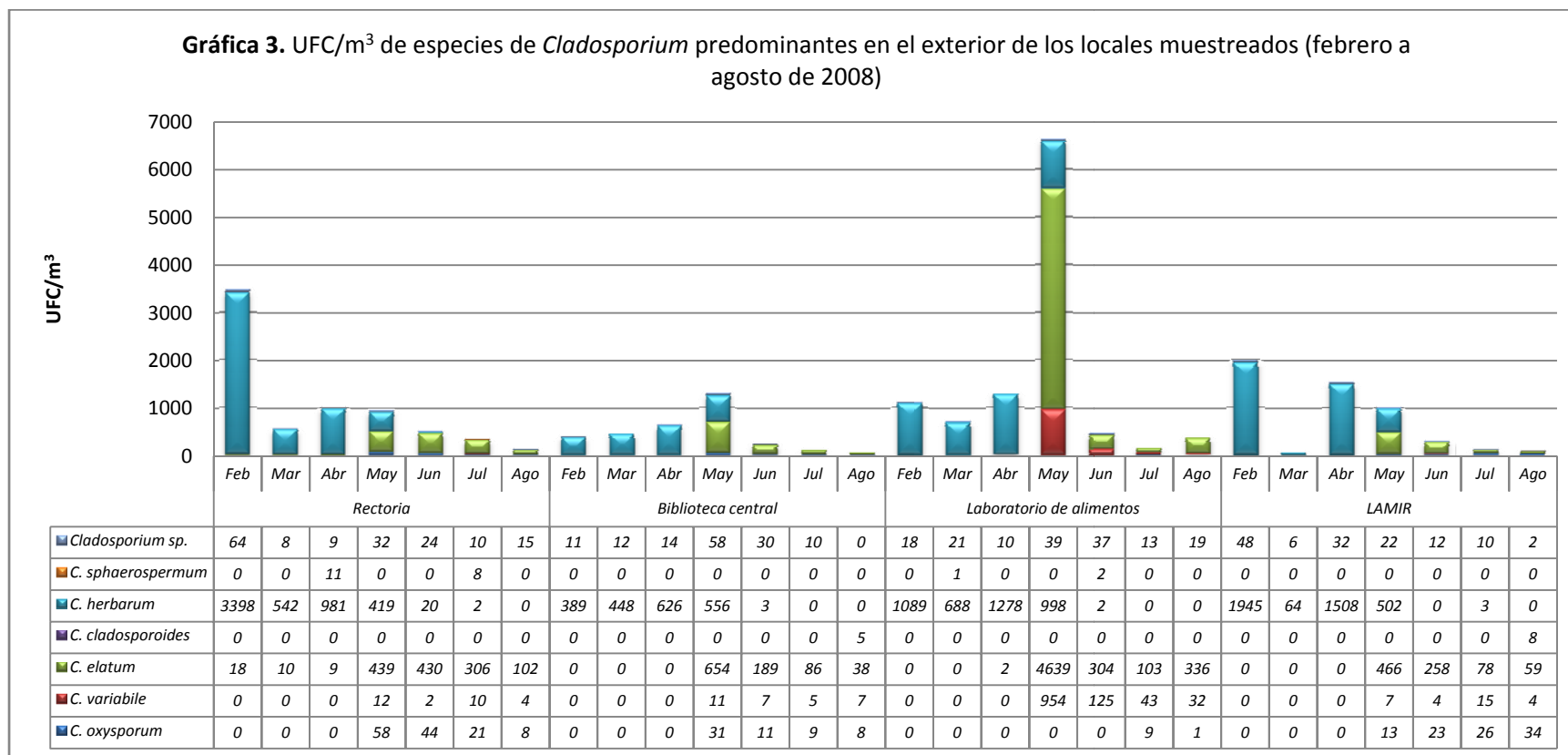
Fuente: Datos generados por el proyecto.

En la gráfica 2 presenta que la mayor contaminación por el género *Cladosporium* en el interior de los locales, se presentó en el Laboratorio de Alimentos con 6630 UFC/m³ en mayo. Mientras que la menor contaminación por *Cladosporium* se presentó en agosto en la Biblioteca Central en el área interior. Con respecto al género *Cladosporium* en el resto de los locales se notó una mayor presencia en abril y mayo, mientras que la menor carga del género *Cladosporium* se presentó en agosto y julio en el área interior.



Fuente: Datos generados por el proyecto.

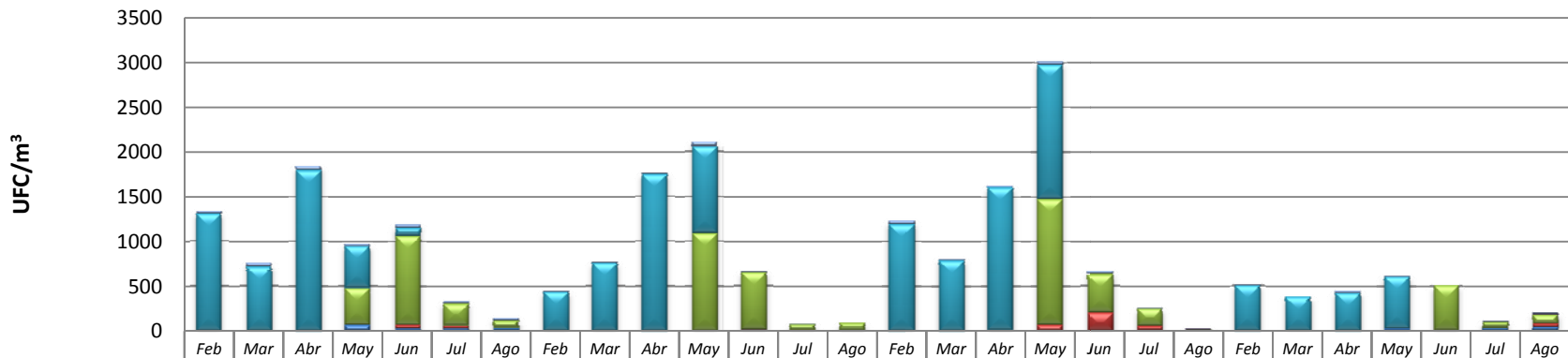
En la gráfica 3 se observa que en el área exterior de los locales, predominó *Cladosporiumherbarum*. Este se encontró principalmente en febrero en Rectoría. *Cladosporiumelatum*, se encontró predominante principalmente en el mes de mayo en el Laboratorio de Alimentos. La presencia de *Cladosporiumherbarum* se mantuvo constante durante febrero, marzo y abril; mientras que *Cladosporiumelatum*, en julio y agosto. *Cladosporiumvariable* se encontró únicamente en el Laboratorio de Alimentos y predominó en mayo y luego en menor cantidad en junio.



Fuente: Datos generados por el proyecto.

En la gráfica 4 muestra que *Cladosporiumherbarum* predominó en el área interior, principalmente de enero a abril en todos los locales. Mientras que *Cladosporiumelatum*, predominó de junio a agosto. En mayo se presentó la mayor carga fúngica del género *Cladosporium*, en el Laboratorio de Alimentos. Se encontró que las especies que estuvieron presentes en este mes fueron *C. herbarum*, *C. elatum* y *C. variable*. La tercera especie en predominancia fue *Cladosporiumvariable*, y se presentó de mayo a julio. Las demás especies de *Cladosporium* no tuvieron una aparición importante, ya que se aislaron poco.

Gráfica 4. UFC/m³ de especies predominantes de *Cladosporium* acumulados por mes en el interior de los locales muestreados (febrero a agosto de 2008)



	Rectoria				Biblioteca central				Laboratorio de alimentos				LAMIR																
	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago								
■ <i>Cladosporium sp.</i>	29	41	48	23	37	24	26	12	14	17	52	11	4	2	40	20	15	31	32	10	2	13	4	17	9	3	14	13	
■ <i>C. sphaerospermum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
■ <i>C. herbarum</i>	1303	709	1792	469	89	0	0	436	756	1743	969	0	0	0	1193	790	1596	1505	1	0	0	502	376	423	587	3	0	0	
■ <i>C. cladosporoides</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	11	
■ <i>C. elatum</i>	0	0	0	411	998	243	76	0	0	0	1089	634	66	85	0	0	9	1405	422	195	12	0	0	0	0	502	63	102	
■ <i>C. variable</i>	0	0	0	0	39	29	12	0	0	0	0	6	6	3	0	0	0	69	203	49	5	0	0	0	0	0	0	33	
■ <i>C. oxysporum</i>	0	0	0	67	27	34	23	0	0	0	0	9	3	4	0	0	0	0	0	6	1	0	0	0	0	24	7	33	45

Fuente: Datos generados por el proyecto

2. *Aspergillus*

En la tabla 3 se observa las especies caracterizadas de *Aspergillus*, las cuales presentaron una aparición constante en los cuatro locales muestreados.

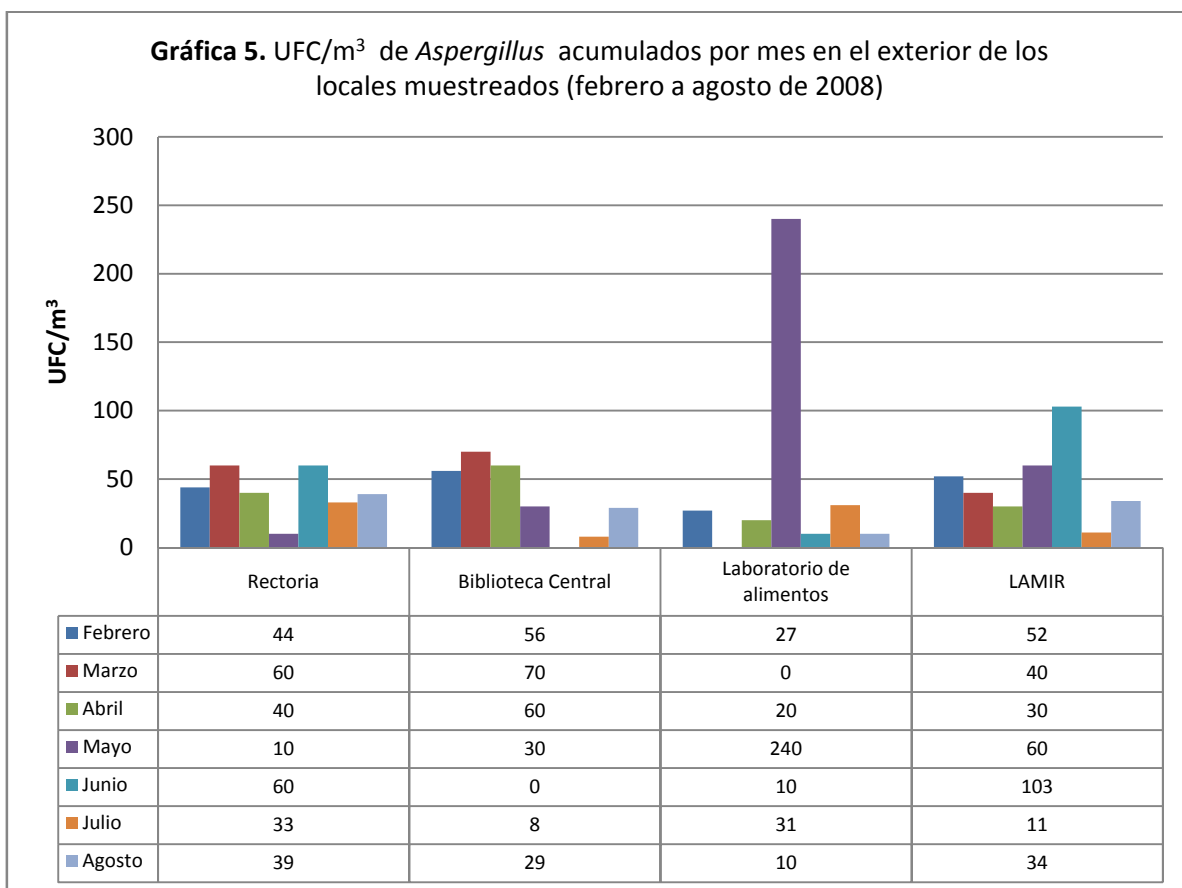
Tabla 3. Especies caracterizadas de *Aspergillus* en los cuatro locales aisladas de febrero a agosto 2008.

Número	Especies de <i>Aspergillus</i>
1	<i>Aspergillus</i> sp.
2	<i>Aspergillus versicolor</i>
3	<i>Aspergillus tamarii</i>
4	<i>Aspergillus flavus</i>
5	<i>Aspergillus wentii</i>
6	<i>Aspergillus sydowii</i>
7	<i>Aspergillus niger</i>
8	<i>Aspergillus fumigatus</i>
9	<i>Aspergillus terreus</i>

Fuente: Datos generados por el proyecto.

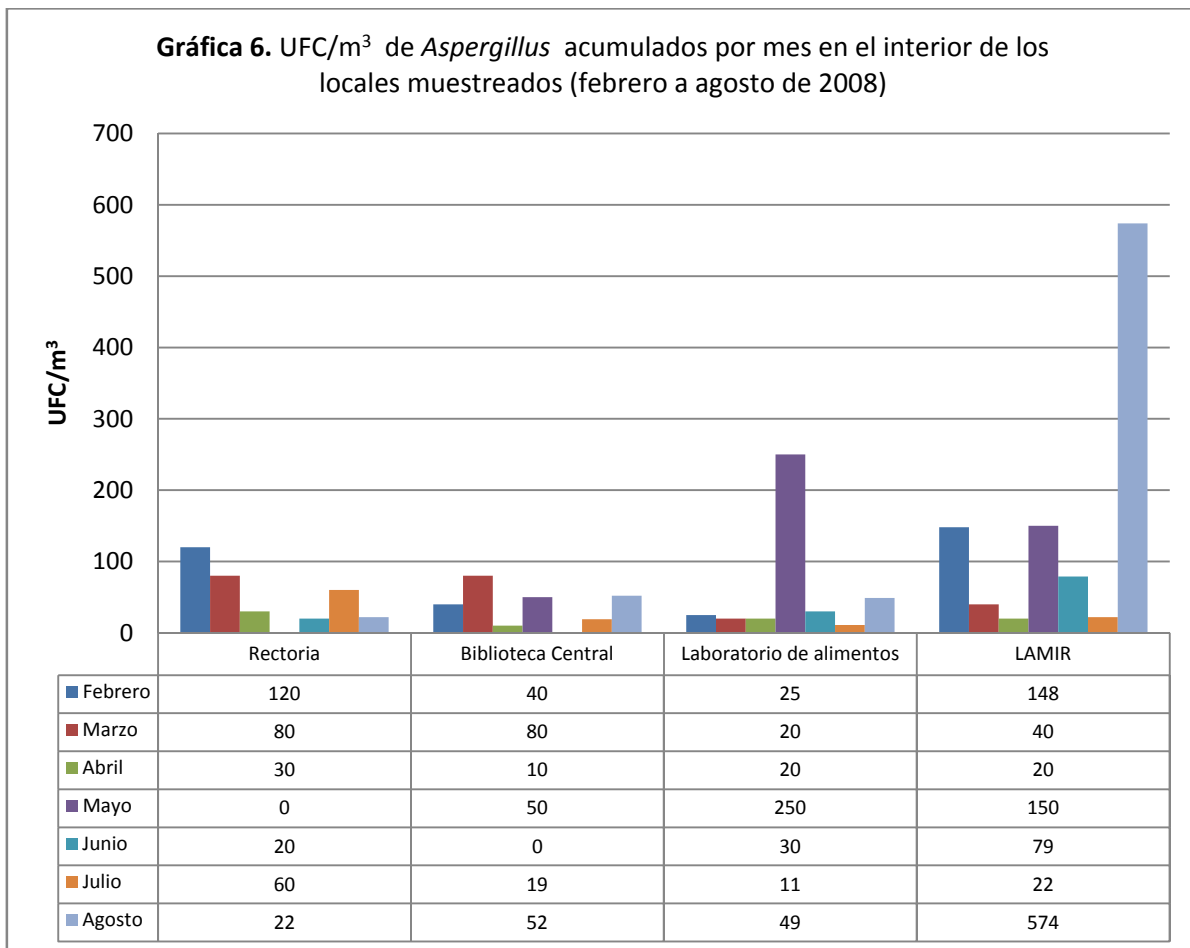
Nota: Las especies analizadas provienen de aislamientos realizados de géneros de *Cladosporium* obtenidos en el proyecto 40-2007.

En la gráfica 5 muestra que la mayor contaminación por el género *Aspergillus* en el área exterior de los locales, se presentó en el Laboratorio de Alimentos con 240 UFC/m³ en mayo. Mientras que en junio fue en la Biblioteca Central. El segundo local en donde la carga fúngica de *Aspergillus* se presentó en mayor concentración fue en el LAMIR en junio con 103 UFC/m³. Con respecto a este género en el área exterior de todos los locales, presentó un comportamiento variable a través de los meses, siendo en mayo cuando se encontró mayor carga fúngica de este.



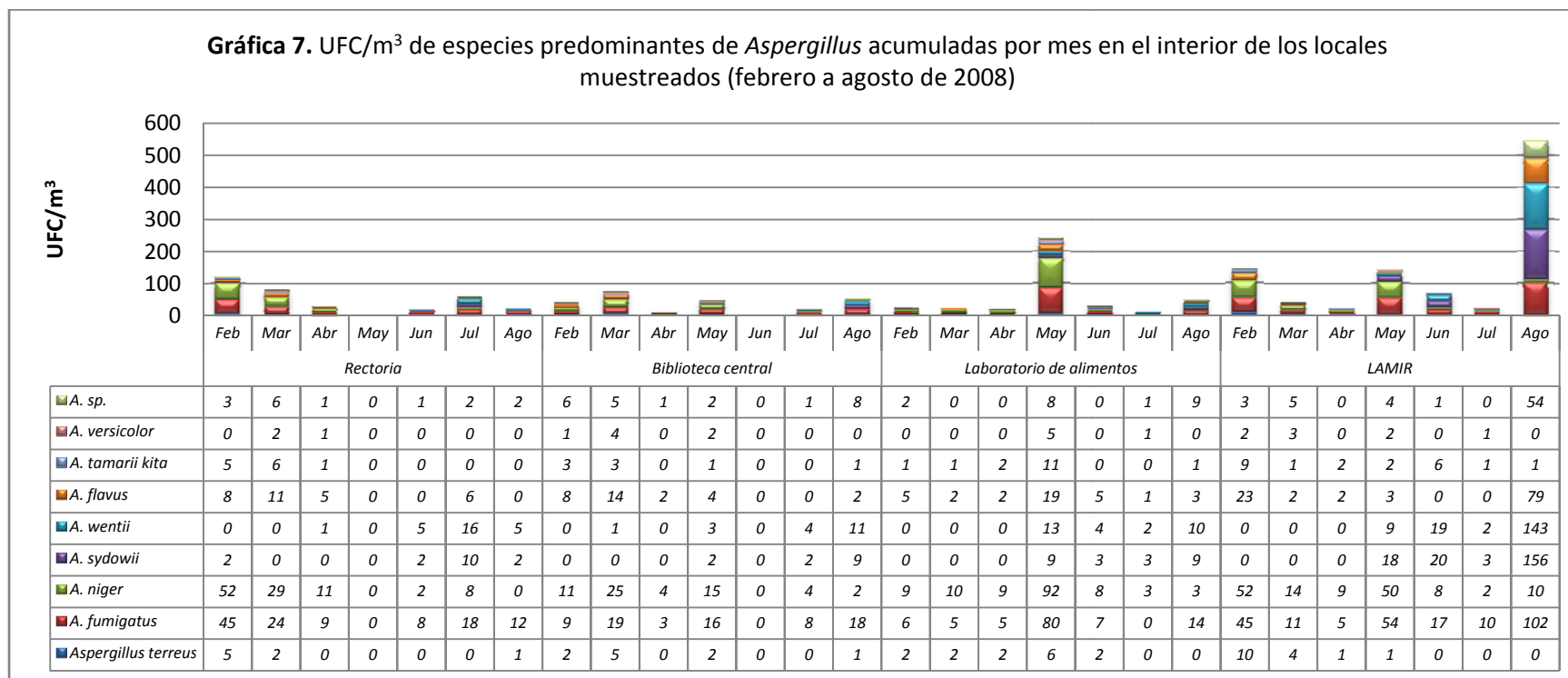
Fuente: Datos generados por el proyecto.

En la gráfica 6 muestra que la mayor contaminación por *Aspergillus* en el área interior de los locales, se presentó en el LAMIR con 574 UFC/m³ en agosto. El segundo local en donde se presentó en mayor concentración fue en el Laboratorio de Alimentos en mayo con 250 UFC/m³. Mientras que en el mes de junio fue en la Biblioteca Central. Este género presentó un comportamiento variable a través de los meses.



Fuente: Datos generados por el proyecto.

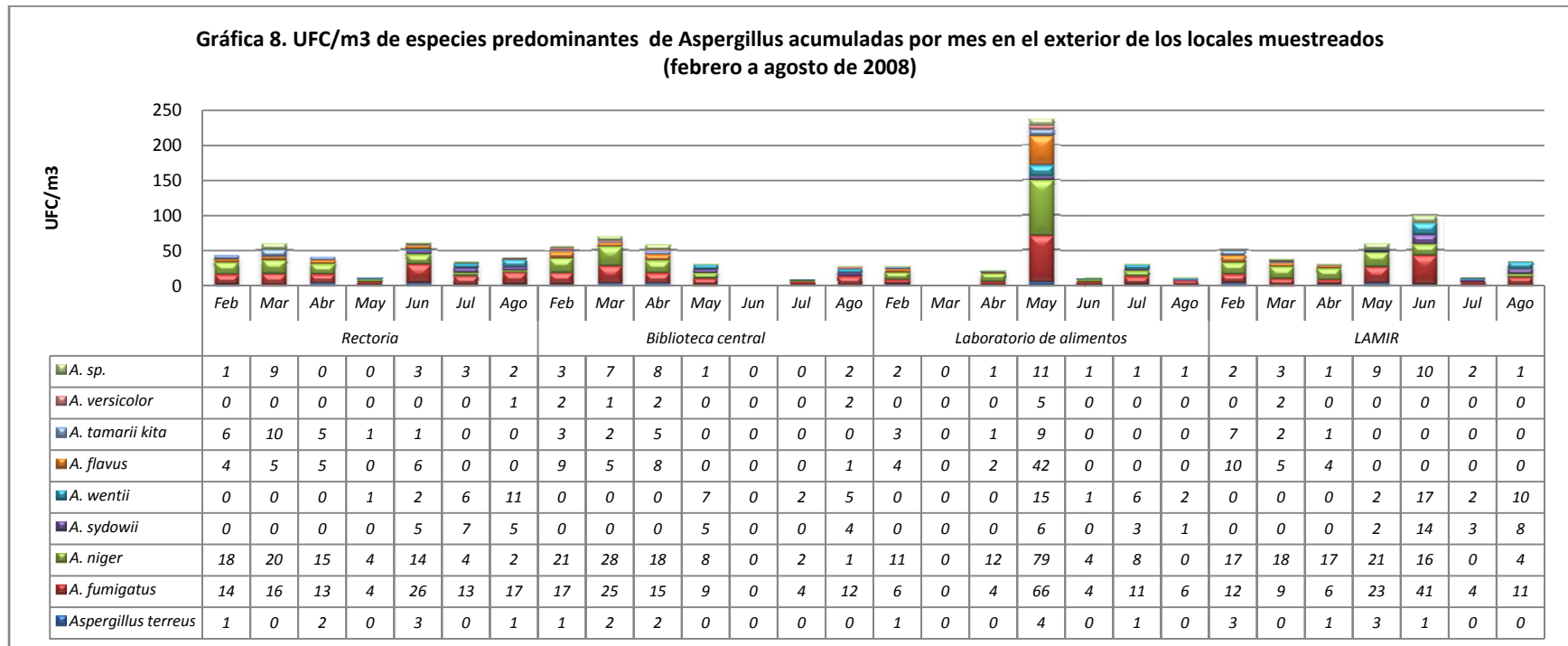
En la gráfica 7 se observa que las especies de *Aspergillus* que más predominaron en el área interior de los locales, fueron *Aspergillus flavus* y *A.niger*. Estos estuvieron presentes durante todos los meses muestreados, predominando de febrero a mayo, en todos los locales. Mientras que *Aspergillus wentii* y *sydowii*, predominaron más julio y agosto. En agosto fue cuando se presentó la mayor carga fúngica por este género, y se registró en el LAMIR, y la especie predominante fue *Aspergillus sydowii*.



Fuente: Datos generados por el proyecto.

Nota: Especies de *Aspergillus*, que tuvieron poca aparición durante los meses (0 a 5 UFC/m³), se encuentran mencionadas en la gráfica como *Aspergillus* sp.

La gráfica 8 presenta que las especies de *Aspergillus* predominantes en el área exterior en todos los locales fueron *Aspergillus niger* y *A.fumigatus*. La mayor carga fúngica de *Aspergillus* en el área exterior se presentó en mayo en el Laboratorio de Alimentos. La especie que predominó en este local fue *A.niger*. Con respecto al comportamiento de las diferentes especies de *Aspergillus*, estas tuvieron una baja durante los meses de julio y agosto, presentando un comportamiento constante durante febrero a mayo en todos los locales. Las especies en predominancia fueron *A. niger*, *A. fumigatus* y *A. flavus*.



Fuente: Datos generados por el proyecto.

Nota: Especies de *Aspergillus*, que tuvieron poca aparición durante los meses (0 a 5 UFC/m³), se encuentran mencionadas en la gráfica como *Aspergillus* sp.

B. Competencia de crecimiento de los géneros de *Aspergillus* y *Cladosporium*

1. *Aspergillus*

La especie de *Aspergillus* más agresiva en crecimiento es *A. niger*, esta abarcó la mayor parte de la caja de Petri en 7 ocasiones, respecto a las demás especies de *Aspergillus*, con las cuales se puso a competir las mismas condiciones de temperatura, medio de cultivo y de tiempo de incubación. Las otras especies de *Aspergillus*, que presentan un comportamiento agresivo referente al crecimiento son *Aspergillus fumigatus*, *A. terreus* y *A. versicolor*. Estas fueron las que le siguieron en predominancia en la competencia de crecimiento abarcando en 3 ocasiones (cada una de las especies), la mayor parte de la caja de Petri. Las demás especies, no presentaron un comportamiento tan agresivo, ya que muchas de estas especies tuvieron un crecimiento muy parejo ocupando un espacio muy equitativo en la caja y no hubo una predominancia tan marcada (tabla 4).

Tabla 4. Competencia de crecimiento de las diferentes especies de *Aspergillus* aisladas de febrero a agosto 2008 a los siete días de incubación en agar PDA a 26°C

Cepas en competencia	% de crecimiento total en caja de petri	Cepa predominante	% de crecimiento cepa predominante en caja de petri
<i>A. niger</i> vs <i>A. fumigatus</i>	100	<i>A. niger</i>	60
<i>A. terreus</i> vs <i>A. fumigatus</i>	100	<i>A. fumigatus</i>	70
<i>A. wentii</i> vs <i>A. niger</i>	100	<i>A. niger</i>	95
<i>A. versicolor</i> vs <i>A. nidulans</i>	70	<i>A. versicolor</i>	45
<i>A. niger</i> vs <i>A. versicolor</i>	100	<i>A. niger</i>	95
<i>A. terreus</i> vs <i>A. terricola</i>	100	<i>A. terreus</i>	90
<i>A. versicolor</i> vs <i>A. tamarii</i>	80	<i>A. versicolor</i>	40
<i>A. nidulans</i> vs <i>A. fumigatus</i>	100	<i>A. fumigatus</i>	95
<i>A. niger</i> vs <i>A. parasiticus</i>	100	<i>A. niger</i>	95
<i>A. tamarii</i> vs <i>A. flavus</i>	80	<i>A. flavus</i>	45
<i>A. tamarii</i> vs <i>A. terreus</i>	100	<i>A. terreus</i>	85
<i>A. flavus</i> vs <i>A. fumigatus</i>	100	<i>A. fumigatus</i>	90

<i>A. wentiivs A. sydowi</i>	65	<i>A. wentii</i>	35
<i>A. terreus vs A. pseudoelegans</i>	90	<i>A. terreus</i>	80
<i>A. flavus vs A. terricola</i>	70	<i>A. flavus</i>	50
<i>A. nigervs A. ochraceus</i>	90	<i>A. niger</i>	50
<i>A. aureolusvsA. niger</i>	100	<i>A. niger</i>	90
<i>A. unilateralisvsA. niger</i>	90	<i>A. niger</i>	80
<i>A. versicolor vs A. terricola</i>	60	<i>A. versicolor</i>	35

Fuente: Datos generados por el proyecto.

Nota: Las especies analizadas provienen de aislamientos realizados de géneros de *Aspergillus* obtenidas en el proyecto 40-2007.

Las especies de *Aspergillus* que produjeron pigmentación en el agar y también presentaron exudado, fueron *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. nidulans* y *A. flavus*, las cuales presentan un comportamiento más agresivo al presentar ambas características y una coloración más intensa en su pigmentación (Rapaeret *al.*, 1998). Con las especies de *A. versicolor* y *A. tamarii*, estas presentaron ambas una coloración crema, y con respecto a la presencia de exudado esta fue ocasional en ciertas colonias y en otras no. Mientras que las especies de *A. ochraceus*, *A. subolivaceus*, *A. aureolus*, *A. terricola*, *A. sparsus*, y *A. parasiticus*, sólo presentaron presencia de pigmentación en el agar, con lo cual su comportamiento agresivo es más reducido. Y las especies que no presentaron ninguna de las características de comportamiento agresivo fueron *A. wentii*, *A. sydowii*, y *A. pseudoelegans*, con lo que su comportamiento agresivo es débil (tabla 5).

Tabla 5. Liberación de exudado y pigmentación en las diferentes especies de *Aspergillus*, a los 7 días de incubación en agar CZAPEK-DOX.

Especie	Pigmentación	Exudado
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Amarillo tenue	Sí
<i>Aspergillus flavus</i>	Amarillo verdoso	Sí
<i>Aspergillus niger</i>	Amarillo tenue y/o crema	Sí
<i>Aspergillus terreus</i>	Ámbar a rojizo	Sí
<i>Aspergillus nidulans</i>	Púrpura	Sí
<i>Aspergillus wentii</i>	Incoloro	No
<i>Aspergillus sydowii</i>	Incoloro	No

<i>Aspergillus pseudoelegans</i>	Incoloro	No
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Amarillo tenue	No
<i>Aspergillus subolivaceus</i>	Crema	No
<i>Aspergillus unilateralis</i>	Incoloro	No
<i>Aspergillus aureolus</i>	Amarillo	No
<i>Aspergillus terricola</i>	Canela	No
<i>Aspergillus sparsus</i>	Crema	No
<i>Aspergillus versicolor</i>	Crema	Ocasional
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Amarillo tenue	No
<i>Aspergillus tamariikita</i>	Crema	Ocasional

Fuente: Datos generados por el proyecto.

Anexos C.1 y C.3

Nota: Las especies analizadas provienen de aislamientos realizados de géneros de *Aspergillus* obtenidas en el proyecto 40-2007.

2. *Cladosporium*

Las especies de *Cladosporium* más agresivas en crecimiento son *Cladosporium herbarum* y *C. oxysporum*, estas abarcaron la mayor parte de la caja de Petri en 2 ocasiones cada especie, en comparación con las demás especies de *Cladosporium*, con las cuales se puso a competir las mismas condiciones de temperatura, medio de cultivo y de tiempo de incubación (tabla 6).

Tabla 6. Competencia de crecimiento de las diferentes especies de *Cladosporium* aisladas de febrero a agosto 2008 a los siete días de incubación en agar PDA a 26°C

Cepas en competencia	% de crecimiento total en caja de Petri	Cepa predominante	% de crecimiento cepa predominante en caja de petri
<i>C. elatum</i> vs <i>C. herbarum</i>	90	<i>C. herbarum</i>	50
<i>C. oxysporum</i> vs <i>C. herbarum</i>	90	<i>C. oxysporum</i>	50
<i>C. elatum</i> vs <i>C. oxysporum</i>	85	<i>C. oxysporum</i>	45
<i>C. cladosporioides</i> vs <i>C. oxysporum</i>	70	<i>C. variable</i>	45

variable

C. cladosporoides vs *C.* 75 *C. cladosporoides* 45

oxysporum

C. herbarum vs *C. variable* 80 *C. herbarum* 50

Fuente: Datos generados por el proyecto.

Nota: Las especies analizadas provienen de aislamientos realizados de géneros de *Cladosporium* obtenidos en el proyecto 40-2007.

Todas las especies de *Cladosporium* produjeron su pigmentación en el agar. El color de la pigmentación fue negro a verde oscuro, y la única especie que presentó ambas características (presencia de exudado y pigmentación) fue *Cladosporiumherbarum*, la cual presenta un comportamiento más patógeno al presentar ambas características en relación con las demás especies de *Cladosporium* (tabla 7).

Tabla 7. Liberación de exudado y pigmentación en las diferentes especies de *Cladosporium*, a los 7 días de incubación en agar CZAPEK-DOX.

Especie	Pigmentación	Exudado
<i>Cladosporiumelatum</i>	Negro	Ocasional
<i>Cladosporiumherbarum</i>	Negro	Sí
<i>Cladosporiumoxysporum</i>	Verde oscuro	No
<i>Cladosporiumcladosporoides</i>	Verde oscuro	No
<i>Cladosporium variable</i>	Verde oscuro	No

Fuente: Datos generados por el proyecto.

Nota: Las especies analizadas provienen de aislamientos realizados de géneros de *Cladosporium* obtenidos en el proyecto 40-2007.

IX. Discusión de resultados

A. Determinación de la carga fúngica total y por especie en los cuatro locales muestreados.

La identificación de géneros fúngicos en las diferentes áreas geográficas y el reconocimiento de su distribución tienen un gran interés, tanto para el conocimiento del tipo de esporas existentes en un determinado hábitat y el comportamiento agresivo que estas pudieran presentar. Por esto se aisló y se caracterizó los diferentes géneros fúngicos para determinar que género o géneros, predominaban en cada área de muestreo siendo estos *Cladosporium* *Aspergillus*. Estos géneros se caracterizaron hasta especie, así también se describió las diferencias significativas entre área interior y exterior, con respecto al predominio de los géneros fúngicos (*Cladosporium* *Aspergillus*) y se observó la influencia ocasionada por factores externos e internos entre ambas áreas, en los cuatro locales muestreados. Se encontró mayor presencia de ambos géneros en el interior de los locales que en el exterior. Con lo cual no se relacionó con los estudios realizados por Herrero *et al.*, 1996, que indican que los valores de UFC/m³ de *Aspergillus sp.*, *Penicilliumsp* y *Cladosporiumsp.* son significativamente mayores en exterior que en interior. Con relación a la carga fúngica de los géneros predominantes ambos se encontraron con límites mayores a los establecidos por varios autores como (Miller *et al.*, 1988) asume que el límite máximo de hongos contables en el aire UFC/m³ es de 150 UFC/m³ y (Morey *et al.*, 1984) propone límites que indican riesgo para la salud de los ocupantes sobre los 1000 UFC/m³. Oghkeet *al.* (1992) consideró el valor de 100 UFC/m³ como valor máximo, cuando realizó un muestreo sistemático en 11 edificios públicos. En EEUU, consideran valores por encima de 100 un riesgo para la población expuesta. En contrapartida Yang (1993) sugiere 200 UFC/m³, en un estudio de 2000 muestras Kim *et al.* (2007) encontró valores de interior de 360 UFC/m³ y exterior 950 UFC/m³ y los relacionó con la manifestación de síntomas alérgicos en una población de estudiantes en Uppsala. Además se caracterizó los géneros predominantes de las áreas hasta especie y se evaluó sus diferentes características agresivas por medio de las pruebas de competitividad entre cepas, presencia de pigmento y liberación de exudado.

1. *Cladosporium*

El género que predominó mayormente fue *Cladosporium*, en los cuatro locales muestreados LAMIR (Laboratorio Microbiológico de Referencia) Edificio T-12, Laboratorio de Alimentos Edificio T-11, Biblioteca Central y Rectoría. Lo que coincidió con los hongos de interior y exterior más comunes encontrados por otros autores (Herrero *et al.*, 1996, Icenhour y Levetin 1997, Levetin y Shaughnessy 1997, Garretet *al.* 1997, Rosas *et al.* 1997, 1998, Infante *et al.* 1999, Calderón *et al.* 1995, 1997, Griffin 2004, Awad 2005). Registros similares son reportados por Icenhour y Levetin (1997) en donde *Cladosporium* fue el género más abundante. Calderón *et al.* (1997) reportaron datos semejantes donde *Cladosporium*, *Alternaria* y *Penicillium* fueron los géneros que predominaron. El género *Cladosporium* tiene una presencia alta y casi constante en la mayoría de los recuentos realizados en varios países. Se muestrearon 4 locales para determinar la carga fúngica total del género *Cladosporium*, de estos locales muestreados todos están ubicados en el campus central de Universidad de San Carlos de Guatemala. Con lo referente a la carga fúngica total en el exterior y en el interior, del género *Cladosporium*, el local que presentó la mayor concentración de este género fue el Laboratorio de Alimentos (gráficas 1 y 2) esta se dio en mayo. En Guatemala existen dos estaciones marcadas: la temporada seca, y la temporada de lluvias, la cual abarca de mayo a noviembre, con un clima templado en el con medias de 18 a 25 °C (INSIVUMEH, 2008). Es decir, a menor temperatura existe un mayor número de esporas en el aire, con lo cual se vio afectado y el nivel de carga fúngica de este género se vio favorecido con el cambio de clima durante mayo. Además, Herrero *et al.*, 1996, menciona que los hongos en el aire que se encuentran en invierno son termotolerantes y tienen un rango de crecimiento entre 12 y 55 °C, como en este estudio ya que *Cladosporium* es termotolerante este presentó una aparición constante en los meses de muestreo con relación al clima. Con relación al Laboratorio de Alimentos, este presenta en su área exterior una pequeña área verde, lo que pudo influir que este género se presentará con mayor concentración en ambos ambientes, ya que la mayoría de las especies de *Cladosporium* son saprófitas y habitan sobre vegetación o sobre el suelo, además de poseer una distribución cosmopolita (Peñalva, 2000). También se menciona que en prevalencia en los ambientes, las especies a destacar en el ambiente extramural son *Alternaria* y *Cladosporium*, halladas sobre plantas y en zonas putrefactas del suelo como menciona (Beaumont, 1985). En comparación con los otros tres locales el Laboratorio de Alimentos

posee más área verde seguido de LAMIR y la Biblioteca Central así como Rectoría no poseen área verde en su exterior.

Como se observa en la gráfica 1 y 2, el género *Cladosporium*, se manifestó con una concentración fúngica más elevada durante febrero a junio en el exterior así como en el interior, en todos los locales. Este género está presente en el aire de interior y exterior durante todo el año, y las mayores concentraciones se alcanzaron durante el final de la época seca como ocurrió en este estudio. Los recuentos de este género se disminuyeron a partir de los meses de junio, julio y agosto, que es el inicio la época lluviosa en Guatemala, con lo que establece que este género se ve influenciado por el clima, y es beneficiado por el clima seco a caluroso y afectado grandemente por una elevada humedad. El género *Cladosporium*, pertenece a la familia-forma *Dematiaceas* (orden forma *Moniliales*, subdivisión *Deuteromycotinas*) que engloba a unas 40 especies. En este estudio se aislaron un total de 7 especies, las que predominaron en todos los locales, tanto en exterior como en el interior fueron *Cladosporium herbarum* y *C. elatum*. Estas tuvieron una presencia marcada comparada con las demás especies gráficas 3 y 4. Esto coincide con la teoría que indica que las especies más comunes son *C. elatum*, *C. herbarum*, *C. cladosporioides* y *sphaerospermum* (Alcalaet al., 1998). Además, se indica que en aire la especie más común es *C. herbarum*, esta se presentó durante todos los meses de muestreo, pero tuvo una predominancia muy marcada, en más del 90%. Fue la especie casi única de febrero a abril en ambos ambientes.

2. *Aspergillus*

El género *Aspergillus* presenta una aparición casi constante en el aire de interior y exterior de edificios; así mismo se encuentra en muestras de semillas y granos almacenados y en polvo doméstico, donde especies de este género han sido señaladas como favorecedoras del crecimiento de los ácaros, ya que aseguran a estos, un aporte vitamínico adecuado y la predigestión de las escamas dérmicas de las que se alimentan (Rapaeret al., 1998). Este género es uno de los más citados en los calendarios aeromicológicos de todo el mundo, y se caracteriza por tener una presencia alta y constante en la mayoría de los recuentos.

De los cuatro locales muestreados, donde se observó su mayor concentración en el ambiente exterior, fue en el Laboratorio de Alimentos en mayo gráfica 5. Esto debido a que el laboratorio de alimentos contaba en el exterior con un área verde, semi-boscosa, lo que influye en que se tengan las condiciones de sustrato, temperatura y humedad perfectas para su presencia y posterior diseminación. Mientras que en el ambiente interior este presentó, una mayor concentración en el LAMIR, en el mes de agosto gráfica 6. Se debe resaltar que durante ese mes se tenía en proceso el análisis de cepas recolectadas, tanto en el estudio macro, como en los diferentes estudios derivados del mismo, incluyendo el presente estudio. Por lo que, se puede esperar que dicha variable haya sido afectada por las condiciones presentes en ese momento en el laboratorio, además los dos locales mencionados son los que poseen mayor área verde en relación a la Biblioteca Central y Rectoría. Por lo antes mencionado la mayor carga fúngica del género *Aspergillus*, tanto de exterior como de interior, encontrada en Laboratorio de Alimentos y LAMIR, se explicaría porque los ambientes situados en ambientes más naturales rodeados de vegetación y menos urbanizados están expuestos a mayor número de fuentes de esporas de hongos, estos argumentos son compartidos por otros autores (Bovallius *et al.*, 1978; Li anKendrich, 1995; Hargreaves *et al.*, 2003).

Con relación a las especies de *Aspergillus*, encontradas en los diferentes locales en el ambiente interior, en la gráfica 7, se observa que las especies de este género que más predominaron en el área interior de los locales, fueron *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger* estos estuvieron presentes durante todos los meses muestreados, predominando más de febrero a mayo, en todos los locales. Mientras que *Aspergillus wentii* y *sydowii*, predominaron más en agosto y julio.

En la gráfica 8, se observa que las especies de *Aspergillus* predominantes en el área exterior en todos los locales fueron *Aspergillus niger* y *Aspergillus fumigatus* (anexo A.1 y A.2). Con respecto al comportamiento de las diferentes especies de *Aspergillus* en el área exterior, estas tuvieron una baja durante julio y agosto, presentando un comportamiento constante durante febrero a mayo en todos los locales. Como este género es termoestable, tiene un comportamiento variable con respecto a la temperatura, ya que son capaces de crecer a temperaturas de entre los 15 y 53 grados centígrados, por lo que el comportamiento de las especies estuvo variable a través de los meses de muestreo (Peñalva, 2000).

Las especies predominantes de *Aspergillus* coinciden con las predominantes a través del mundo las cuales son *A. niger*, *A. fumigatus* y *A. flavus* gráficas 7 y 8 (Sarria *et al.*, 2005). Además de encontrarse presentes todo el año, éstas aumentan durante el invierno como ocurrió en los meses de muestreo que aumentó la humedad de mayo a agosto, los locales más afectados fueron el LAMIR y el Laboratorio de Alimentos por la presencia de corrientes de aire provenientes del exterior por tener ambas áreas verdes en sus alrededores. Esto influyó en el aumento de especies de *Aspergillus*, mayormente en estas áreas, ya que el resto de los locales la presencia de áreas verde a semi-boscosas es menor.

B. Competencia de crecimiento de los géneros de *Aspergillus* y *Cladosporium*

Para determinar la agresividad de invasión y el nivel de agresividad, así como el nivel de biodeterioro, se tomaron las características de velocidad de crecimiento (competitividad de géneros entre cepas de las diferentes especies), producción de pigmento y exudado. Esto para observar si llegaban a ser perjudiciales para la salud humana. Todo a las mismas condiciones de temperatura, período de incubación y medio de cultivo. Tomando en cuenta que a mayor crecimiento en la caja de Petri, producción de pigmento y exudado, la especie se considera más agresiva por presentar estas características. Y al no presentar características o presentar menos cualidades la especie se considera menos agresiva.

1. *Aspergillus*

El *Aspergillus* es un hongo filamentoso, ubicuo y cosmopolita que se encuentra en la naturaleza y en las viviendas. Se puede aislar de la tierra, de los sistemas de ventilación, del agua (Gassiotet *et al.*, 2000). Se conocen unas 900 especies de *Aspergillus*, que Rapper y Fennell clasifican en 18 grupos, de los que sólo 12 se relacionan con enfermedad humana: *Aspergillus fumigatus* (85%), *A. flavus* (5-10%), *A. niger* (2-3%), *A. terreus* (2-3%), *A. versicolor*, *A. nidulans*, *A. glaucus*, *A. clavatus*, *A. cervinus*, *A. candidus*, *A. flavipes* y *A. ustus*. Esta clasificación se basa en las siguientes características morfológicas del hongo: tamaño y forma de las cabezas conidiales, morfología de los conidióforos, fiálides y métulas, y en la presencia de células de Hülle y de esclerocios (Latgé, 1999).

Las principales puertas de entrada para el *Aspergillus* son el pulmón y los senos paranasales, pero pueden afectar de forma primaria o secundaria otros órganos (Latgé, 1999). La especie de *Aspergillus*, que presentó el nivel más alto de competitividad entre las diferentes especies aisladas de *Aspergillus*, en los muestreos fue *Aspergillus niger*, tabla 4. Además esta especie también presentó pigmentación en el agar así como presencia de exudado, tabla 5. Por esto la capacidad de producir pigmentos por especies de *Aspergillus* les confiere una característica intrínseca biodeteriorante a una gran gama de sustratos, tabla 1.

Las especies que continuaron en nivel de competitividad con un comportamiento patogénico, fueron las especies de *A. fumigatus*, y *A. terreus*, tabla 4. Además de presentar estas dos especies producción de pigmento y exudado, tabla 5. *Aspergillus fumigatus* liberó un pigmento amarillo en el medio de cultivo, con lo cual se menciona en la teoría que este pigmento parecido a la melanina participa en la patogenicidad durante las aspergilosis (Hooget *al.*, 2000). Con respecto a *A. terreus* (anexo A.3), su producción de pigmento es la que le confiere su mayor grado de patogenicidad, como se observa en la tabla 5, produjo un pigmento color ámbar, el cual indica la teoría que este participa en la patogenicidad de esta especie (Robledo, 1991). La especie de *Aspergillus flavus*, que sólo presentó producción de pigmento (amarillo-verdoso) y exudado con un nivel más bajo de patogenicidad, tabla 5. Esta pigmentación de esta especie provoca daños a documentos manchándolos de color café y amarillo, en diversas tonalidades, y que esta es dañina para los documentos (Severo *et al.*, 1997).

Las especies consideradas más patógenas a nivel clínico, son *A. niger* y *A. fumigatus*, según las características antes mencionadas con lo cual también concuerda con la teoría (anexo C.2). Comparando las especies de *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus niger*, esta última tiene conidios más grandes, lo cual hace que sus conidios permanezcan adjuntos al sustrato; por consiguiente su dispersión por el aire y la llegada a los alvéolos le es más difícil. Además a nivel biodeteriorante, *Aspergillus niger* y *Aspergillus fumigatus*, producen melanina, el cual es un pigmento que les confiere resistencia y virulencia, pues evita la lisis enzimática, además de conferir resistencia al calor excesivo en algunos momentos, lo cual podría estar asociado a la L-dihidroxifenilalanina y a la activación del gen *mel* (Rehnstrom *et al.*, 1997).

2. *Cladosporium*

El género *Cladosporium* se encuentra frecuentemente en el aire libre en zonas templadas, encontrándose presente durante todo el año. La especie de *Cladosporium* que presentó un comportamiento más agresivo en relación al crecimiento, presencia de pigmentación y exudado, fue *Cladosporium herbarum* (anexo B.1), tabla 7 y 8. Esta especie es la que predominó en el aire. Y es uno de los hongos más alergénicos respiratorios más importantes y se le ha implicado en casos de asma y fiebre del heno. Aunque se observó la presencia de pigmentación, exudado y un crecimiento alto en competencia, no es un agente infeccioso importante pero, en climas cálidos, puede producir infecciones cutáneas, subcutáneas y queratitis.

X. Conclusiones

1. Se determinó que los géneros predominantes en los muestreos periódicos durante los siete meses fueron *Aspergillus* y *Cladosporium*, en todos los locales.
2. Se observó que la carga fúngica del género *Cladosporium*, fue mayor en el Laboratorio de Alimentos, tanto para el ambiente interior (3010 UFC/m³) como en el exterior (6630 UFC/m³), en mayo.
3. La especie predominante del género *Cladosporium*, fue *C. herbarum*, la cual estuvo presente durante febrero a agosto, así como la que predominó en los todos los locales muestreados, en ambiente exterior e interior.
4. La especie de *Cladosporium*, la cual presentó una mayor agresividad de crecimiento en la competencia de cepas, así como presencia de pigmento y exudado, fue *C. herbarum* lo que se le considera una cepa con más características agresivas.
5. La carga fúngica con respecto a *Aspergillus*, se presentó con mayor concentración en el Laboratorio de Alimentos en el área exterior en mayo (240 UFC/m³), mientras que en el área interior fue en el LAMIR la que presentó la mayor carga fúngica de este género en agosto (574 UFC/m³).
6. El género *Cladosporium*, presentó un comportamiento predominante durante la época seca o de verano, ya que se manifestó en mayor concentración fúngica en febrero a abril, y tuvo una reducción en su concentración en los siguientes meses de muestreo conforme se acercaba la época de invierno.
7. Para las especies del género *Aspergillus*, la que tuvo una mayor aparición fue *Aspergillus niger*, esta predominó en ambos ambientes en todos los locales.

8. Con respecto a *Aspergillus*, la especie que manifestó todas las características patógenas y tuvo una alta tasa de crecimiento con respecto a la competencia entre las diferentes especies, fue *Aspergillus niger*.

9. Otra especie a considerar es *Aspergillus fumigatus* que presentó un comportamiento agresivo. Esta también se registró en segundo lugar de predominancia, esta especie tiene una diseminación más elevada debido al tamaño reducido de sus conidios, comparada con *Aspergillus niger*.

XI. Recomendaciones

1. Realizar más estudios aerobiológicos para lograr establecer la calidad del aire, principalmente en ambientes interiores para así establecer si existe un riesgo de enfermedades o alergias, para el personal que allí labora y también lograr establecer si existe un riesgo de biodeterioro para los objetos presentes en locales.
2. Llevar controles de la temperatura y la humedad relativa de los diferentes locales, a fin de evitar la contaminación fúngica estableciendo esto como medida de prevención.
3. Debido a la facilidad de dispersión de sus conidios y a su pequeño tamaño, *Aspergillus* puede permanecer en suspensión en el ambiente durante un largo período de tiempo, por lo que el hombre se encuentra expuesto constantemente a su inhalación, por lo que se recomienda realizar limpieza periódica de los ambientes interiores así como implementar sistema de aire acondicionado a fin de evitar contaminación interior proveniente del exterior.
4. Es importante continuar con la identificación hasta nivel de especie de estos géneros, ya que es cada vez más importante, porque algunas especies de *Aspergillus* y *Cladosporium* pueden presentar una mayor virulencia y una respuesta distinta a la terapia antifúngica.
5. Llevar un control de las especies que predominan en cada local muestreado para darle continuidad y evaluar que mejoras se deben de realizar para evitar su propagación y deterioro de materiales allí presentes.
6. Implementar un monitoreo sistemático y medidas correctivas para mejorar la calidad del aire en áreas de trabajo.

XII. Referencias

- Alacala L. *et al.* *Aspergillus* y aspergilosis. (1998) Servicio de Microbiología Clínica. Madrid.
- ACGIH.(1989) Guidelines for the assesment of bioaerosols in the indoor environment.USA: AmerConf of GovIndust H Jour. P. 20:110.
- Arango M.; Clavell L. (1992) Microbiología del aire. Manual de métodos generales. 3ª Ed. Venezuela. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. 145-151 y 160-185.
- Beamont F., Kauffman H., Sluitter J., De Vries K. (1985) Sequential sampling of fungal air spores inside and outside the homes of moul-sensitive asthmatic patients: a search for a relationship to obstructive reactions; 55:740-746.
- Bovallius A., Bucht B., Roffy R., Añas P. (1978) Three-year investigation of the natural airborne bacterial flora of four localities in Sweden. Applied and Environ –Microb. 35, 847-852.
- Cabrales C., *et al.* (2001) Estudio aerobiológico en la ciudad de Bucaramanga. Santander, Colombia: Revista científica sobre alergia, asma e inmunología. Colombia: Universidad Industrial de Santander. P.5-9.
- Calderón C., Lacey J., McCartney A. y Rosas I. (1997). Influence of urban climate upon distribution of airborne Deuteromycete spore concentration in México City. Int. J. Biometeorol 40, 71-80.
- Calderón C., Ward E., Freeman J., McCartney A. (2002). Detection of airborne fungal spores sampled by rotating-arm and hirst-type spore traps using polymerase chain reaction assay. Aerosol Sci. 33, 283-296.
- Centro de Micología del Departamento de Microbiología. (1994) Medios de cultivo caseros para la identificación de hongos de interés médico. RevArgMicol. P. 17(3): 26–33.
- Fanger P. (2002) Polución del aire exterior: posibles efectos en la salud. Barcelona, España: Journal Familydoctor.org. 1-10.
- García, M., Uruburu F. (2000) La conservación de cepas microbianas. Actualidad SEM. 2000. P. 6-12.
- Garrett H., Hooper M., Cole M., Hooper A. (1997). Airborne fungal spores in 80 homes in the Latrobe Valley, Australia; level seasonality and indoor-outdoor relationship. Aerobiologia 13, 121-126.
- Gassiot C. *et al.* (2000) Aspergilosis pulmonar: un nuevo enfoque en la reemergencia. Acta Médica. 9(1-2): 67-72.

- Gobernado M. (2001) Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. 1ª Ed. México. 5-1 a 5-12 y 3-4 a 3-5.
- Griffin W. (2004) Terrestrial microorganisms at an altitude of 20000 m in Earth's atmosphere. *Aerobiologia* 20, 135-140.
- Hargreaves M., *et al.* (2003) A pilot investigation into associations between indoor airborne fungal and non-biological particle concentrations in residential houses in Brisbane. Australia. *Science of the Total Environment* 312, 89-101.
- Herrero B., Blanco M. F., González D. F., y Barrera R. M. (1996). Aerobiological study of fungal spores from Palencia (Spain). *Aerobiologia* 12, 27-35.
- Holmberg, K. Citadopor Reponen, T.; Nevalainen, A.; Jantunen, M.; Pellikka, M. and Kalliokoski, P. (1992). Normal range criteria for indoor air bacterial and fungal spores in a subarctic climate. *Indoor Air*, 1987. Vol. 2, P. 26-31.
- Hoog, G. *et al.* (2000) Atlas of Clinical Fungi, 2nd ed, vol. 1. Central bureau Schimmel cultures, Utrecht, The Netherlands.
- Icenhour C. R. y Levetin E. (1997). *Penicillium* and *Aspergillus* species in the habitats of allergy patients in the tulsa, Oklahoma area. *Aerobiologia* 13, 161-166.
- Infante F., Castro A., Domínguez E., Guardiola A., Méndez J., Sabariego S., Vega A. (1999). A comparative study of the incidence of *Cladosporium* conidia in the atmosphere of five Spanish cities. *Polen* 10, 17-25.
- INSIVUMEH. (2008) Parámetros climáticos estación central del INSIVUMEH. Consultado el día 3 de marzo de 2012 de la World Wide Web :<http://www.insivumeh.gob.gt/meteorologia/ESTACIONES/GUATEMALA/INSIVUMEH%20PARAMETROS.htm>
- Kim J., Elfman L., Norback D. (2007) Respiratory symptoms, asthma and allergen levels in schools comparison between Korea and Sweden. *Indoor Air*. 17(2):122-129.
- Klanova, K. (2000) The concentrations of mixed populations of fungi in indoor air: rooms with and without mould problems, rooms with and without health complaints. *Cent Eur Jour Pub Health*. P. 8:59-61.
- Koneman R. (1994) Micología práctica de laboratorio. 3ª Ed. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana. 140-147.
- Larone D. (2002) Medically important fungi "a guide to identification". 4ª Ed. Washington, D.C.:P. 76-78.

- Latgé, J. (1999). *Aspergillusfumigatus* and aspergillosis. *Clinical Microbiology Reviews*; 12(2): 310-350.
- Levetin E., Shaughnessy R. (1997). *Myrothecium*: a new indoor contaminant? *Aerobiologia* 13, 227-234.
- Leytán R. (1991) Aislamiento de *Histoplasma capsulatum* en la avenida Reforma de la ciudad de Guatemala y su comparación con cepas obtenidas de pacientes guatemaltecos. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). P. 1-18.
- Li D., Kendrick B. (1995) Indoor aeromycota in relation to residential characteristics and allergic symptoms. *Mycopathology*. 131, 149-151.
- Logemann H. (1995) Manual práctico de micología médica. 1ª Ed. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. 3-16 ; 95-117 y 203-216.
- Maldigan M, *et al.* (2004) Biología de los microorganismos. 10ª Ed. Madrid, España: Pearson Prentice-Hall. P. 607, 482-483.
- Mahon, C., Manuselis G. (2000) Textbook of Diagnostic Microbiology. 2nd ed. USA: W.B. Saunders Company. P. 205-206.
- Morales Z. (1991) Aislamiento de cepas de *Cryptococcus neoformans* de excretas de palomas de la ciudad de Guatemala y su comparación con cepas obtenidas de pacientes guatemaltecos. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). P. 1-18.
- Miller J., Laflamme A., Sobol Y., Lafontaine P., Greenhalgh R. (1988) Fungi and fungal products in some Canadian houses. *IntBiodeter*. 24: 103-120.
- Morey R., Odgson M., Sorenson W., Kullman G., Rhodes W., Isvesvara G. (1984) Environmental studies in mouldy office buildings biological agents, sources and preventive measures. *Ann ACGJH* 10:21:35.
- Ohgke, H.; Geers, A. & Beckert, J. CitadoporReponen, T.; Nevalainen, A.; Jantunen, M.; Pellikka, M. & Kalliokoski, P. (1992). Normal range criteria for indoor air bacterial and fungal spores in a subarctic climate. *Indoor Air*, 1987 Vol. 2, P. 26-31.
- Oliva P. (2007) Informe anual 2006: Monitoreo del aire en la ciudad de Guatemala. Laboratorio de Monitoreo del Aire. Guatemala: Universidad de San Carlos. P. 25.
- Pasanen, A., *et al.* (1992) Airborne *Cladosporium* and other fungi in damp versus reference residences. USA: Atmospheric Environment, Vol. 26B, No.1. 121-124.

- Peñalva D. (2000) Physiological Involvement in pH Signaling of Vps24-mediated Recruitment of *Aspergillus* PalB Cysteine Protease to ESCRT-III.
- Rapaer K., *et al.* (1998) The genus *Aspergillus*. Tratado de Micología Medica. 3a edic. pp 668-703.
- Rehnstrom, A. *et al.* 1997. The isolation and characterization of melanin deficient mutants of *Moliniafructicola*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 49: 321-330.
- Reponen, T. (1995) Aerodynamic diameters and respiratory deposition estimates of viable fungal particles in mold problems dwellings. USA: Aero Sci and Tech. P. 11-23.
- Rippon J. (2001) Tratado de micología médica. 3ª Ed. México: Interamericana McGraw-Hill. 2001. P. 402-410.
- Rivas F., *et al.* (1988) Estudio de la calidad microbiológica del aire interior de la facultad de ingeniería, evaluación en ambientes laborales: NTP 203. Barcelona, España: INSHT. 1-9
- Robledo, M. (1991). Caracterización taxonómica, distribución y algunos aspectos fisiológicos de *Aspergillus* spp. Que deterioran documentos en el Archivo General de la Nación. Tesis de Maestría. UNAM. México. pp. 106-108.
- Rojas T., *et al.* (2002) Airborne spores of *Aspergillus* species in cultural institutions at Havana University. Cuba: Grana. 25:190-193.
- Rosas I., Calderón C., Martínez L., Ulloa M., Lacey J. (1997). Indoor and outdoor airborne fungal propagule concentrations in México City. *Aerobiologia* 15, 66-73.
- Rosas I., McCartney A., Payne R., Calderón C., Lacey J., Chapela R. (1998). Analysis of the relationships between environmental factors (aeroallergens, air pollution, and weather) and asthma emergency admissions to hospital in México City. *Allergy* 53, 394-401.
- Samson R. *et al.* (1992) Health implications of fungi in indoor environments. 1ª Ed. Barcelona, España: DOYMA. 98-102, 154-156.
- Sarria C. *et al.* (2005) Aspergilosis. Servicio Clínico de Medicina Interna. Madrid.
- Severo, L. *et al.* (1997). Pulmonary *Aspergillus niger* intracavitary colonization. Report of 23 cases a review of literature. *Rev Iberoam Micol*, 14: 104-110.
- Yang C., Hung I., Lewis F., Zampielo F. (1993) Airborne fungal populations in non-residential buildings in the United States. Proceedings of the 6th International Conference on Indoor Air Quality and Climate. 219-224.

XIII. Anexos

A. Especies de *Aspergillus* caracterizadas.

Nota: Imágenes tomadas durante el desarrollo de este proyecto.

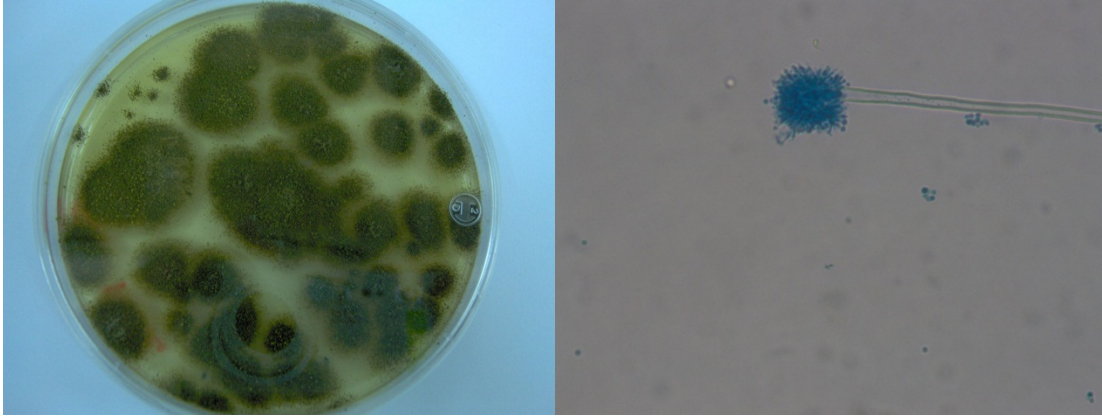
1. Vista macroscópica y microscópica de las especies más predominantes de *Aspergillus*.



Aspergillus niger



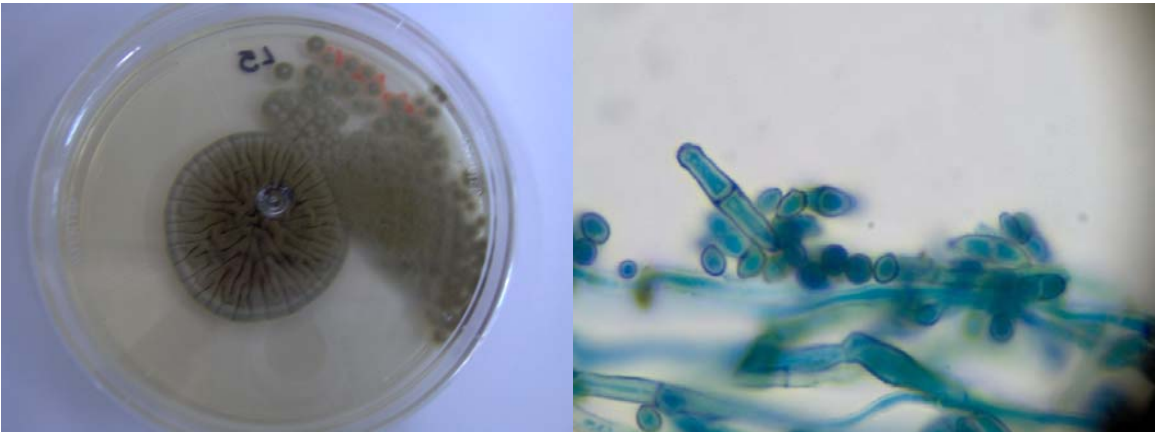
Aspergillus terreus



Aspergillus fumigatus

B. Especies de *Cladosporium* caracterizadas.

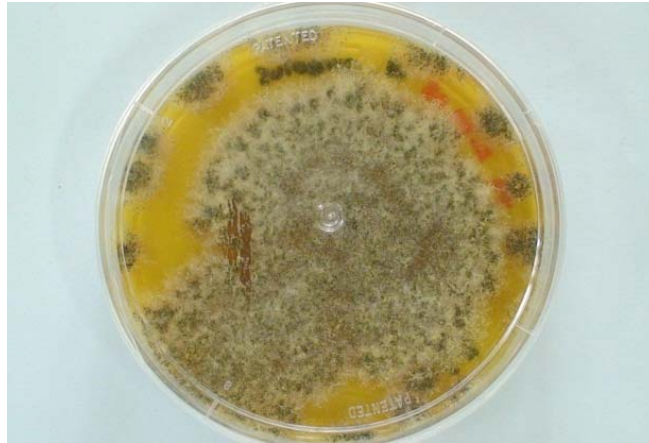
1. Vista macroscópica y microscópica de la especie más predominante de *Cladosporium*.



Cladosporium herbarum

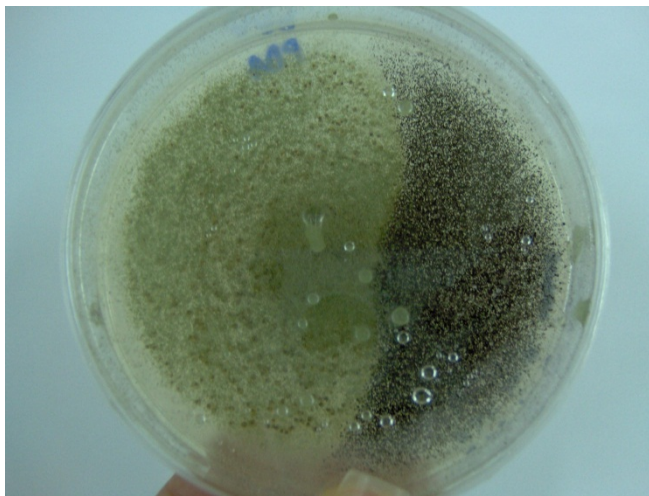
C. Características patógenas de las especies.

1. Producción de pigmento.



Aspergillus aureolus

2. Competitividad.



Aspergillus fumigatus vs *A. niger*

3. Producción de exudado.



Aspergillus versicolor


Alejandro

María Alejandra Marroquín Rosales

Autora


Dra. Karin Larissa Herrera

Asesora


MSc. María Eugenia Paredes
Revisora


MSc. María Eugenia Paredes
Directora


Oscar Cobar Pinto, Ph.D.

Decano