

HONGOS AMBIENTALES EN UNA BIBLIOTECA: UN AÑO DE ESTUDIO

Dante J. Bueno^{*}

Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA)- CONICET.

Julio O. Silva^{**}

Cátedra de Micología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, U.N.T.

Guillermo Oliver^{*a}

Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA)- CONICET.

Resumen: Este artículo analiza los hongos presentes en una biblioteca científica situada en un centro de investigación (el cual trabaja con microorganismos) en Tucumán, Argentina, desde Febrero del 2000 a Enero del 2001. Se identificaron 33 géneros, además de las levaduras y de los hongos clasificados como *Mycelia sterilia* y Basidiomycetes. Los géneros que presentaron la mayor frecuencia fueron *Cladosporium* sp. (30.1%), *Fusarium* sp (8.6%), *Alternaria* sp. (8.4%), *Acremonium* sp. (6.4%) y *Aspergillus* sp. (5.5%). La mayor cantidad de esporas fúngicas fue observada en Octubre y la mínima en Julio. La temperatura estuvo entre 16,5 y 28,5°C. El género *Cladosporium* sp. fue aislado en todos los meses muestreados. Este género predominó en Febrero (19.6%), junto a *Alternaria* sp., Mayo (29.6%), Junio (35.7%), Julio (33.3%), Agosto (40%), septiembre (27.5%) y octubre (51.3%), mientras que *Acremonium* sp. predominó en Marzo (26.5%), *Ceratosporium* sp. en Abril (20.4%) y los Basidiomycetes en Noviembre (17.6%). Además, *Alternaria* sp. fue el más abundante en Diciembre (20%) y Enero (35.9%). A pesar del uso de un muestreo no volumétrico, este estudio provee una información útil sobre la incidencia de los hongos ambientales en la biblioteca testada. Sabiendo que su presencia es incuestionable y difícil de erradicar, son necesarias futuras investigaciones para examinar los efectos de su exposición sobre los problemas de salud relacionados.

Palabras claves: Hongos; ambiente interno; sistema de placa de Petri abierta.

Title: AIRBORNE FUNGI IN A LIBRARY: ONE-YEAR STUDY

Abstract: This article analyzes the fungi present in a scientific library situated in a microorganism research center in Tucuman, Argentina. The analysis was conducted from February, 2000, to January, 2001. Thirty-three fungal genera, various yeasts, and those two fungi classified as *Mycelia sterilia* and Basidiomycetes were identified. The genera *Cladosporium* sp. (30.1%), *Fusarium* sp (8.6%), *Alternaria* sp. (8.4%), *Acremonium* sp. (6.4%) and *Aspergillus* sp. (5.5%) were predominantly isolated. The maximum number of culturable mold propagules was observed in October and the minimum in July. Overall, the temperature was between 16.5 and 28.5°C. The genus *Cladosporium* sp. was found in all months during which sam-

* Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA)- CONICET; Chacabuco 145, 4000, Tucumán, Argentina.

** Cátedra de Micología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, U.N.T., Ayacucho 491, 4000, Tucumán, Argentina.

^a Autor para correspondencia: Dr. Guillermo Oliver, Chacabuco 145, 4000, Tucumán, Argentina, Tel/Fax: (051) (381) 4310465. oliver@cerela.org.ar

pling were gathered. This fungus predominated in February (19.6%) with *Alternaria* sp., May (29.6%), June (35.7%), July (33.3%), August (40%), September (27.5%) and October (51.3%) while *Acremonium* sp. was prominent in March (26.5%), *Ceratosporium* sp. in April (20.4%) and Basidiomycetes in November (17.6%). Furthermore, *Alternaria* sp. was the most abundant in December (20%) and January (35.9%). In spite of the use of a non-volumetric sampler, the study provides useful information on the incidence of airborne fungi in the tested library. As we know that fungal presence is inevitable and difficult to eradicate, future investigations will be needed to examine the effect of human beings' exposure to these levels of fungi.

Keywords: Moulds; indoor air; open Petri dish.

INTRODUCCIÓN

Las esporas fúngicas son componentes normales de ambientes externos. El aire de muchos ambientes internos también contiene esporas. Actualmente, se conoce que el aire presente en los ambientes exteriores puede ser la fuente de esporas fúngicas contaminantes de los ambientes internos. A su vez, muchos de estos últimos pueden servir como sitios de amplificación para el crecimiento de los hongos. Así, cuando se presenta una alta humedad, las esporas pueden germinar y el hongo puede crecer produciendo miles de nuevas esporas que utilizan la materia orgánica de esos sitios¹.

La mayoría de los hongos presentes en los ambientes internos son saprofiticos, porque ellos obtienen lo que necesitan para su metabolismo de materiales muertos, materia orgánica o sustratos como madera, papel, pintura, suelo, polvo, piel y alimentos².

No hay un cierto nivel de los hongos ambientales que puede ser considerado como seguro. Esto depende de la concentración fúngica en los ambientes externos y de los tipos de esporas presentes en el ambiente interno. Cada oficina, cada edificio o cada casa debe ser considerado como un caso separado y único. Generalmente, la concentración fúngica de los ambientes internos es menor que la presente en los externos^{3,4}. Klanova⁵ estableció que la concentración de hongos en ambientes internos por encima de 2.000 UFC/m³ puede ser considerada como un factor de riesgo serio para la salud de los ocupantes.

Muchas esporas fúngicas son alérgicas, con capacidad de producir respuestas alérgicas en individuos susceptibles. Un pequeño grupo de hongos son patógenos y algunos producen micotoxinas, que pueden estar presentes dentro de las esporas y pueden ser inhalados con ellas^{2,6}. De esta manera, las bibliotecas, como un ambiente interno, son lugares aptos

¹ Yang CS, Johanning E. Airborne fungi and mycotoxins. En Manual of Environmental Microbiology. USA: ASM Press, 1997, pp. 651-660.

² Albright DM. Human health effects of airborne mycotoxins exposure in fungi-contaminated indoor environment. Professional Safety: 26-28, 2001.

³ Berlongieri A. Differences in the amount of fungi found in the air indoors and outdoors. J. Introductory Microbiol. 2: 9-11, 1999.

⁴ Burge HA, Pierson DL, Groves TO, Strawn KF, Mishra SK. Dynamic of airborne population in a large office building. Current Microbiol. 40: 10-16, 2000.

⁵ Klanova K. The concentrations of mixed populations of fungi in indoor air: rooms with and without mould problems, rooms with and without health complaints. Cent Eur J Public Health 8: 59-61, 2000.

⁶ Fernández Pinto VE, Vaamonde G. Hongos productores de micotoxinas. Rev. Arg. Microbiol. 28: 147-162, 1996.

para el desarrollo y mantenimiento de estos microorganismos que pueden causar daño sobre los libros y las personas que trabajan y usan la misma.

El objetivo de este artículo fue analizar los hongos presentes en una biblioteca científica situada en un centro de investigación (que trabaja con microorganismos) en Tucumán, Argentina desde Febrero del 2000 hasta Enero del 2001.

MATERIALES Y MÉTODOS

Plan de muestreo

Los estudios fueron realizados en una biblioteca de un centro de investigación (CERELA, Centro de Referencia para Lactobacilos) localizado en Tucumán, provincia ubicada en el noroeste de Argentina. Las muestras fueron colectadas dos veces al mes con 5 placas de petri (90 mm) cada una, desde Febrero del 2000 hasta Enero del 2001.

Métodos de recolección de muestras

Se siguió una técnica no volumétrica para el muestreo del aire, exposición por 10 minutos a las placas de petri abiertas, conteniendo agar papa glucosada con cloranfenicol como antibiótico. Las placas fueron situadas en los estantes, donde estaba presente la mayor concentración de publicaciones periódicas, a 1-1,5 metros de altura. También se midió la temperatura de la sala en cada caso.

Métodos de análisis de muestras

Las placas de Petri expuestas fueron incubadas a 25-28°C durante 7 días y cada colonia fue enumerada e identificada hasta género, según morfología macroscópica y microscópica^{7,8}. Aquellas colonias que no esporularon luego de 30 días de incubación fueron consideradas como "*Mycelia sterilia*"⁹.

Métodos de análisis de datos

El número de esporas (UFC) por placa de petri fue analizado con el test de ANOVA balanceado. Las medias que mostraron diferencias significativas fueron comparadas usando el test de Tukey (Minitab Student R12). Todos los valores de significancia estadística están basados en un nivel de probabilidad de 0,05¹⁰.

⁷ Barnett HL, Hunter BB. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. APS Press, Minnesota, USA, 1998, 218 p.

⁸ Pitt JI, Hocking AD. Fungi and Food spoilage. Second Edition, Blackie Academic and Profesional, London, UK, 1997, 593 p.

⁹ Calvo MA, Guarro J, Suárez G, Ramirez C. Air-borne fungi in Barcelona city (Spain).I. A two-year study (1976-1978). Mycopathologia 71: 89-93, 1980.

¹⁰ Rossman A.J, Chance BL. Workshop Statistics: discovery with data and Minitab. New York, Springer-Verlag: 1998.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción de la biblioteca

La biblioteca de estudio se encuentra emplazada en el primer piso del centro de investigación (CERELA) y ha estado presente allí desde que el mismo fue creado en 1976. La habitación ocupa una superficie de 25 m² y es utilizada especialmente por los trabajadores de ese centro, y diariamente es consultado por docentes, investigadores y estudiantes. En sus comienzos, esta biblioteca recibía 15 diferentes títulos de publicaciones periódicas por año, pero ese número se fue incrementando hasta alcanzar el número de 52 en estos tiempos. En la actualidad, cuenta con 12.890 fascículos de publicaciones periódicas y 1.016 libros. Las publicaciones periódicas ocupan 40 estantes (90x30x198 cm largo, ancho y alto, respectivamente, cada uno) que corresponden a un área de 16 m². La presencia de 2 unidades de aires acondicionados mecánicos provén ventilación, calor y frío. También, hay 6 ventanas que conectan con la parte de afuera (con la calle).

Contajes fúngicos

Se encontraron un total de 652 cepas, a partir de 120 placas de petri, pertenecientes a 33 géneros, levaduras y hongos clasificados como *Mycelia sterilia* y Basidiomycetes, indicando la amplia variedad de hongos ambientales. La mayoría de los hongos ambientales aislados son esporas asexuales perteneciente a la subdivisión Deuteromycotina y a la clase Zygomycetes, al igual que lo encontrado por Yang y col.¹. Los diferentes géneros encontrados fueron *Acremoniella* sp., *Acremonium* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Basipetospora* sp., *Botrytis* sp., *Ceratopodium* sp., *Chaetomium* sp., *Chrysosporium* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Dactylella* sp., *Drechslera* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Geotrichum* sp., *Gonytrichum* sp., *Harpographium* sp., *Helminthosporium* sp., *Humicola* sp., *Monillia* sp., *Neurospora* sp., *Nigrospora* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Scopulariopsis* sp., *Sepedonium* sp., *Sporothrix* sp., *Stemphylium* sp., *Talaromyces* sp., *Tallospora* sp., *Trichocladium* sp. y *Ulocladium* sp. La tabla 1 muestra que el género *Cladosporium* sp. fue el más aislado, representando un 30% del total de las colonias fúngicas, luego *Fusarium* sp. (8,6%), *Alternaria* sp. (8,4%), *Acremonium* sp. (6,4%) *Aspergillus* sp. (5,5%). *Cladosporium* sp. Predominó en Febrero (19,6%), junto a *Alternaria* sp., Mayo (29,6%), Junio (35,7%), julio (33,3%), Agosto (40%), Septiembre (27,5%) y Octubre (51,3%), mientras que *Acremonium* sp. predominó en Marzo (26,5%), *Ceratopodium* sp. en Abril (20,4%) y los Basidiomycetes en Noviembre (17,6%). Además, *Alternaria* sp. fue el más abundante en Diciembre (20%) y Enero (35,9%). Sólo el género *Cladosporium* sp. estuvo presente en todos los meses de muestreo, el resto de los hongos estuvieron ausentes en 3 meses o más (Tabla 2).

La mayor carga fúngica fue observada en octubre (236 cepas, 23,6 por placa de petri) y la menor se presentó en julio (sólo 6 cepas, 0,6 por placa de petri), con una temperatura promedio de 28,5 y 16,5°C, respectivamente (Figura 1). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Ogunlana¹¹, quien encontró que el menor número de colonias en Ibadan, Nigeria, coincidió con el mes de menor temperatura. A su vez, el número de hongos presentes en octubre fue muy diferente al de los otros meses (P<0,05), pero su causa no es

¹¹ Ogunlana EO. Fungal air spora at Ibadan, Nigeria. Appl Microbiol 29: 458-463, 1975.

clara. Además, el número de cepas aisladas fue más alto a temperaturas mayores de 20°C (Figura 1).

No se muestreó el ambiente que circunda a la biblioteca por lo que nuestros datos no se pueden comparar con aquellos. También, las ventanas de la biblioteca son abiertas en algunos momentos con lo que existe la posibilidad que pasen esporas desde afuera, pero si los filtros de los aires acondicionados reciben un buen mantenimiento, ellos pueden remover muchas de las esporas presentes¹². En la biblioteca estudiada la limpieza de los filtros de los aires acondicionados es una actividad poco frecuente, 1-2 veces al año. Por ello, para bajar la carga fúngica, entre otros, se propone aumentar la frecuencia de limpieza de estos equipos.

Se obtienen diferentes resultados cuando se usan diferentes métodos por lo que no es fácil realizar comparaciones. Verhoeff y col.^{13,14} compararon diferentes técnicas (equipo de muestreo Slit-to-agar, N6-Andersen, Sistema Aire Superficie, Reuter Centrifugal, Gelatine Filter y sistema de placas abiertas) para la enumeración e identificación de los hongos ambientales en ambientes internos de casas y encontraron que el equipo de muestreo Slit y N6-Andersen en combinación con DG18 y MEA mostraron la mayor precisión y la mayor producción de UFC/ m³ y número de especies aisladas.

Rodríguez de Kopp y col.¹⁵, usando un equipo de muestreo Sistema Aire Superficie, aislaron *Cladosporium* sp. y *Acremonium* sp. como hongos predominantes en una biblioteca de la Universidad Nacional del Litoral (Santa Fe, Argentina), concordando con nuestros resultados. También, ellos encontraron *Trichoderma* sp., que estuvo ausente en nuestro estudio. Por otro lado, Sneller y col.¹⁶ estudiaron la incidencia de las esporas fúngicas en ambientes internos (casas) de pacientes alérgicos y aislaron *Cladosporium* sp. como el género más común, luego *Mycelia sterilia* y *Penicillium* sp.

La técnica usada presenta algunas limitaciones. El muestreo por gravedad, o por deposición, es un método no cuantitativo en donde el medio agarizado es expuesto al ambiente y los organismos ambientales son colectados principalmente por gravedad. La recolección de microorganismos ambientales por este método está afectada por el tamaño y la forma de las partículas y por el movimiento del aire circundante. Como resultado de ello, las partículas grandes tienen mayor probabilidad de ser depositadas en la superficie de recolección. Esto puede llevar a la tergiversación de la prevalencia de los microorganismos ambientales y a la exclusión de las partículas pequeñas del muestreo. Tampoco, la concen-

¹² Burge HP, Boise JR, Salomon WR., Bandera E. Fungi in libraries: an aerometric survey. *Mycopathologia* 64(2): 67-72, 1977.

¹³ Verhoeff AP, van Wijnen JH, Boleij JS, Brunekreef B, van Reenen ES, Samson RA. Enumeration and identification of airborne viable mould propagules in houses. A field comparison of selected techniques. *Allergy* 45: 275-284, 1990.

¹⁴ Verhoeff AP, van Wijnen JH, Fischer P, Brunekreef B, Boleij JS, van Reenen ES, Samson RA. Presence of viable mould propagules in the indoor air of houses. *Toxicol Ind Health* 6: 133-145, 1990.

¹⁵ Rodríguez de Koop N, Chiericatti C, Basílico MZ, Basílico JC. Estudio de la flora fúngica ambiental de la biblioteca de la Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral. *Rev Arg Micol* 21: 10-13, 1998.

¹⁶ Sneller MR, Roby RR. Incidence of fungal spores at the homes of allergic patients in an agricultural community. I. A 12-month study in and out doors. *Ann. Allergy* 43(4): 225-228, 1979.

tracción de hongos ambientales puede ser determinada por este tipo de muestreo porque el volumen del aire considerado no es conocido¹⁷.

Diferentes factores influyen en la precipitación de partículas de los hongos ambientales en las salas de una biblioteca, como ser: diferentes pisos, modelos de las salas, actividad de la gente, diferentes tiempos de exposición a las placas, humedad, ventilación y polución de los libros¹⁸. En una biblioteca universitaria se encontró que el promedio de precipitación de las partículas fúngicas ambientales fue de 11,7 por placa de petri en 5 minutos¹⁸. Este valor fue mayor al encontrado por nosotros en 10 minutos (5,4 por placa de petri en 10 minutos). A su vez, el tiempo de exposición de 10 minutos demostró ser corto en nuestro estudio, donde el 87,5% de las placas de petri contenían menos de 10 colonias y el 9,5% de ellas presentaron 0 UFC; razonablemente el tiempo de exposición debería haber sido 30 minutos.

En nuestro estudio se aislaron géneros que son reconocidos como agentes oportunistas con comportamiento patógeno en diversos problemas clínicos en humanos: *Acremonium* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Drechslera* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Stemphylium* sp.^{19,20,21,22,23}. Las esporas fúngicas ambientales están presentes de una manera amplia y en mayor concentración que los granos de polen. Los antígenos específicos de inmunoglobulina E (alergenos) de las esporas fúngicas ambientales inducen las reacciones respiratorias (alergia) de hipersensibilidad tipo I en sujetos atópicos sensibilizados, causando rinitis y/o asma²¹. En este trabajo no se examinaron los problemas alérgicos en la biblioteca considerada, pero Gambale y col.²⁴ observaron que los hongos ambientales aislados en las bibliotecas de la Universidad de Sao Paulo, Brasil, están presentes en cualquier parte de la ciudad, pero están en mayor concentración en bibliotecas, produciendo alergias respiratorias. Además, Strachan y col.²⁵ informaron que el grupo heterogéneo de hongos que no esporulan (*mycelia sterilia*) fue el único presente a una concentración significativamente alta en casa de chicos con ronquera. Aunque la asociación con *mycelia sterilia* puede ser un hallazgo casual, estos hongos aislados pueden incluir una potente fuente de alérgeno.

¹⁷ Buttner MP, Willeke K, Grinshpun SA. Sampling and analysis of airborne microorganisms. En: *Manual of Environmental Microbiology*. USA: ASM Press; 1997, pp. 629-640.

¹⁸ Huang M, Guan L, Zhou C, Li D, Ling D. An investigation of precipitation of airborne fungi particles in the rooms of university library. *Human I Ko Ta Hsueh Hsueh Pao* 22: 494-496, 1997.

¹⁹ Anaissie EJ, Bodey GP, Rinaldi MG. Emerging fungal pathogens. *Eur J Clin Microbiol Infec Dis* 8: 323-330, 1989.

²⁰ Cross S. 1997. Mould spores: the unusual suspects in hay fever. *Community Nurse* 3: 25-26.

²¹ Horner WE, Helbling A, Salvaggio JE, Lehrer SB. Fungal allergens. *Clin Microbiol Rev* 8: 161-170, 1995.

²² Vartivarian SE, Anaissie EJ, Bodey GP. Emerging fungal pathogens in immunocompromised patients: classification, diagnosis, and management. *Clin Infect Dis* 17: S487-491, 1993.

²³ Yamamoto GK, Pavan-Langston D, Stowe GC, Albert DM. Fungal invasion of a therapeutic soft contact lens and cornea. *Ann Ophthalmol* 11: 1731-1735, 1979.

²⁴ Gambale W, Croce J, Costa-Manso E, Croce M, Sales M. Library fungi at the University of Sao Paulo and their relationship with respiratory allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 3: 45-50, 1993.

²⁵ Strachan DP, Flannigan B, McCabe EM, McGarry F. Quantification of airborne moulds in the homes of children with and without wheeze. *Thorax* 45: 382-387, 1990.

También, se aislaron hongos con una importante acción celulolítica (*Aspergillus* sp., *Chrysosporium* sp., *Fusarium* sp., *Humicola* sp. y *Penicillium* sp.) que representan un riesgo para las colecciones de revistas y libros presentes^{26,27}.

En conclusión, a pesar de las limitantes de la técnica utilizada, el estudio provee una información útil sobre la incidencia de los hongos ambientales en la biblioteca considerada y su comportamiento mensual, sabiendo que su presencia es incuestionable y de difícil erradicación. Además, son necesarias futuras investigaciones para examinar el efecto de la exposición a estos hongos ambientales sobre los problemas de salud relacionados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la M.Sc. Elena Bru de Labanda por su asistencia técnica. También, se agradece a Nelly y Mabel Taljuk, bibliotecarias de CERELA, por alentarnos a realizar esta investigación. Este trabajo contó con el apoyo de un subsidio de CIUNT (Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Tucumán).

Tabla 1: Incidencia de los hongos más frecuentes encontrados en la biblioteca de CERELA

Hongos	UFC (%)	Mes predominante
<i>Cladosporium</i> sp.	30,1	Febrero (19,6%), Mayo (29,6%), Junio (35,7%), Julio (33,3%), Agosto (40,0%), Septiembre (27,5%), Octubre (51,3%).
<i>Fusarium</i> sp.	8,7	-
<i>Alternaria</i> sp.	8,4	Febrero (19,6%), Diciembre (20,0%), Enero (35,9%).
<i>Acremonium</i> sp.	6,4	Marzo (26,5%)
<i>Aspergillus</i> sp.	5,5	-
<i>Mycelia sterilia</i>	5,1	-
<i>Penicillium</i> sp.	3,8	-
<i>Ceratosporium</i> sp.	3,1	Abril (20,4%)
<i>Nigrospora</i> sp.	2,8	-
<i>Ulocladium</i> sp.	2,3	-

²⁶ Blain JA. Industrial Enzyme Production. En: *The Filamentous Fungi*, vol. 1. UK; 1975, pp 193-211.

²⁷ Davies GJ, Brzozowski AM, Dauter M, Varrot A, Schulein M. Structure and function of *Humicola insolens* family 6 cellulases: structure of the endoglucanase, Cel6B, at 1.6 Å resolution. *Biochem J* 1: 201-207, 2000.

Tabla 2: Lista de hongos aislados con mayor frecuencia, considerando los meses presentes

Hongos	% del total de meses
<i>Cladosporium</i> sp.	100
<i>Acremonium</i> sp.	75
<i>Aspergillus</i> sp.	75
<i>Mycelia sterilia</i>	67
<i>Fusarium</i> sp.	67
<i>Alternaria</i> sp.	58
<i>Penicillium</i> sp.	58
<i>Humicola</i> sp.	50
<i>Nigrospora</i> sp.	42
<i>Sporothrix</i> sp.	42

Figura 1: Contaje fúngico total (■) y temperatura (o) presentes en la biblioteca durante 1 año

