

Carga micológica en áreas ocupacionales de una institución pública de Encarnación.

Villasanti Sánchez, Fátima¹
Tatiana Wieczorko Barán²

Institución: Universidad Nacional de Itapúa

País: Paraguay

Resumen

La OMS considera que un 30% de los edificios nuevos y remodelados de todo el mundo contiene suficientes contaminantes en su interior que pueden incidir negativamente en la salud, entre estos se encuentran los microorganismos como los hongos. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue determinar los géneros fúngicos en ambientes interiores, y su relación con la calidad microbiológica del aire en el entorno laboral. Para ello, primeramente se realizó una descripción general del área de estudio, determinando por duplicado, parámetros y factores ambientales de los puntos de muestreo en dos bloques principales. Posteriormente, se colectaron las muestras aplicando la técnica de sedimentación en placa, acorde al Standard Methods; luego, se procedió a la incubación y recuento de los microorganismos mediante un contador de colonias, expresándose en UFC; los que presentaron morfotipos de colonias patógenas, fueron aislados y caracterizados. Como resultado, se encontraron contaminantes fúngicos en todas las unidades muestrales, destacando las del género *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Curvularia*. Se concluye que los puntos críticos en cuanto a calidad de aire conforme a la carga microbiológica encontrada corresponden a los puntos A3, A1 y B1; en las mismas se observaron sistemas de ventilación escasa, temperatura y humedad elevada.

Palabras claves: hongos, aire interior, carga microbiológica, entorno laboral, patógenos.

¹ Ingeniera ambiental, Profesora Investigadora de la UNI
rosi.villasanti@gmail.com

² Ingeniera ambiental, Profesora Investigadora de la UNI
tatiwbaran@gmail.com

Abstract

According to WHO, 30% of the buildings around the world, new and remodeled, contain enough indoor air pollutants to impact negatively on health, among these microorganisms are fungi. Therefore, the objective of this research was to determine fungal genera in interior air, and their relationship with the microbiological quality of air in work environment. First, was made a general description of the study area, determining in duplicate, parameters and environmental factors of the sampling points in two main blocks. Subsequently, the samples were collected applying the plate sedimentation technique, according to Standard Methods; then, the microorganisms were incubated and counted by a colony counter, expressing in CFU; those who presented morphotypes of pathogenic colonies were isolated and characterized. As a result, fungal contaminants were found in all of the sampling units, highlighting *Cladosporium*, *Curvularia*, *Penicillium* and *Aspergillus* genera. In conclusion, the critical points in terms of air quality according to the microbiological load found, were points A3, A1 and B1; in them, poor ventilation, temperature and high humidity systems were observed.

Keys words: fungi, indoor air, microbiological load, work environment, pathogenic.

Introducción

El conocimiento de partículas y microorganismos en el aire es de larga data. El aire es el medio por el cual se transportan; es así que ya en el siglo XVII las levaduras fueron observadas y descritas por primera vez por el holandés Antonie Van Leeuwenhoek; pero fue Robert Hooke quien ilustró por primera vez la estructura de hongos más complejos, es decir, hongos con micelios. Estos microorganismos fueron vistos gracias al empleo del microscopio, y con estudios e investigaciones posteriores se los ha relacionado como la causa de enfermedades.

En la actualidad, la presencia de estos microorganismos es acrecentada por la existencia de ambientes más favorables para su desarrollo; si bien cabe destacar que el aire no posee una micoflora autóctona; los hongos y otros microorganismos se transportan en el ambiente y su reproducción se ve menos o más favorecida, dependiendo de las condiciones ambientales.

Daza, Martínez y Caro (2015) mencionan que la contaminación del aire interior se ve influenciada por las actividades antropocéntricas, y que esto sucede mayormente en edificios públicos. No es menos importante mencionar que, tanto en edificaciones “sanas”, como en edificios “enfermos” se pueden encontrar hongos en su interior, y que en los primeros es menos frecuente encontrar patógenos fúngicos en comparación a los enfermos, debido a condiciones de humedad elevada (Daza *et al.*, 2015). Asimismo, Bueno, Silva y Oliver (2003), han aislado e identificado 33 géneros de hongos en una biblioteca, aunque no han logrado relacionarlos de manera directa con los síntomas que podrían tener los ocupantes del sitio. Otros estudios realizados en ambientes cerrados han dado como resultado la aparición frecuente de hongos del género *Cladosporium* sp., y *Penicillium* sp.; señalando un aumento en la población de los hongos relacionado al incremento de la temperatura y humedad (Gómez, Zarante, Martínez, Valdivieso, Rubio, Tarazona, *et al.*, 2005). Por otra parte, en el presente trabajo se determinaron los géneros fúngicos en ambientes interiores, y su relación con la calidad microbiológica del aire en el entorno laboral de una institución pública de la ciudad de Encarnación.

Materiales y métodos

Plan de muestreo: Se estableció, mediante caracterización y georreferenciación, 2 bloques de la Institución, correspondientes a Rectorado y Posgrado; los mismos fueron divididos en 3 sectores, A, B y C, pertenecientes a áreas ocupacionales (entre ellas oficinas, salas de reuniones, biblioteca, etc.); estableciéndose 7 unidades de muestreo para el sector A, 8 para el B y 17 para el sector C. Todos los puntos fueron descriptos mediante preguntas realizadas a los funcionarios, a través de una lista de chequeo, considerando algunos parámetros, como el número de personas que trabajan en el lugar, la frecuencia y los elementos de limpieza, y los

equipamientos existentes que favorecen el crecimiento fúngico; por otro lado, se determinaron el área y el volumen utilizando mapas proveídos por la Dirección de Infraestructuras y Obras; la ubicación de cada unidad de estudio se estableció a través de GPS (Sistema de Posicionamiento Global); la humedad en la pared se determinó con un medidor digital específico para ese fin; y los factores ambientales como humedad y temperatura del ambiente, mediante la utilización de un termómetro higrómetro. Así también, en cada punto de muestreo se realizaron observaciones macroscópicas con lámparas UV.

Los resultados de las observaciones y descripciones realizadas se tuvieron en cuenta para la toma de muestras, con el fin de lograr representatividad de las mismas.

La preparación de medios de cultivo y las siembras para la obtención de las colonias puras e identificación de los hongos, fueron realizadas en cabina de flujo laminar del laboratorio de microbiología de la Institución, para garantizar la confiabilidad en la recuperación de los hongos del aire. Se llevaron a cabo controles de esterilidad de medios de cultivo y del ambiente de la cámara de flujo laminar para asegurar el trabajo realizado.

Muestreo del aire: El muestreo se realizó empleando el Método de sedimentación en placas de Petri con el medio de cultivo Agar Sabouraud + cloranficol. Se colocó una placa acondicionada por cada punto de muestreo, y se dejó expuesta al ambiente por 40 minutos, posteriormente se recogieron y trasladaron las muestras hasta la incubadora a 28°C, durante 5 días, para el crecimiento de los microorganismos (Méndez, Camacho y Echeverry, 2015).

Recuento, aislamiento e identificación de hongos: Luego de la incubación se procedió al recuento de los microorganismos fúngicos mediante un contador de colonias. El recuento se expresó en Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por m³ de aire, de acuerdo a la fórmula propuesta por Omeliansky (Bogomolova y Kirtsideli, 2009). Seguidamente se aislaron los morfotipos de colonias más predominantes y se describieron sus apariencias macroscópicas (color, forma, borde, textura, elevación, reverso) y microscópicas (estructuras típicas como hifas, esporas, fiálides, conidios) para proceder a la identificación. Se realizaron repiques para una mejor descripción de aquellos géneros, considerados dentro de la literatura, como posibles patógenos, según la morfología descrita. Finalmente se registraron los resultados obtenidos de las muestras, se comprobaron mediante las pruebas Quick Mold Test, Healthful Home y MoldCheck; y se analizaron para señalar la importancia en el ambiente laboral interno.

Resultados y discusión

Para el caso de estudio, las mayores concentraciones de microorganismos por m³ de aire fueron encontradas en los sectores A y B, del Bloque de Posgrado, como se observan en las figuras 1

y 2, siendo los puntos B1, A1 y A3 los que superan el valor de 500 UFC/m³. En cuanto al Sector C, éste presenta valores mínimos, comparados con los otros sectores, encontrándose por debajo de 160 UFC/m³ de aire.

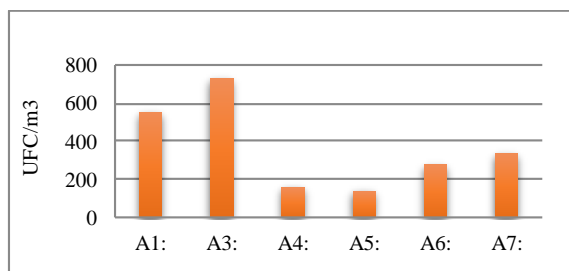


Fig. 1. Concentración de hongos en el Sector A

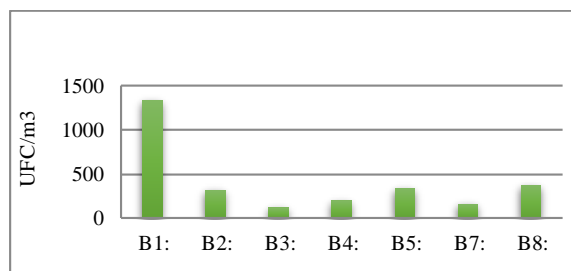


Fig. 2. Concentración de hongos en el Sector B

Según las observaciones realizadas, la temperatura interior correspondiente a los puntos A1 y B1, sobrepasan el promedio de 24°C, no así el A3, que se encuentra por debajo del mismo. La temperatura exterior durante los días de muestreo tuvo un promedio del 28,4°C, mientras que la humedad relativa del aire exterior, un promedio del 55%, según datos de la Dirección Nacional de Aeronáutica Civil. En cuanto a la humedad en la pared, los tres puntos se hallan por encima del 50%, presentándose en el A1 el valor más alto, del 60%. Por otro lado, la limpieza realizada en estos lugares es muy superficial, es decir, no se realiza una limpieza profunda teniendo en cuenta las ventanas y los muebles, generalmente sólo se limpia el piso. En cuanto a la antigüedad, la B1 es la que tiene más de 5 años de construcción, no así los del Sector A, con sólo un año y meses de haberse establecido, dato muy influyente en el resultado obtenido. En estos lugares se hallan varios muebles de madera, arreglos florales, cuadros decorativos, aires acondicionados de techo (A1 y A3) y pared (B1). Las corrientes de aire en estos puntos también son muy escasas, si bien existen ventanas para tal fin, las mismas son muy poco utilizadas. Con relación a las observaciones UV, se encontraron pequeñas colonias en los puntos A1 y A3, en el piso, muebles y paredes, no así en el B1, en el que se observaron colonias de hongos importantes, principalmente en la pared, cerca del aire acondicionado, y sobre muebles de madera.

De esta forma se tuvo en cuenta lo que mencionaron Ricci *et al.* (1996) citado en Rojas *et al.*, 2008, que las concentraciones de esporas fúngicas en ambientes de interior son influenciadas por parámetros ambientales (temperatura, humedad, corrientes de aire, etc.), características del local (sustratos, ventilación, limpieza, etc.), siendo también una variable importante la microbiota predominante en el aire exterior.

Con respecto a los contaminantes fúngicos, se encontraron en todas las unidades muestrales; destaca la diversidad de hongos, resaltando las del género *Cladosporium sp*, *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, y *Curvularia sp*, en orden decreciente de predominancia.

En cuanto al género predominante *Cladosporium*, según la ficha del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT, 2017) en Fichas de agentes biológicos DB-H-C.spp-14, menciona lo siguiente: “*Las esporas se encuentran en forma de bioaerosol en el aire, principalmente a finales de verano y principios de otoño, sobre todo en zonas templadas, siendo un contaminante habitual en los edificios o en los lugares de trabajo*”. Esto indica que la inhalación de las esporas o conidios presentes en el aire que se respira en los ambientes laborales se relaciona con procesos de alergia, infecciones en el sistema respiratorio y de efectos tóxicos. El género *Aspergillus* es uno de los principales hongos productores de micotoxinas. Es un contaminante habitual de los conductos de climatización-ventilación, y las toxinas producidas son consideradas patógenas oportunistas de efecto alérgico, tóxico e infeccioso, sobre todo para los individuos con el sistema inmunológico debilitado.

Por otro lado, el género *Penicillium* es un contaminante habitual en los edificios húmedos y mohosos, principalmente, donde deteriora diferentes materiales de construcción o decoración; sus esporas se encuentran en forma de bioaerosol en el aire. Además, es uno de los principales productores de micotoxinas y de compuestos orgánicos volátiles de origen microbiano, según Fichas de agentes biológicos DB-H-C.spp-16 del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT, 2016).

Mientras que los integrantes del género *Curvularia* son hongos filamentosos dematiaceos, la mayor parte de las cuales se comportan como patógenos oportunistas, tanto en el hombre como en los animales, aunque también afectan plantas y cereales en las regiones tropicales y subtropicales del planeta.

En cuanto a los valores límites todavía está en discusión en la literatura científica, basado en el principal argumento de que las respuestas individuales de los organismos a los bioaerosoles varían desde efectos inocuos hasta enfermedades graves, esto dependería de los factores de susceptibilidad de cada persona. Lo anterior no implica sin embargo que los géneros encontrados en esta institución no estén catalogados de acuerdo a las fichas oficiales como patógenos, alérgenos, y en la mayoría de los casos tóxicos.

De los hongos que fueron cultivados y repicados, algunas muestras fueron sometidas a test de levaduras y toxicidad, con tres métodos diferentes, Quick Mold Test, Healthful Home y MoldCheck. Estos procedimientos están estandarizados y validados, y se utilizan en EEUU para medir la calidad microbiológica del aire interior.

Según el Quick Mold Test aplicado para el género *Curvularia*, dio resultado positivo para tóxico- alérgico, detecta las proteínas microscópicas asociadas con el crecimiento del moho y los alérgenos relacionados que reaccionan con los reactivos cambiando de color. Además indica esporas vivas (viables), esto es importante destacar ya que las esporas se pueden desprender fácilmente y transportar al aire. Pueden provocar alergias y enfermedades que a menudo son el resultado de las micotoxinas presentes en el aire, sin embargo sería recomendable realizar estudios con mayor precisión para poder evaluar efectivamente el daño a la salud de los ocupantes de dicho sector.

En cuanto a Healthful Home, ésta se basa en la misma tecnología comprobada de ensayo de flujo lateral empleada en laboratorios médicos, validado en un laboratorio ambiental acreditado por AIHA y con licencia de EPA (Environmental Protection Agency), como las pruebas rápidas más precisas disponibles y 100 veces más sensibles. Ésta dio resultado negativo para los géneros de *Penicillium*, *Aspergillus* y *Cladosporium sp*, lo que significa que estos géneros no corresponderían a especies patógenas, o en su caso, no estaban en período de esporulación al tomar la muestra. Por ello, sería recomendable realizar directamente el test en superficie, en próximos estudios. Para las pruebas con el Mold Chek, sólo se identificó la presencia de levaduras, no así del género tóxico *Stachybotrys*, de acuerdo a la lectura de las características establecidas en el procedimiento.

Conclusión

Los microorganismos fúngicos presentes en mayor cantidad en ambientes interiores corresponden a los géneros de *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Curvularia*, en concentraciones elevadas, por encima de 10 UFC/m³, variando desde 20 UFC/m³ como mínima, hasta un máximo de más de 1300 UFC/m³, de acuerdo a las mediciones efectuadas de cada unidad de muestreo, y teniendo en cuenta las características: pigmentación, presencia de hifas aéreas, zonación o plegamientos, tamaño y textura. A estos géneros asociados se les relaciona con producción de toxinas potencialmente dañinas y se encuentran asociadas especialmente en personas inmunocomprometidas. Se concluye que los puntos críticos en cuanto a calidad de aire conforme a la carga microbiológica encontrada corresponden a los puntos A1, A3 y B1. No obstante, es importante considerar que se encontraron hongos en el 100% de las muestras. Se observaron algunas características tales como sistemas de ventilación escasa, temperatura interior elevada y humedad tanto en aire como en pared, que pueden favorecer el crecimiento. Comparado con otros valores promedios de UFC/m³ obtenidos de diferentes métodos de muestreo, se ha visto que el sistema volumétrico se muestra mucho más

eficaz, ya que recoge prácticamente el doble de unidades formadoras de colonias (Rojas *et al.*, 2008), lo que indica que probablemente la cantidad presente en el ambiente interior de esta unidad de estudio sea mucho mayor.

Referencias Bibliográficas

- Bogomolova E., Kirtsideli I. (2009). *Airborne fungi in four stations of the St. Petersburg Underground rail system*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63 (2), 156-160.
- Borrego, S., Perdomo, I. (2014). *Caracterización de la microbiota aérea en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 31 (3), 182-187.
- Bueno, D., Silva, J. y Oliver, G. (2003). *Hongos ambientales en una biblioteca: Un año de estudio*. *Anales de documentación*, N° 6, 27-34.
- Charaya, R., Naruka, K. (2016). *Study on Distribution of Airborne Fungi in a University Building*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5 (4), 393-404. ISSN: 2319-7706.
- Daza Pérez, M., Martínez Benavides, D. X., y Caro Hernández, P. (2015). *Contaminación microbiológica del aire al interior y el síndrome del edificio enfermo*. *Biociencias*, 10(2), 37 - 50. <https://doi.org/10.18041/2390-0512/bioc.2.2641>
- Gómez, A., Zarante, I., Martínez, J., Valdivieso, M., Rubio, L., Tarazona, G., y Sánchez-Medina, M. (2005). *Evaluación de alérgenos presentes en polvo y ambiente de algunas bibliotecas de Bogotá, D.C*. *Universitas Médica*, 46 (1), 13-20.
- Herrera, K., Cobar, O., De León, J., Rodas, A., Boburg, S., Quan, J., Pernilla, L., Mancilla, C., y Gudiel, H. (2012). *Impacto de la calidad microbiológica del aire externo en el ambiente interno en la salud del personal de cuatro laboratorios de instituciones públicas en la ciudad de Guatemala y Bárcenas Villa Nueva*. *Revista Científica*, 22 (1), 30-38.
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). [en línea]. Fichas de agentes biológicos. 2016. España. [Consulta: 10 de julio 2018]. Disponible en: <http://www.insht.es>
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). [en línea]. Fichas de agentes biológicos. 2017. España. [Consulta: 10 de julio 2018]. Disponible en: <http://www.insht.es>

- Konya T., Scott J. (2014). *Recent Advances in the Microbiology of the Built Environment*. Current Sustainable / Renewable Energy Reports, 1 (2), 35-42. ISSN: 2196-3010.
- Méndez, C., Camacho, J. y Echeverry, S. (2015). *Identificación de bacterias y hongos en el aire de Neiva, Colombia*. Rev. Salud pública, 17 (5), 728-737.
- Ortiz, G., y Catalán, V. (2007). *Gestión práctica de riesgos laborales: Integración y desarrollo de la gestión de la prevención*. (40): 26-31. ISSN 1698-6881.
- Rojas, T. I., Martínez, E., Aira, M. J., & Almaguer, M. (2008). AEROMICOTA DE AMBIENTES INTERNOS: COMPARACION DE METODOS DE MUESTREO. 23, 67-73. Cuba.
- Sánchez, K. y Almaguer, M. (2014). *Aeromicología y salud humana*. Revista Cubana de Medicina Tropical, 66 (3), 322-337. ISSN 0375-0760.
- Standard Methods. (1995) American Public Health Association. Washington, D.C.
- Tangarife, V. (2011). [en línea]. *Micosis subcutáneas*. Plataforma académica para pregrado y posgrado, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. [Consulta: 26 de junio 2018]. Disponible en: <http://aprendeonline.udea.edu.co>
- Tapia, C. (2009). *Género Trichosporon*. RevChilInfect, 26 (3), 263-264.
- Tolosa, D. y Lizarazo, L. (2013). *Calidad microbiológica del ambiente de la Biblioteca Alfonso Patiño Rosselli, Tunjaboyacá (Colombia)*. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 16 (1), 43-52.