



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
INSTITUTO DE CIENCIAS
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS
MICROBIOLÓGICAS

DETERMINACIÓN DE BIOAEROSOLES FÚNGICOS EN UN EDIFICIO EDUCATIVO DE NIVEL SUPERIOR EN LA CIUDAD DE PUEBLA.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN QUIMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A:

MENA VIVEROS ESTHER

DIRECTOR DE TESIS:

D.C. RICARDO MUNGUÍA PERÉZ

ASERSORA DE TESIS:

M.C. EDITH DÍAZ CABRERA

H. PUEBLA DE ZARAGOZA, OCTUBRE 2019

AGRADECIMIENTOS

Agradezco...

... A Dios por brindarme una vida llena de aprendizajes y por permitirme disfrutar uno más de mis logros.

... A mis padres, a ustedes quienes con tanto esfuerzo y sacrificio me han dado la oportunidad de estudiar, siempre les estaré agradecida. Gracias por creer en mí y en mis sueños, por el apoyo en cada decisión, por no dejar que me rinda y por todo el amor incondicional, esto también es de ustedes.

... A mis hermanos, por su compañía, por su apoyo, por la ayuda con mis tareas y por llenar mi vida de alegría.

... Al D.C. Ricardo Munguía Pérez por permitirme realizar este trabajo bajo su dirección y sus conocimientos, por sus enseñanzas, por abrirme las puertas del laboratorio de micología y por confiar en mi capacidad.

... A la M. C. Edith Diaz Cabrera por el apoyo brindado en mi investigación y paciencia para resolver mis dudas.

... A mis amigos quienes confían y creen en mí, porque aún en momentos de desesperación me alentaron a seguir adelante.

... A todas aquellas personas que fueron partícipes de esta meta.

Gracias.

RESUMEN

La contaminación del aire interior es uno de los principales riesgos de salud pública, ya que los contaminantes presentes en el aire penetran al organismo por vías respiratorias. Los contaminantes biológicos o también llamados bioaerosoles son los principales causantes de enfermedades en ambientes interiores, es por ello que con esta investigación se pretendió evidenciar y cuantificar la presencia de bioaerosoles fúngicos que afectan la calidad de aire interior de un edificio educativo, así mismo identificar aquellos hongos causantes de algún tipo de enfermedad en el ser humano. Utilizando un impactador multiorificio se tomaron muestras de aire de puntos seleccionados dentro del edificio FCQ9 de la Facultad de Ciencias Químicas-BUAP, en el cual el 70% de la contaminación del aire se debe a la presencia de hongos filamentosos en su mayoría alérgenos. Debido a la naturaleza de los contaminantes y a los posibles síntomas que éstos pueden causar en la salud de los ocupantes del edificio se realizó una encuesta, la cual reveló que más del 50% de la población presenta algún tipo de sintomatología relacionada a una mala calidad de aire interior.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	2
RESUMEN.....	3
ÍNDICE DE FIGURAS	6
ÍNDICE DE TABLAS	7
ÍNDICE DE GRÁFICOS	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. MARCO TEÓRICO.....	11
2.1. Contaminantes de aire interior	12
2.2. Bioaerosoles fúngicos	17
2.3. Normativas para la calidad de aire interior	19
2.4. Muestreo de contaminantes biológicos en aire.....	21
2.5. Tipos de muestreo.	22
3. MARCO DE REFERENCIA	24
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	27
5. JUSTIFICACIÓN.....	28
6. OBJETIVOS	29
6.1. General	29
6.2. Específicos	29
7. HIPÓTESIS.....	30
8. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	31
9. MATERIALES Y MÉTODOS	33
9.1 Materiales	33
9.2. Metodología	34
9.2.1 Inspección interior del edificio.....	34
9.2.2 Puntos de muestreo.....	34
9.2.3 Muestreo.....	37
9.2.4 Aislamiento	38
9.2.5 Identificación.....	38
10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
10.1 Inspección al interior del edificio.....	41
10.2 Muestreo de bioaerosoles fúngicos.	42
10.3 Recuento de bioaerosoles fúngicos.	43

10.4 Identificación de géneros fúngicos aislados.....	45
10.5 Resultados de cuestionarios aplicados	55
11. CONCLUSIONES	65
12. BIBLIOGRAFÍA.....	66
13. ANEXOS.....	70
13.1 Anexo A. Siembra de microcultivos	70
13.2 Anexo B. Cuestionario simplificado	71
13.3 Anexo C. ANOVA de un solo factor.	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP	31
Figura 2. Impactador multiorificio M Air T.....	33
Figura 3. Diagrama esquemático del laboratorio de microbiología del edificio FCQ9	34
Figura 4. Diagrama esquemático del baño de mujeres del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas - BUAP	35
Figura 5. Diagrama esquemático del salón 208 ubicado en el edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP.....	35
Figura 6. Diagrama esquemático del Segundo piso del edificio FCQ 9 de la facultad de Ciencias Químicas – BUAP.....	36
Figura 7. Diagrama esquemático del Salón de Usos Múltiples en el edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas-BUAP.....	37
Figura 8. Diagrama de flujo: metodología para el muestreo y procesamiento de muestras de aire. 40	
Figura 9. Inspección en áreas del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP	42
Figura 10. Microfotografías de las principales generos aislados de muestras de aire del edificio FCQ9	46
Figura 11. Principal agente contaminante presente en el laboratorio de microbiología	48
Figura 12. Hongo aislado de muestras de aire del salón 208..	49
Figura 13. A) Colonia de <i>Aspergillus terreus</i> en agar dextrosa Sabouraud, B) Cabeza aspergilar de <i>Aspergillus terreus</i> (vista a 40x, tinción azul de algodón de lactofenol).....	50
Figura 14. Cultivo y cabezas aspergilares de <i>Aspergillus fumigatus</i>	52
Figura 15. A) Cultivo de <i>Aspergillus flavus</i> en agar dextrosa Sabouraud B) cabezas aspergilares de <i>Aspergillus flavus</i> (vistas a 40x, tinción azul de algodón de lactofenol)	53
Figura 16. Otros géneros aislados de muestras de aire del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas.	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de estudios realizados sobre bioaerosoles fúngicos, con énfasis en lugar de estudio, método de muestreo y resultados obtenidos.	24
Tabla 2. Temperatura registrada de las áreas durante el muestreo del edificio FCQ9.....	42
Tabla 3. Número de colonias obtenidas por puntos en el área muestreada del edificio FCQ9	43
Tabla 4. Conteo total de UFC/m ³ de aire en áreas muestreadas del edificio FCQ9 de la Facultad de Ciencias Químicas- BUAP.....	44
Tabla 5. Porcentaje de géneros aislados de muestras de aire del edificio FCQ9.....	45
Tabla 6. Porcentaje de hongos por género y especie aislados de muestras de aire en el laboratorio de Microbiología del edificio FCQ9	47
Tabla 7. Bioaerosoles fúngicos aislados del salón 208 del edificio FCQ9 de la Facultad de Ciencias Químicas	49
Tabla 8. Especies de hongos del género <i>Aspergillus</i> aisladas de muestras de aire en el baño de mujeres del edificio FCQ9	50
Tabla 9. Principales hongos aislados de muestras de aire del salón de usos múltiples en el edificio FCQ9	51
Tabla 10. Hongos aislados del Segundo piso del edificio FCQ9 en la facultad de Ciencias Químicas- BUAP.	53
Tabla 11. Principales enfermedades de hipersensibilidad causadas por bioaerosoles fúngicos en ambientes interiores	55
Tabla 12. Horas al día dentro del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP	56
Tabla 13. Porcentaje de ocupantes con síntomas positivos relacionados a su permanencia en el edificio FCQ9.....	57

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfica 1. Géneros de hongos filamentosos aislados de muestras de aire del edificio FCQ9.	45
Gráfica 2. Porcentaje de especies de hongos aislados de muestras de aire en el laboratorio de microbiología del edificio FCQ9.....	47
Gráfica 3. Porcentaje de hongos aislados de muestras de aire en el salón 208, edificio FCQ9.	49
Gráfica 4. Porcentaje de hongos del género <i>Aspergillus</i> aislados de muestras de aire en el baño de mujeres del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas-BUAP	50
Gráfica 5. Hongos identificados en el salón de usos múltiples del edificio FCQ9, <i>Aspergillus fumigatus</i> aislado en un 42.86 %	51
Gráfica 6. Porcentaje de especies aisladas en el segundo piso del edificio FCQ9. Principal contaminante <i>Aspergillus flavus</i> (42.86%).....	53
Gráfica 7. Porcentaje de horas al día dentro del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP	56
Gráfica 8. Porcentaje de ocupantes con síntomas oculares dentro del edificio FCQ9 de la Facultad de Ciencias Químicas- BUAP	58
Gráfica 9. Porcentaje de ocupantes con síntomas nasales dentro del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP.	59
Gráfica 10. Porcentaje de ocupantes con síntomas como sequedad, dolor y escozor en garganta dentro del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas.....	60
Gráfica 11. Porcentaje de ocupantes con trastornos respiratorios durante su estancia en el edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP.....	61
Gráfica 12. Porcentaje de ocupantes con trastornos cutáneos durante su permanencia en el edificio FCQ9 de la Facultad de Ciencias Químicas- BUAP.....	63

1. INTRODUCCIÓN

Más del 90% de nuestro tiempo lo pasamos en interiores, por lo tanto, nuestra exposición a los contaminantes ambientales tiene lugar en los espacios cerrados, y de acuerdo a la Agencia de Protección Ambiental y la Organización Mundial de la Salud, la contaminación del aire es uno de los principales riesgos de salud pública. Los contaminantes presentes en el aire interior suelen ser de origen variado, pues además de su origen atmosférico, también son generados por los materiales de construcción y por las actividades llevadas a cabo dentro del edificio. En un edificio, el aire interior no debe contener contaminantes en concentraciones superiores a las perjudiciales a la salud, por lo general estos contaminantes penetran al organismo por inhalación afectando principalmente vías respiratorias.

Los contaminantes biológicos o bioaerosoles, son partículas de tamaño microscópico que se encuentran suspendidas en el aire, mismas que pueden causar algún tipo de toxicidad, alergia o infección, dentro de este grupo se incluyen microorganismos patógenos y no patógenos, fragmentos y estructuras de microorganismos, sustancias tóxicas y alérgenos. Desde 1879, el aerobiólogo francés Pierre Miquel inició sus estudios sobre los microorganismos del aire en ambientes exteriores e interiores, pero fue hasta 1882 cuando se determinó que la influencia de factores como la humedad, la temperatura, la altitud y las corrientes de aire influían en la concentración de microorganismos.

La dispersión de muchos microorganismos se lleva a cabo principalmente a través de los movimientos del aire, el número de microorganismos en el aire varía según la altura obteniéndose el más alto junto al suelo, del mismo modo el número de microorganismos dependerá de la zona, las actividades que ahí se realicen y de la cantidad de polvo. El tiempo que un microorganismo permanece en el aire dependerá de la forma, tamaño y peso de éste, así como también de las corrientes de aire que lo sostengan y eleven.

Un gran número de infecciones se transmiten por medio del aire afectando principalmente el aparato respiratorio, estas infecciones son de importancia socio-económica, debido a que son causantes de ausentismo laboral por su fácil transmisión a través de las actividades que se realizan normalmente.

Cabe mencionar que aún no se cuenta con la suficiente evidencia científica para conocer con exactitud los daños que pueden ocasionar los bioaerosoles en la salud, ya que los niveles de contaminantes determinados en estudios realizados en ambientes interiores suelen estar por debajo de los niveles permisibles, pero el análisis de la calidad del aire es recomendable para obtener información sobre los microorganismos presentes en los bioaerosoles y sus posibles daños a la salud.

2. MARCO TEÓRICO

La calidad de aire interior se refiere a la calidad de aire dentro y alrededor de un edificio o estructura, mismo que se relaciona con la salud y comodidad de los ocupantes del mismo, los efectos en la salud causados por los contaminantes del aire pueden experimentarse después de la exposición, incluso años más tarde [1].

El término “Calidad de aire interior” se aplica a ambientes interiores no industriales, como los edificios públicos en los que se engloban escuelas, restaurantes, hospitales, comercios, oficinas y el hogar. La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Agencia de Protección Ambiental (EPA) afirman que en las ciudades se pasa más del 80 al 90% del tiempo en diferentes espacios cerrados y que la contaminación del aire interior es uno de los principales riesgos de salud pública, siendo una de las principales causas de muerte las enfermedades derivadas de una exposición prolongada a dicho ambiente.

En los últimos años el término “calidad del aire interior” ha cobrado gran importancia al asociarse al término “Síndrome del edificio enfermo”, el cual comprende un conjunto de síntomas diversos que presentan los individuos que habitan o laboran en dicho edificio. El aire interior alberga una gran cantidad de contaminantes, por lo tanto, es difícil asociar los efectos adversos en la salud con un contaminante en concreto. Los cambios en el estado de salud de una persona debido a la mala calidad del aire interior, pueden manifestarse en síntomas agudos o crónicos, así como en enfermedades específicas, causando malestar, estrés y pérdida de productividad.

La OMS diferencia entre dos tipos de síndrome de edificio enfermo, en el primero se presentan los edificios temporalmente enfermos, en los cuales se incluyen los edificios nuevos o recién remodelados donde los síntomas disminuyen y desaparecen con el tiempo al tomar las medidas pertinentes, mientras que en el segundo se incluyen los edificios permanentemente enfermos, donde los síntomas persisten durante años a pesar de tomar medidas para solucionar el problema.

Normalmente, ningún edificio debe considerarse permanentemente enfermo, sin embargo, según la OMS, presentan una serie de características en común:

1. Tienen un sistema de ventilación forzada, generalmente para todo el edificio o sectores amplios.
2. Son de construcción ligera y poco costosa.
3. Las superficies como suelos y paredes se encuentran recubiertas de material textil.
4. Ahorran energía y presentan un ambiente térmico homogéneo para mantenerse calientes.
5. Se caracterizan por ser edificios herméticos en los que no se pueden abrir las ventanas.

Un edificio es considerado enfermo cuando más del 20% de sus ocupantes presentan sintomatología, en ocasiones estos problemas aparecen cuando el edificio es utilizado en actividades para las cuales no fue diseñado o simplemente se debe a un mal diseño en la construcción [2].

2.1. Contaminantes de aire interior

El aire interior presenta características que lo diferencian del aire exterior, pues los contaminantes presentes en este no solo son de origen atmosférico si no, también son generados por los materiales de construcción y por las actividades llevadas a cabo dentro del edificio. Por tal motivo, el número de contaminantes presentes en el aire interior suele ser amplio y variado, lo cual se debe a las condiciones atmosféricas, el tipo de edificio, su ventilación y las actividades desarrolladas dentro del mismo. Los ocupantes de un edificio también son considerados una fuente de contaminación, ya que el ser humano de manera natural produce dióxido de carbono (CO₂), vapor de agua, partículas e incluso aerosoles biológicos. Del mismo modo el uso de productos de limpieza y mantenimiento generan la presencia de contaminantes en el edificio [3].

El aire interior contiene una variedad de sustancias contaminantes que se pueden clasificar de acuerdo a su naturaleza orgánica e inorgánica, a su origen biológico o como una mezcla de varios contaminantes [4].

En un edificio, el aire interior no debe contener contaminantes en concentraciones superiores a las perjudiciales a la salud, en estos contaminantes deben incluirse aquellos que provienen del aire exterior que entran al edificio y los contaminantes generados por las actividades realizadas, el mobiliario y los materiales de construcción.

Generalmente los contaminantes presentes en el aire penetran al organismo por inhalación afectando principalmente vías respiratorias altas y algunos son absorbidos pudiéndose acumular en tejidos y órganos.

De acuerdo al Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST) los contaminantes del aire interior se clasifican en 2 grupos, los contaminantes químicos y los contaminantes biológicos, los cuales se explican a continuación [3, 5]:

1. Contaminantes químicos.

- Productos de combustión.

Un cierto número de contaminantes químicos se debe a los productos procedentes de la utilización de estufas, refrigeradores y secadoras, aunque algunos de estos contaminantes provienen del aire exterior. Algunos productos de combustión encontrados con frecuencia son: El CO₂ cuya principal fuente de contaminación es la respiración humana, el monóxido de carbono (CO) principalmente proviene del exterior y el humo de tabaco que libera más de 3000 contaminantes y cuyas partículas presentan un diámetro $\leq 7 \mu\text{m}$, por lo tanto, su tamaño se encuentra dentro del intervalo de partículas que pueden penetrar al tracto respiratorio [2].

- Materiales de construcción.

Dentro de este grupo se encuentran incluidos los materiales utilizados como aislantes térmicos, además de los empleados en instalaciones térmicas. Las fibras de vidrio y los asbestos que son componentes del material de aislamiento, también son considerados como una fuente importante de contaminación.

Los compuestos volátiles como el formaldehído y los disolventes presentes en aislantes térmicos y barnices provenientes de la decoración del edificio, que debido a su degradación con el tiempo se encuentran en el aire pudiendo ocasionar irritaciones en vías respiratorias, algunas alergias y en algunos casos pueden llegar a ser cancerígenos.

- Productos de consumo.

Los ocupantes de un edificio son considerados una de las principales fuentes de emisión de este tipo de contaminantes, ya que la presencia de los productos de consumo en el aire interior se debe al uso de cosméticos, desodorantes, jabones, repelentes y fibras textiles, así como también pinturas, productos de limpieza y pesticidas que pueden acumularse en el polvo [3].

Las partículas respirables son consideradas como irritantes de vías respiratorias, principalmente en aquellos que padecen asma. Las partículas que comprenden un tamaño mayor a las 3 μm incluyen fibras de alfombras, escamas de piel y algunas otras que son transportadas del exterior, a menudo las concentraciones al interior del edificio son mayores que las se encuentran en el aire exterior.

- **Otros contaminantes.**

Dentro de este grupo se incluye al ozono (O_3) gas que principalmente procede del exterior y que en el interior del edificio es producido principalmente por fotocopiadoras, lámparas y purificadores de aire, los compuestos metálicos en el aire interior también se consideran importantes contaminantes y su presencia se relaciona a la corrosión del metal con el que están contruidos los ductos de aire acondicionado [3].

2. Contaminantes biológicos.

Este tipo de contaminantes son también llamados bioaerosoles, que son partículas de tamaño microscópico de origen biológico, que se encuentran suspendidas en el aire, mismas que pueden causar algún tipo de toxicidad, alergia o infección en el ser humano. Los bioaerosoles están contruidos por virus, bacterias, esporas y polen con un diámetro aerodinámico entre 0.5 a 100 μm [6].

De acuerdo a la definición de la Conferencia Gubernamental Americana de Higienistas Industriales (ACGIH), los bioaerosoles comprenden microorganismos patógenos y no patógenos, microorganismos cultivables y no cultivables, microorganismos muertos, fragmentos y estructuras de microorganismos como hifas o esporas fúngicas, sustancias tóxicas y alérgenos como el polen o derivados de animales, endotoxinas, micotoxinas y β 1-3 glucanos.

Dentro del grupo de los contaminantes biológicos se deben incluir aquellos que han sufrido alguna manipulación genética, del mismo modo los cultivos celulares y endoparásitos humanos. Los aerosoles biológicos de importancia para la salud, varían desde polen hasta bacterias, hongos, protozoos y algunos helmintos, del mismo modo se incluyen alérgenos que pueden ser transmitidos de persona a persona. Estos se clasifican en tres grupos distintos que se explican a continuación:

- **Agentes infecciosos.**

En un ambiente cerrado, existe mayor probabilidad de que se transmita una enfermedad infecciosa debido a que el volumen de aire en este ambiente es menor que en el exterior, por lo tanto, el número de microorganismos será alto, el contacto y tiempo en el que un individuo pasa dentro un ambiente cerrado, es mayor. Muchas enfermedades contagiosas requieren de contacto directo para su transmisión, algunas otras como la gripe, el sarampión y el resfriado común requieren del aire para transmitirse, algunas otras enfermedades requieren de reservorios como la legionelosis, neumonías bacterianas y muchas enfermedades causadas por hongos. A continuación, se explican algunos de los principales agentes infecciosos presentes en el aire:

A. Virus.

Están constituidos principalmente por material genético: Ácido Desoxirribonucleico (ADN) o Ácido Ribonucleico (ARN), que se encuentra cubierto por una cápside. Son considerados parásitos obligados debido a que necesitan de una célula huésped para reproducirse. Virus como los *Rhinovirus*, y el virus de la influenza pueden transmitirse por aire causando enfermedades que afectan principalmente vías respiratorias altas, aunque algunos otros afectan principalmente tejidos, como el virus del Sarampión.

B. Bacterias.

A diferencia de los virus éstas no necesitan de una célula huésped para completar su desarrollo, son capaces de sobrevivir en el medio y muchas de estas bacterias son patógenas para el hombre. Algunas bacterias tienen la capacidad de producir esporas para resistir a condiciones extremas de temperatura y ambiente, y así conservar su capacidad infectiva al entrar en contacto con el medio y condiciones adecuadas para su desarrollo. Existen numerosas enfermedades respiratorias causadas por bacterias, como: meningitis, sinusitis, neumonía y otras infecciones causadas por *Streptococcus pneumoniae*, tosferina por *Bordetella pertussis*, tuberculosis causada por *Mycobacterium tuberculosis* y legionelosis una neumonía bacteriana causada por *Legionella pneumophila*, algunas otras como *Chlamydomphila psittaci*, proceden de bioaerosoles generados por animales.

C. Helmintos y protozoos

Estos microorganismos presentan ciclos de vida complejos, ya que presentan diversas fases en su desarrollo, además de que necesitan de diferentes huéspedes ya sean animales o el hombre y su forma de transmisión es de un huésped a otro o mediante vectores como roedores, insectos, el agua o los alimentos a los que pueden llegar mediante el aire.

D. Artrópodos

Son organismos con ciclos vitales complejos y con diversas fases, al igual que los helmintos y los protozoos necesitan de diversos huéspedes mismos que son utilizados para completar su desarrollo y en algunos casos como vectores. Algunas especies de artrópodos son considerados endoparásitos, ya que atraviesan la superficie del cuerpo y algunos otros, solo viven temporalmente sobre él causando algún efecto en la salud del huésped. Los ácaros pertenecientes al género *Dermatophagoides* son de gran importancia debido a que son causantes de muchas de las alergias respiratorias que afectan del 15 al 20 % población [7].

E. Hongos

Son organismos complejos cuya estructura vegetativa surge de la germinación de sus células reproductoras o esporas, su hábitat natural es el suelo, aunque algunos hongos actúan como parásitos en el hombre, en plantas y en animales. Algunos proceden de los bioaerosoles generados por animales y se encuentran en las heces y plumas (*Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*), éstos pueden ser inhalados causando enfermedades pulmonares mientras que algunos otros son hongos causantes de hipersensibilidad como *Alternaria* y *Cladosporium*.

Las principales vías de entrada de un agente infeccioso son la vía respiratoria o por contacto con la piel, aunque la vía predominante es la vía respiratoria, ya que muchas enfermedades infecciosas son transmitidas a través del aire. En el tracto respiratorio los microorganismos pueden multiplicarse llegando a afectar el tracto respiratorio superior e inferior, estos agentes causan enfermedades en cualquiera que se exponga a dicho ambiente, pero principalmente afectan a aquellos con un sistema inmune comprometido [2].

- Antígenos.

Una molécula de procedencia endógena o exógena capaz de producir una respuesta inmune en el organismo recibe el nombre de antígeno [8]. Por lo tanto, cualquier proteína, glicoproteína o carbohidrato con un peso mayor a los 10000 Daltons ya sea endógena o

exógena es capaz de actuar como un antígeno. Muchos de estos antígenos encontrados en el aire interior proceden de microorganismos, artrópodos o animales, llegando a causar rinitis alérgica o asma alérgico.

- **Toxinas.**

Las toxinas, al igual que los antígenos, son de naturaleza proteica y glucosídica, pero a diferencia de los antígenos, las toxinas son capaces de producir efectos nocivos en el organismo vivo al que atacan. Gran parte de las toxinas presentes en el aire provienen de microorganismos como bacterias, las cuales producen endotoxinas y de hongos cuyas toxinas reciben el nombre de micotoxinas.

De acuerdo a estudios realizados en 2006 se concluyó que una especie no se puede identificar como único responsable de los efectos en la salud debido a que un individuo a menudo se expone a múltiples agentes [9]. Las esporas fúngicas y las esporas bacterianas presentan mayor resistencia al estrés ambiental que se produce al ser transportadas, mientras que las bacterias y virus son sensibles a este estrés, por lo tanto, la supervivencia dentro de los grupos de microorganismos es distinta hasta en un mismo género. La viabilidad, reproducción y dispersión de los bioaerosoles depende de las condiciones del ambiente en que se encuentran, la temperatura, la humedad relativa, el flujo de aire, la concentración de oxígeno y la cantidad de luz [6].

La presencia de los aerosoles biológicos en ambientes interiores se atribuye principalmente a factores como la humedad y una ventilación inadecuada. De acuerdo a estudios realizados en 2004, en países europeos, Canadá y Estados Unidos, el 20% de los edificios presentaban uno o más signos de humedad y se estimó que en el 50% de las casas prevalecía la humedad. Las concentraciones de microorganismos en el interior de un edificio en el que prevalece la humedad se sospechan son elevadas y pueden afectar la salud de quien vive y trabaja dentro del mismo [9].

2.2. Bioaerosoles fúngicos

Los hongos son microorganismos eucariontes, aerobios, heterótrofos, que se encuentran de forma ubicua en el ambiente y su forma de reproducción es por esporas sexuales y asexuales [10], algunos son unicelulares, como las levaduras cuya forma de reproducción es por fisión binaria o gemación. Se calculan alrededor de 200 000 especies y solo alrededor de 400 son

patógenos para mamíferos, un gran número sobreviven como saprófitos obteniendo su alimento de materia orgánica principalmente madera, papel y alimentos, y algunos otros actúan como parásitos al obtener su alimento de materia viva [11].

La mayoría de los hongos tienden a crecer entre los 0 a 55 °C, teniendo un rango entre los 20 a 30 °C como temperatura óptima de crecimiento, esta temperatura, a la que por lo regular se encuentra el ambiente, permite el desarrollo de casi todos los hongos especialmente los parásitos superficiales. A diferencia de las bacterias, los hongos crecen a un pH entre los 5.6 y 6.8, la luz no es vital para su crecimiento, aunque en muchas especies juega un papel importante en la esporulación, necesitan de oxígeno y humedad relativa para sobrevivir. Algunas especies modifican su metabolismo al cambiar la temperatura como *Cladosporium*, *Alternaria*, *Mucor* y *Penicillium* [11].

Los hongos necesitan nutrientes como carbohidratos, proteínas y lípidos, que se encuentran en la materia vegetal o animal como, por ejemplo, en el polvo de superficies como muebles de casas y oficinas, en materiales de construcción incluyendo el papel tapiz y textiles, en la condensación de aceites de cocina, pegamentos y pinturas, así como también en los libros y otros productos de papel. En la mayoría de interiores los hongos crecen a una temperatura entre los 10 a 35 °C, aunque la temperatura y los nutrientes no son definitivos para el desarrollo de estos, en cierto punto se ve afectada la tasa de crecimiento y la producción de ciertos alérgenos y metabolitos, mientras que la cantidad de agua sigue siendo uno de los factores más importantes en el crecimiento de hongos tanto en el interior como en el exterior.

Los hongos ambientales o también llamados hongos anemófilos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, generalmente se desarrollan sobre materia orgánica muerta, pero al desarrollarse al interior de casas, oficinas o cualquier otro edificio público son capaces de utilizar cualquier sustrato para crecer y así contaminar alimentos, textiles, pisos, etc. Estos hongos producen conidios o esporas que son inhalados, constituyendo un riesgo para la salud [11,12]. Un gran número de especies anemófilas han sido descritas como agentes desencadenantes de cuadros de asma, rinitis y alergias respiratorias. Es importante mencionar que las condiciones ambientales como la humedad relativa, la temperatura, la contaminación y las actividades humanas influyen en la proliferación y propagación de las partículas fúngicas a los espacios interiores, por lo tanto, su importancia no solo radica en su capacidad

de sobrevivir en los espacios que rodean al ser humano, si no en su capacidad para invadir las mucosas respiratorias de huéspedes susceptibles.

La mayoría de los géneros fúngicos aprovechan las corrientes de aire para liberar y transportar sus conidios y así colonizar nuevos sustratos [13]. Los hongos son transportados a edificios en la superficie de materiales incluso en la ropa, e ingresan a los edificios a través de la ventilación, por lo general se encuentran en el polvo y en cualquier superficie incluso en aquellas libres de humedad. Una vez dentro, su crecimiento se ve favorecido por la humedad, son capaces de crecer en cualquier sustrato con una humedad relativa menor al 100%. Para que su crecimiento se vea favorecido también dependen de la actividad de agua (A_w) que presente el sustrato, la A_w mínima requerida para el crecimiento de un hongo varía de 0.8 a 0.98 [9].

El número total de esporas fúngicas en el aire varía de 200 a 1000000 UFC/m³ y la concentración depende tanto de las condiciones ambientales como la hora del día, la estación del año y la humedad [14]. Debido al tamaño de las esporas, éstas pueden penetrar al árbol bronquial, lo cual les permite causar reacciones alérgicas en el tracto respiratorio. El tamaño de la mayoría de las esporas de hongos aislados del aire se encuentra entre 2 y 10 μm , aunque algunas especies del género *Alternaria* producen esporas con un tamaño cerca de los 40 μm . Algunos géneros de hongos comúnmente aislados del aire interior son *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Ulocladium* y *Mucor*, y algunas levaduras como *Rhodotorula*.

2.3. Normativas para la calidad de aire interior

Los problemas causados debido a la calidad de aire interior, se reconocen como importantes factores de riesgo para la salud humana, debido a que se ocupa el 90% del tiempo en permanecer en espacios cerrados como guarderías, oficinas y el hogar, la contaminación del aire afecta principalmente a la población vulnerable debido a su estado de salud o edad como niños, ancianos y personas con un sistema inmune comprometido.

La exposición a contaminantes microbianos está asociada a síntomas respiratorios, alergias, asma y reacciones inflamatorias, por tal motivo, existen normas para la calidad del aire en exteriores con el fin de proteger a la población, ya que algunas normas para ambientes exteriores son aplicables a interiores. La ACGIH trabaja en la elaboración de guías sobre

límites de exposición para contaminantes tanto químicos como biológicos encontrados en ambientes interiores.

Ya que el aire interior desempeña un papel importante en la salud de los ocupantes de un edificio, la OMS cuenta con las pautas recomendadas para mantener la calidad del aire interior y en octubre del 2006 se formuló el derecho al aire interior saludable, en el cual se establece que bajo principio de responsabilidad, todas las organizaciones deben establecer criterios para evaluar y al mismo tiempo evaluar la calidad del aire de los edificios y su impacto en la salud de la población y el medio ambiente, del mismo modo se recomendaron pautas para dos categorías adicionales, cuyos factores de riesgo son de importancia para la salud en ambientes interiores: agentes biológicos y agentes de combustión interna [9].

La Organización Internacional de Normalización (ISO) presenta la norma ISO-16000 en la cual se hace relación a numerosos aspectos de la calidad de aire interior, como la determinación de formaldehído, muestreo de asbestos y la detección de mohos (ISO 16000-32:2014) [15], del mismo modo la Sociedad Americana de Ingenieros de Calefacción, Refrigeración y Acondicionamiento del Aire de Estados Unidos (ASHRAE) han elaborado una serie de guías con el fin de preservar la calidad del aire interior y con ello la salud de los ocupantes del edificio [16].

En España, el comité técnico de la Agencia Española de Normalización (AENOR) ha creado diversas normas sobre la calidad del aire interior llamadas UNE, igualmente el Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST) ha creado guías técnicas y notas técnicas de prevención (NTP) sobre la calidad de aire en ambientes cerrados y así disminuir riesgos que puedan dañar la salud de trabajadores o algún otro que se encuentre expuesto a dicho ambiente [17]. Principalmente la NTP 243, en la cual se explican los principales tipos de contaminantes en ambientes cerrados, los efectos en la salud de los ocupantes y los principales factores que afectan la calidad del aire, así como también existen normas para planificar la medición de agentes biológicos y el análisis de dichas muestras, NTP 608 y NTP 61, respectivamente.

Actualmente no existe una normativa que sea aceptada a nivel mundial, en la cual se establezcan los límites para microorganismos tanto en el interior como en el exterior, pero se acepta que los niveles de microorganismos en interiores son preocupantes cuando las

concentraciones y la población difieren del exterior. De acuerdo a la norma UNE 100012:2005 se considera como valor máximo las 800 UFC/m³ en ambientes interiores, y cuando los valores se encuentran por encima del máximo, se recomienda identificar los microorganismos y aplicar medidas correctoras para disminuir riesgos [18].

2.4. Muestreo de contaminantes biológicos en aire

La contaminación del aire interior por bioaerosoles puede ser una mezcla compleja de microorganismos, fragmentos o componentes de los mismos como: β -1,3 glucano, ergosterol fúngico, ácido murámico bacteriano, toxinas, polen, ácaros, pelo y descamaciones. La contaminación por bioaerosoles constituye entre un 5 y 34 % de la contaminación total del aire, además de ser la primera causa de molestias en los ocupantes de un edificio. En muchos casos los síntomas son inespecíficos y no pueden atribuirse a un contaminante en concreto, por tal motivo, se requiere de investigación previa de la situación para poder enfocarse adecuadamente en el problema, salvo que exista una patología relacionada a un microorganismo en concreto.

Para detectar el problema, como primer paso es recomendable realizar una investigación recopilando toda la información necesaria donde se incluya el plano del edificio, los materiales de construcción y decoración, las actividades llevadas a cabo dentro del mismo, antecedentes de problemas como filtraciones, humedad e inundaciones, toda la información recopilada deberá ser corroborada de manera visual al realizar un recorrido por el edificio [19]. Una vez concluida la investigación inicial, se deben proponer medidas correctivas para solucionar el problema, no obstante, si a pesar de aplicar las medidas el problema persiste, será necesaria una evaluación detallada, en la cual se requerirá de un plan de muestreo, mismo que puede estar justificado bajo algunas circunstancias:

1. Por diagnóstico de enfermedad asociada a un contaminante biológico en concreto (legionelosis, aspergilosis y criptococosis) siendo necesaria la verificación de su presencia en el ambiente.
2. Por exigencia legal.
3. Tras una inspección y establecimiento de una hipótesis.
4. Para comprobar la efectividad de medidas correctivas aplicadas.

2.5. Tipos de muestreo.

- Muestreo de aire por impactación.

Método de muestreo frecuentemente utilizado para captar contaminantes biológicos, en estos muestreadores de impactación los contaminantes son retenidos en placas o tiras con medio de cultivo sólido, semisólido o líquido incluso en un portaobjetos. La impactación en placa presenta la ventaja de que los microorganismos son captados directamente en el medio de cultivo para su posterior incubación y conteo.

1. Muestreadores de impactación en placa de agar.

- Impactador multiorificio.

Son muestreadores de un solo nivel, el cual la entrada de aire está constituida por múltiples orificios circulares, suelen ser portátiles, lo cual permite el análisis de ambientes con bajo nivel de contaminación o de aquellos en los que se requiera el muestreo de grandes volúmenes de aire durante periodos de tiempo cortos. Existen distintos tipos de impactadores multiorificio, los más utilizados son: BioCulture, Microbiological Air Sampler (MAS-100), Microflow, Millipore Air Tester (M Air T), Sterilizable Microbial Atrium (SMA) o Surface Air System (SAS).

- Impactador en cascada.

Muestreador multiorificio en cascada, separa de manera automática las partículas según su tamaño. Existen modelos de 2 a 6 niveles que constan de 200 a 400 orificios, el muestreador frecuentemente utilizado es el impactador de Andersen.

- Impactador en rendija.

En los impactadores de este tipo, el aire pasa a través de una rendija, las partículas impactan sobre la superficie de una placa de 15 x 150 mm que se encuentra sobre una base rotativa que gira a una cierta velocidad, previamente seleccionada.

2. Muestreadores de impactación en portaobjetos.

En este tipo de muestreadores se utiliza un volumen de aire conocido que va de los 50 a los 150 litros, se emplean portaobjetos de vidrio con una sustancia adhesiva como silicona o adhesivos a base de vaselina, lo cual evita la pérdida de partículas durante el proceso de tinción.

3. Muestreadores de impactación en medio líquido.

Para estos equipos el aire es aspirado a través de una entrada curva que simula el tracto respiratorio superior, las partículas impactan en un volumen conocido de tampón fosfato salino o agua peptonada. El fin de estos muestreadores es mantener viables a los microorganismos.

- **Muestreo de aire por filtración.**

En esta técnica de muestreo, las partículas son captadas en filtros con tamaño de poro determinado, la eficacia de captación depende del tipo de filtro que presenta un tamaño de poro entre los 0.1 a 10 μ m y del caudal de muestreo. La muestra obtenida puede analizarse empleando diversas técnicas en las que se incluye el cultivo de los microorganismos captados.

- **Muestreo de superficies**

Técnica de muestreo útil para confirmar la presencia de microorganismos e identificar géneros y especies, así como también detectar el foco y grado de contaminación. Puede ser utilizada para comprobar la eficacia de un procedimiento de limpieza o desinfección. Los más utilizados son el muestreo con torunda y esponja, muestreo con cinta adhesiva y el muestreo con placa de contacto [20].

3. MARCO DE REFERENCIA

Los bioaerosoles se propagan rápidamente en lugares donde hay humedad, polvo y malas condiciones higiénicas ya que de este modo se proveen de nutrientes necesarios para su crecimiento. Es importante mencionar que aún no se cuenta con la suficiente evidencia científica para conocer con exactitud los daños que pueden ocasionar los bioaerosoles en la salud, ya que los niveles de contaminantes determinados en estudios realizados en ambientes cerrados como oficinas, bibliotecas, salones de clases y residencias, suelen estar por debajo de los niveles permisibles, es por ello que el análisis de la calidad del aire es recomendable para obtener información sobre los microorganismos presentes en los bioaerosoles y sus posibles daños a la salud.

De acuerdo a la literatura revisada se encontró que a nivel mundial se han realizado diversos estudios en los cuales se pretenden cuantificar los bioaerosoles fúngicos presentes en el aire (Tabla 1) y con ello determinar la calidad de aire interior, no obstante, la mayoría de estudios se han realizado en edificios como hospitales, oficinas, museos, bibliotecas y muy pocos en edificios escolares [12,14,21,22,23,24,25,26].

Tabla 1. Resumen de estudios realizados sobre bioaerosoles fúngicos, con énfasis en lugar de estudio, método de muestreo y resultados obtenidos.

Sede y lugar de estudio	Método de muestreo	Resultados
Instalaciones deportivas de 9 planteles de preparatoria de la UNAM, México [12].	Muestreo de superficies	A lo largo de un año los principales contaminantes encontrados fueron <i>Rhodotorula</i> en un 13.92%, <i>Candida</i> en un 11.22% y hongos del género <i>Aspergillus</i> en un 9.44% los cuales predominaron en lugares en los que la humedad era mayor, área de regaderas y albercas principalmente.
Casas localizadas en la ciudad de Georgia, Estados Unidos [21].	Impactador multiorificio (Surface Air System SAS)	De acuerdo a los criterios establecidos en una encuesta se eligieron casas construidas en 1945, que presentaran daños por hongos en el interior en los condados de DeKalb y Fulton, Georgia. De acuerdo a los resultados obtenidos se encontraron especies como: <i>Aspergillus niger</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> y hongos del género <i>Penicillium</i> y <i>Cladosporium</i> .

Bibliotecas distribuidas en el campus de la Universidad Autónoma de Sinaloa, México [14].	Muestreo volumétrico (muestreador de aire MB2)	Se realizaron muestreos a 15 bibliotecas del campus en 2 horarios por la mañana con un total de entre 10 a 240 UFC/m ³ y por la tarde con un total de 50 a 3090 UFC/m ³ . Encontrándose principalmente hongos como <i>Rhizopus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i> y <i>Mucor</i> .
Hospital de primer y segundo nivel de la ciudad de León Guanajuato, México [22].	Impactador multiorificio (M Air T)	La concentración de propágulos fúngicos para el hospital de primer nivel osciló entre las 56 a 184 UFC/m ³ y para el hospital de segundo nivel se encontraba entre 32 a 442 UFC/m ³ . Los principales contaminantes encontrados fueron hongos de los géneros <i>Fusarium</i> , <i>Helminthosporium</i> , <i>Microsporum</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Acremonium</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i> y levaduras como <i>Cryptococcus</i> .
Edificios administrativos ubicados en distintos sectores de la ciudad de Bogotá, Colombia [23].	Bomba de alto flujo (Quick take 30) e impactador de Andersen de cascada sencilla	Se realizó el muestreo de los sistemas de ventilación de 3 edificios administrativos en distintas zonas de la ciudad de Bogotá. Como principales contaminantes del aire interior se encontraron hongos de los géneros <i>Aspergillus</i> en un 100% (edificio 3), <i>Penicillium</i> en un 94.7% para el edificio 3, y <i>Cladosporium</i> el cual se encontró en un 100% en el edificio 2, así como también se reporta un máximo de 1,666 UFC/m ³ y un mínimo de 8 UFC/m ³ promedio.
Ambientes universitarios de la Universidad de Chang'an, China [24].	Impactador de Andersen de cascada de 6 niveles.	Se muestrearon 4 sitios en los que mayormente los universitarios pasan tiempo. Se encontraron de 57- 699 UFC/m ³ de hongos en un bar situado cerca del campus, mientras que en lugares como la clínica, aulas y dormitorios el número de UFC iban de los 15- 350 UFC/m ³ .
Depósito del Archivo Nacional de la República de Cuba [25].	Biocolector (SAS super 100)	Con el fin de encontrar bioaerosoles con potencial alérgico se realizó un muestreo activo del cual se obtuvo una máxima de 180 UFC/m ³ y una mínima de 10 UFC/ m ³ . Principalmente se

		encontraron hongos de los géneros <i>Aspergillus</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Alternaria</i> y <i>Penicillium</i> como los principales contaminantes causantes de alergias.
Escuelas gubernamentales ubicadas en la ciudad de Pahang, Malasia [26]	Impactador multiorificio (SAS IQA)	Se muestrearon 4 salones de clases de 2 escuelas situadas en distintas zonas de la ciudad, en los cuales, en su mayoría, se encontraron los géneros <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> y <i>Mucor</i> para ambas escuelas, seguidos de los géneros <i>Cladosporium</i> , <i>Alternaria</i> y <i>Rhizopus</i> .

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los ocupantes de un edificio pasan del 80 al 90 % del tiempo en un espacio cerrado, por tal motivo, se ven afectados por la contaminación del aire dentro del mismo y uno de los principales contaminantes son los contaminantes biológicos. Estos contaminantes del aire son representados por los bioaerosoles (microorganismos y alérgenos) cuya fuente de transmisión son las escamas de piel, polvo y gotas de agua o saliva que liberamos a través de las actividades que realizamos con frecuencia y factores como la inadecuada ventilación, la humedad relativa y las temperaturas irregulares favorecen su desarrollo. Estos bioaerosoles afectan principalmente las vías respiratorias causando en ocasiones enfermedades infecciosas, que llegan a ser el motivo más importante de la pérdida de productividad y el ausentismo laboral y escolar.

El muestreo y análisis de los bioaerosoles depende principalmente de la actividad que se lleve a cabo dentro del sitio de evaluación, el tipo de bioaerosol a evaluar y las concentraciones del mismo. Por lo tanto, se plantea la siguiente pregunta de investigación ¿existe la presencia de bioaerosoles fúngicos, cuyas concentraciones sean riesgosas para la salud de los ocupantes del edificio?

5. JUSTIFICACIÓN

La atmósfera no presenta una microbiota propia, pero es considerada el medio perfecto para la dispersión rápida de muchos microorganismos como bacterias, virus y hongos. La evaluación de los aerosoles biológicos se realiza principalmente para determinar las concentraciones de agentes contaminantes en un ambiente determinado, estas evaluaciones brindan información importante sobre el crecimiento microbiano, la variabilidad microbiana y la frecuencia de una cierta especie.

Las altas concentraciones de bioaerosoles a las que el hombre puede estar expuesto se asocian a enfermedades infecciosas originadas por patógenos viables o patógenos oportunistas, mientras que las respuestas inflamatorias, tóxicas y alérgicas son originadas por componentes tanto viables como no viables. Por lo tanto, la exposición a bioaerosoles y el riesgo que estos traen consigo para la salud de los ocupantes de un edificio son determinados por las concentraciones totales de organismos viables y no viables.

6. OBJETIVOS

6.1. General

Cuantificar, identificar y evidenciar la presencia de bioaerosoles fúngicos cultivables que podrían afectar la calidad del aire interior de un edificio educativo e identificar a los patógenos causantes de algún tipo de enfermedad.

6.2.Específicos

- Tomar muestras de aire, utilizando el impactador multiorificio M air T.
- Estimar la concentración de bioaerosoles fúngicos presentes en el aire en la zona de estudio.
- Aislar las colonias obtenidas por impactación en placa del aire de la zona de estudio.
- Identificar hongos filamentosos obtenidos de muestras de aire, a partir de sus características macroscópicas y microscópicas.
- Aplicar cuestionarios a los ocupantes del edificio, con el fin de relacionar los contaminantes fúngicos aislados con alguna sintomatología presentada.

7. HIPÓTESIS

Hipótesis nula

No existen diferencias significativas en la contaminación del aire por bioaerosoles fúngicos en un edificio educativo de nivel superior en la ciudad de Puebla.

Hipótesis alternativa

Existen diferencias significativas en la contaminación del aire por bioaerosoles fúngicos en un edificio educativo de nivel superior en la ciudad de Puebla.

8. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

A. Tipo de estudio. Observacional de corte transversal.

B. Universo de estudio. Con el fin de evidenciar la presencia de bioaerosoles fúngicos dentro del edificio FCQ9 (Figura 1), se tomaron muestras del aire de espacios cerrados los cuales son:

- Laboratorio de Microbiología
- Salón de usos múltiples
- Baños
- Salón 208
- Segundo piso.



Figura 1. Edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP

C. Tamaño de muestra. Por el método de impactación en placa, se tomaron 3 muestras de aire de cada uno de los 5 puntos de muestreo en el interior del edificio.

D. Sede y lugar de estudio. Laboratorio de micología del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas perteneciente al Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ubicado en Avenida San Claudio, Ciudad Universitaria, San Manuel, Puebla, Pue.

E. Criterios de selección. En cuanto a los espacios muestreados se seleccionaron áreas donde la contaminación biológica fuera evidente (presencia visible de moho), al no ser así, se eligieron áreas donde se sospechaba pudiera existir contaminación biológica. Al momento del muestreo el equipo se colocó alejado de plantas, puertas y ventanas, mismas que permanecieron cerradas al momento del muestreo.

- F. Recursos humanos.** La investigación, así como el trabajo experimental fue realizado por la tesista Esther Mena Viveros cuya investigación estuvo bajo la dirección y supervisión de D.C Ricardo Munguía Pérez quien se encuentra a cargo del Laboratorio de Micología y con la colaboración de la M.C. Edith Díaz Cabrera perteneciente al departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas.
- G. Recursos financieros.** Los materiales utilizados como placas, medios de cultivo e incluso el equipo de muestreo fueron proporcionados por el Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas.
- H. Diseño estadístico.** El análisis de los resultados obtenidos en esta investigación se llevó a cabo por estadística paramétrica, utilizando un análisis de varianza (ANOVA), además de que se emplearon gráficos para explicar los resultados obtenidos.

9. MATERIALES Y MÉTODOS

9.1 Materiales

- Equipo de muestreo

El impactador multiorificio M Air T de Millipore (Figura 2) es un muestreador que consta de un cabezal con una rejilla microperforada de acero inoxidable con 1000 orificios de 0.46 mm de diámetro que permiten que el aire sea distribuido de manera uniforme sobre la superficie de la placa. Este muestreador es utilizado para probar la calidad microbiana del aire.



Figura 2. Impactador multiorificio M Air T

El principio básico del equipo M Air T se basa en la inercia de las partículas, ya que permite la separación de las partículas contenidas en la corriente de aire que pasa por el dispositivo de entrada que, al ser obligado a cambiar de dirección, las partículas impactaran sobre la superficie solida de la placa de agar.

- Cassettes M Air T.

Son placas tipo Rodac utilizadas para el control microbiológico del aire que contienen una cuadrícula integrada, la cual permite el conteo de las colonias. Estas placas se llenan previamente con 20 g de agar, en este caso utilizaremos Agar Papa Dextrosa con una profundidad de 6 mm lo que minimiza la evaporación de agua durante el ciclo de muestreo.

9. 2. Metodología

9.2.1 Inspección interior del edificio.

Como primer paso, es necesario una investigación preliminar del edificio y las áreas a muestrear con el fin de localizar elementos que promuevan la proliferación de bioaerosoles, además de verificar la presencia visible de hongos en lugares como alrededor de puertas y ventanas y en algunos muros, si no se encontrara presencia visible de hongos, las áreas a muestrear serán aquellas donde se sospeche exista contaminación biológica [27].

9.2.2 Puntos de muestreo.

Se tomarán muestras de aire de 5 áreas del edificio FCQ9 y por cada área muestreada se eligieron 3 puntos.

- A. Laboratorio de Microbiología (Figuras 3).** Primera área a muestrear, consta de 2 laboratorios, un área de esterilización, almacén de reactivos y material y 3 cubículos. Se muestrearon ambos laboratorios en la parte central y el cuarto de esterilización en la parte central.

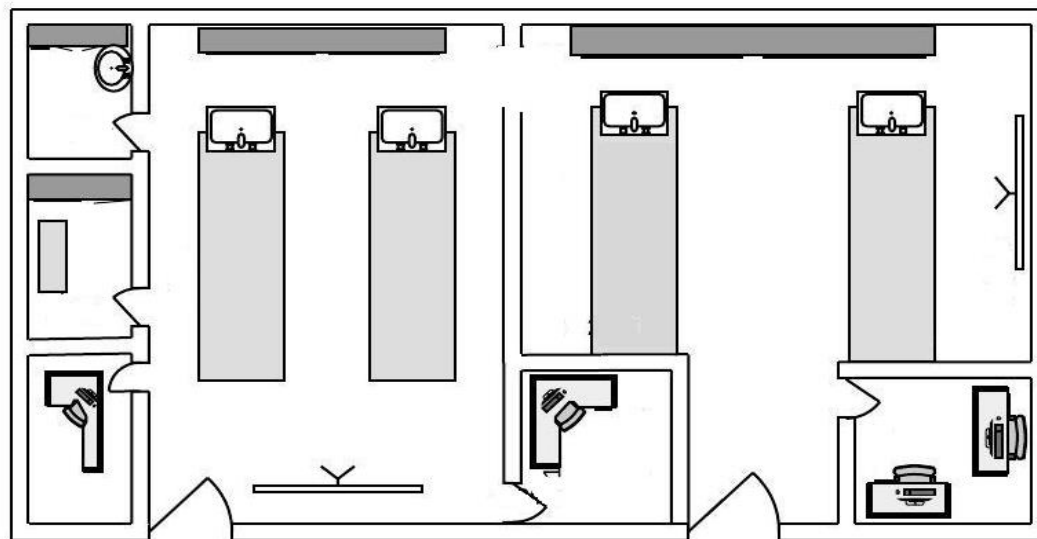


Figura 3. Diagrama esquemático del laboratorio de microbiología del edificio FCQ9

- B. Baños (Figura 4).** Dentro de esta área se tomaron muestras de aire en puntos como: los lavabos, así como también 2 esquinas del baño, una de ellas se localiza cerca de la ventilación.

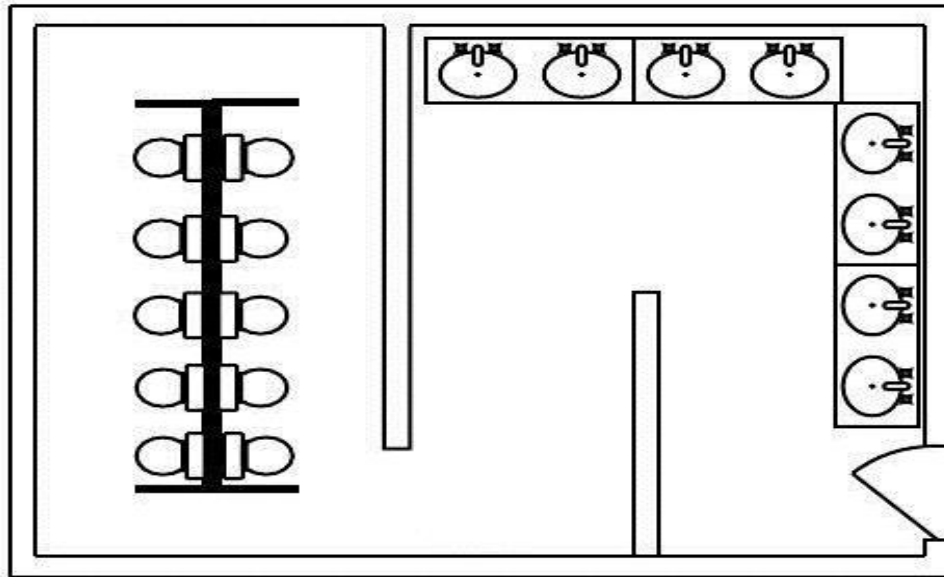


Figura 4. Diagrama esquemático del baño de mujeres del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas - BUAP

C. Salón (Figura 5). Los salones son los espacios en los que con frecuencia se pasa la mayor parte del tiempo por ello es necesario tomar muestras de alguno de ellos. En ellos se tomaron muestras tanto de centro del salón, como del extremo más alejado de la puerta y cerca de esta.

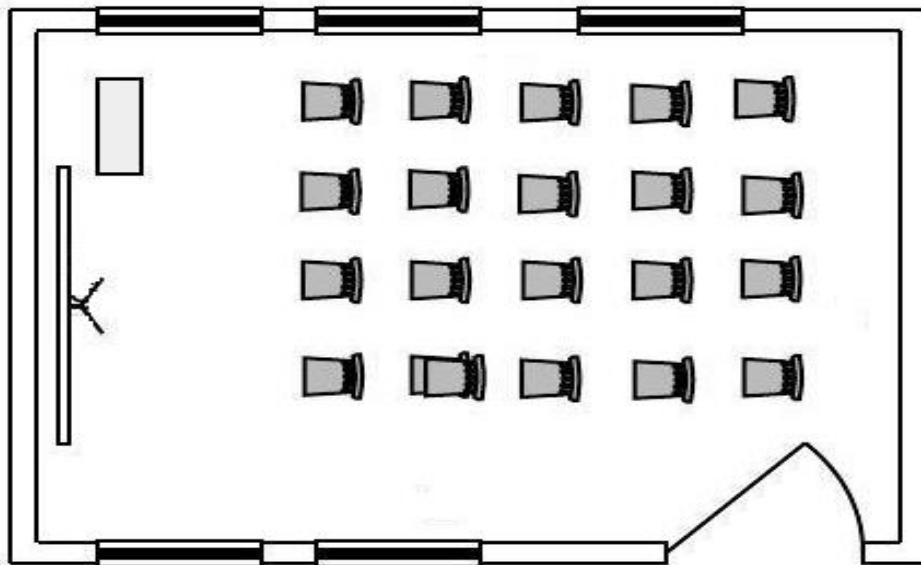


Figura 5. Diagrama esquemático del salón 208 ubicado en el edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP

D. Segundo piso (Figura 6). Debido a la actividad que presenta este espacio se muestrearon 3 puntos, los cuales son: el área de laboratorios, el pasillo a los salones y el vestíbulo, donde algunos alumnos tienden a permanecer en el tiempo libre.

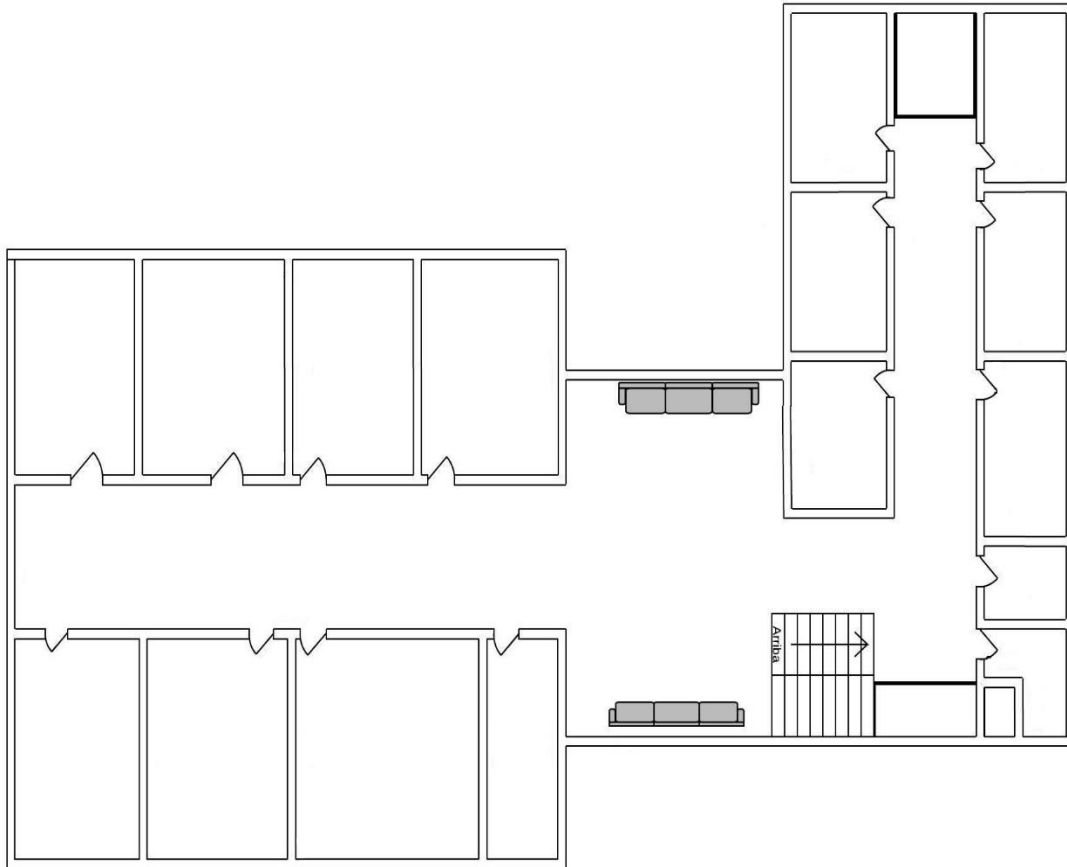


Figura 6. Diagrama esquemático del Segundo piso del edificio FCQ 9 de la facultad de Ciencias Químicas – BUAP

E. Salón de Usos Múltiples (SUM) (Figura 7). Las actividades realizadas dentro de esta área, los materiales con los que se encuentra recubierta y la cantidad de personas que utilizan este espacio la hacen idónea para investigar la calidad de aire, por lo tanto, se tomaron muestras en la parte central, así como al fondo y cerca de la puerta del auditorio.

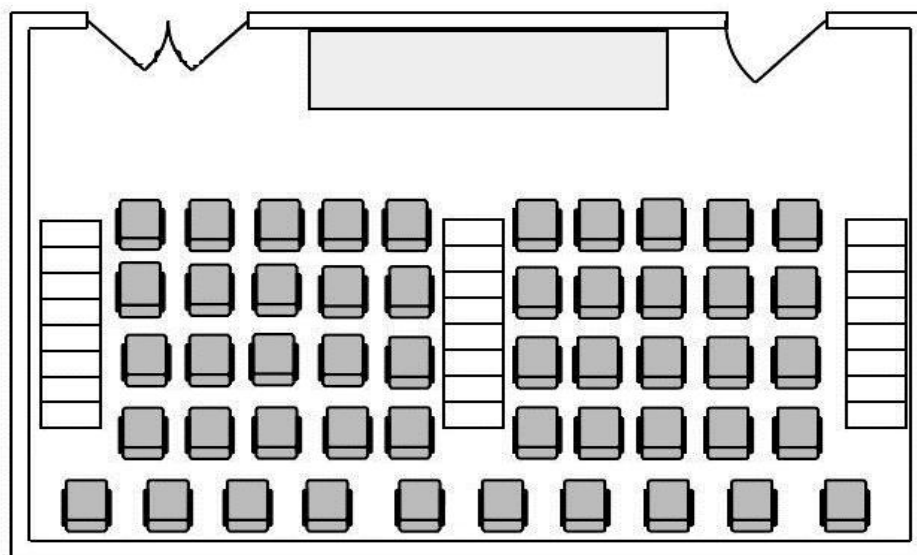


Figura 7. Diagrama esquemático del Salón de Usos Múltiples en el edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas-BUAP

- **Factores controlables:** Puntos de muestreo, tiempo de muestreo, volumen de muestra.
- **Factores no controlables:** Temperatura y humedad ambiental, corrientes de aire, número de personas en el área y actividades dentro del área en estudio.

9.2.3 Muestreo

Para el desarrollo de esta investigación se utilizó el impactador multiorificio M Air T, el cual se ajusta a los siguientes parámetros:

- Volumen de aire a muestrear: 500 litros de aire
- Tiempo de muestreo: 5 minutos

Antes de iniciar el muestreo, el tamiz o rejilla microperforada debe esterilizarse durante 30 minutos a 121 °C, en cuanto a las superficies del muestreador deben desinfectarse con alcohol o alguna otra solución desinfectante [28].

A continuación, se coloca el cassette o placa tipo Rodac con Agar Papa Dextrosa en el cabezal del muestreador, este cassette presenta 4 aletas que se ajustan perfectamente a las hendiduras en el cabezal del muestreador. Una vez en posición se retira la tapa del cassette evitando tocar la superficie del agar, se coloca la rejilla y por último se presiona el botón de START, con el cual inicia el muestreo de aire en los parámetros anteriormente seleccionados.

NOTA* Al final de cada muestreo tanto la rejilla microperforada como la superficie del cabezal se desinfectan con gasas impregnadas de alcohol o alguna otra solución.

Al inicio del muestreo se tomó la temperatura de cada una de las áreas en estudio. Una vez terminado el muestreo de cada área, los cassettes se llevaron a incubar a una temperatura de 28°C durante un periodo de 3 a 5 días.

9.2.4 Aislamiento

Una vez que han crecido, se contaron las colonias de hongos filamentosos y levaduras desarrolladas en cada placa, con el fin de obtener así las unidades formadoras de colonia por metro cúbico de aire (UFC/m³) [29].

Para realizar el recuento total de UFC/m³ en cada área de muestreo se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Conteo total UFC/m}^3 = \frac{\text{Colonias totales} \times 1000}{\text{Volumen de muestra en litros}}$$

Una vez que se han contado las colonias se procedió a aislarlas en tubos en pico de flauta con Agar Dextrosa Sabouraud que fueron incubados a 28 °C por un periodo de 5 a 7 días.

9.2.5 Identificación

Una vez que se obtuvieron cultivos axénicos, se procedió a realizar microcultivo (Anexo A), con el fin de identificar estructuras fúngicas importantes para diferenciar un hongo de otro. Pasado el periodo de incubación se desmontaron los microcultivos y se teñieron con azul de algodón, una vez secos se sellaron con resina sintética y se procedió a la identificación de las colonias obtenidas de muestras de aire.

9.2.6 Aplicación de cuestionarios a los ocupantes del edificio

Con el fin de obtener información acerca de las condiciones de salud de los ocupantes del edificio, se aplicaron de forma aleatoria a un cierto número de ocupantes un cuestionario simplificado (Anexo B) referente a los síntomas presentados al interior del edificio.

Los resultados obtenidos de este cuestionario sobre la sintomatología presentada por los ocupantes del edificio se relacionaron con los resultados obtenidos del muestreo ambiental. Cabe mencionar que dicho cuestionario fue tomado de la nota técnica de prevención 380 la cual es creada por el Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo de España (INSST), cuyo objetivo principal es el diagnóstico de la existencia de Síndrome de Edificio Enfermo (SEE), así como la identificación de sus posibles causas [30].

Toda la investigación se llevó a cabo de acuerdo al diagrama de flujo propuesto en la figura 8 de esta sección.

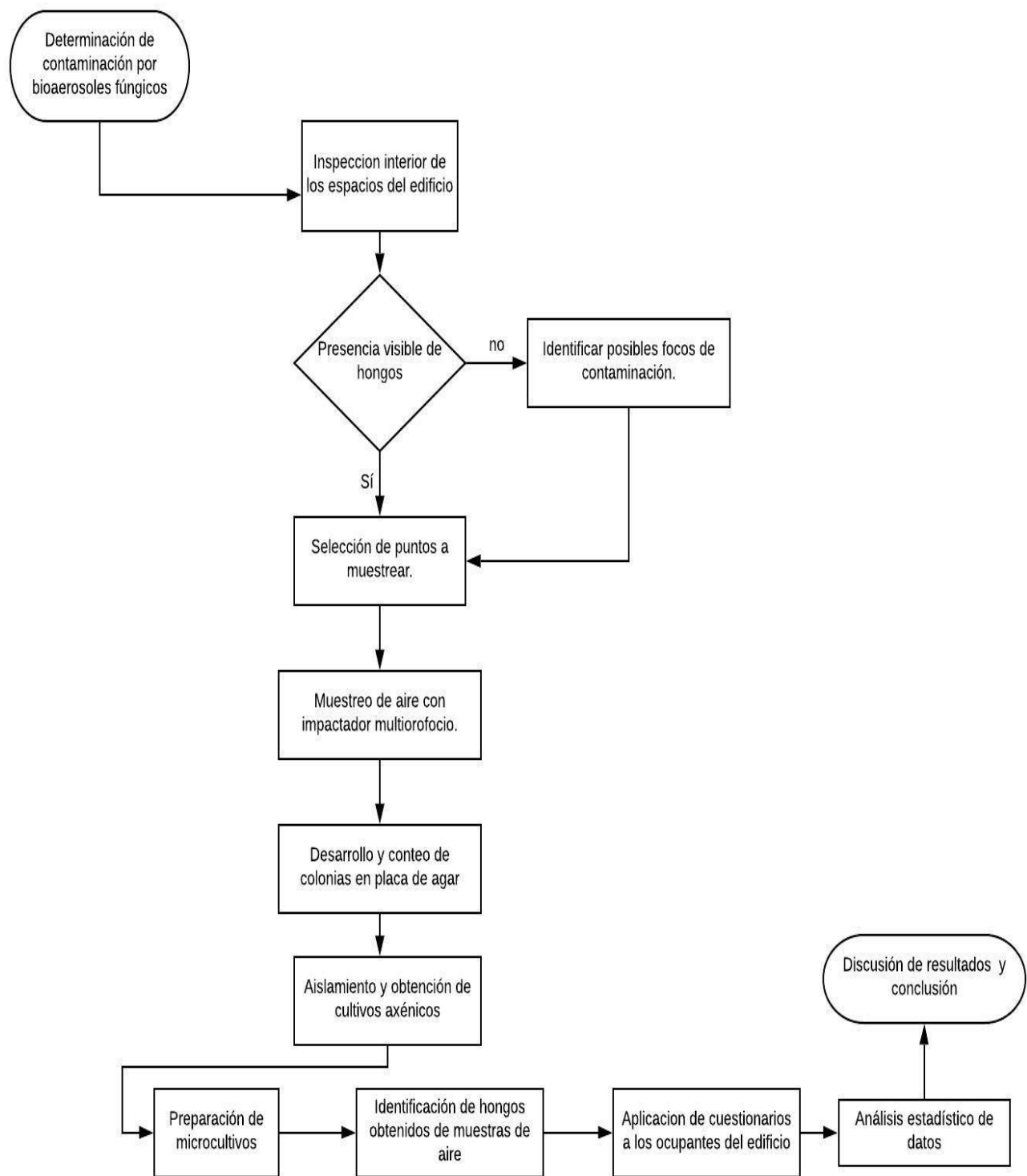


Figura 8. Diagrama de flujo: metodología para el muestreo y procesamiento de muestras de aire [19, 20, 27,28, 29, 30]

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.1 Inspección al interior del edificio.

La contaminación del aire interior de edificios escolares ha cobrado gran importancia debido a que de 80 a 90 % del día permanecemos en estos espacios, de acuerdo a la EPA el nivel de contaminación en ambientes interiores es 5 veces mayor al del exterior [23] es común encontrar bioaerosoles que son generados principalmente por las actividades que se llevan a cabo, así como también de aquellos que ocupan estos espacios. Principalmente podemos encontrar microorganismos, algunos de ellos patógenos, los cuales afectan la salud de los individuos que ocupan estos espacios es por ello que la evaluación de la calidad del aire es importante ya que se reduciría el riesgo a padecer ciertos problemas de salud, por lo cual se cuenta con un plan que tiene como primer paso la inspección de todo el edificio. El 21 de enero de 2019 se realizó la inspección del edificio FCQ9, con el fin de localizar los puntos en los cuales se evidenciará la presencia de hongos. Dentro de las áreas elegidas como puntos de muestreo, se encontró que paredes, muros y techos se encontraban libres de humedad y en buen estado, en cuanto a la limpieza en algunas áreas había un poco de polvo, pero sin evidencia visible de fuentes microbianas o condiciones de humedad y nutrientes que propiciarán su desarrollo. Uno de los principales objetivos de la inspección visual del edificio es la identificación de posibles fuentes de contaminación y condiciones que permitan el desarrollo de microorganismos como acumulación de polvo, limpieza inadecuada, exceso de humedad y fugas de agua lo que traerá consigo el crecimiento visible de moho tanto en paredes y techos como muros y pisos [19], en este caso, en el edificio FCQ9 la presencia visible de moho y el exceso de humedad es nulo y aunque solo existe acumulación de polvo en algunas zonas no implica que el edificio esté libre de bioaerosoles fúngicos.

Es importante mencionar, que el número de personas promedio presentes en las áreas al momento de la inspección fue de 25 a 40, excluyendo áreas como los baños y el Salón de Usos Múltiples, el cual se encontraba vacío. La presencia de individuos en ambientes interiores resulta importante en la emisión de partículas tanto fúngicas como bacterianas, ya que son capaces de emitir de manera directa partículas biológicas al hablar, toser o estornudar, así como también la presencia de bacterias en el aire puede atribuirse al desprendimiento de piel [34].



Figura 9. Inspección en áreas del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP

10.2 Muestreo de bioaerosoles fúngicos.

El muestreo se llevó a cabo el 21 de enero del 2019 de 12:00 a 3:00 de la tarde, intervalo de tiempo en el que se notó que el número de alumnos que permanecen en el edificio es mayor. Al momento del muestreo se tomó la temperatura de cada una de las áreas, mismas que se encuentran en la tabla 2.

Área	Temperatura °C
Laboratorio de microbiología	20
Salón 208	20
Baños	19
Salón de Usos Múltiples	19
Segundo Piso	20

Tabla 2. Temperatura registrada de las áreas durante el muestreo del edificio FCQ9.

Otro de los factores que contribuyen al desarrollo de hongos es la temperatura, ya que temperaturas entre los 20 y los 30 °C son óptimas para el desarrollo de estos hongos, de acuerdo a las investigaciones de Pierre Miquel, la estación del año también es un factor importante en la concentración de esporas fúngicas en el aire ya que durante los meses de febrero a julio la concentración de esporas aumenta debido a las condiciones climáticas, por el aumento de humedad debido a las precipitaciones principalmente [33], en este caso la temperatura dentro del edificio se encuentra entre 19 y 20 °C, debido a que el muestreo ambiental se realizó en el mes de enero y la concentración de esporas en el ambiente es menor, por lo tanto, se espera una mínima contaminación.

Se prosiguió con el protocolo de muestreo, descrito en el punto 8.2.3. de la sección materiales y métodos. Una vez tomadas las muestras de aire se llevaron al laboratorio de Micología en el Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas del Instituto de Ciencias donde se incubaron por un periodo de 3 a 5 días a una temperatura de 28 ± 2 °C.

10.3 Recuento de bioaerosoles fúngicos.

Pasado el periodo de incubación, se procedió a realizar el conteo de las colonias por punto y área de muestreo que se desarrollaron en el cassette con Agar Papa Dextrosa (Tabla 3).

Área	UFC			
	Punto 1	Punto 2	Punto 3	Total
Laboratorio de Microbiología	1	7	12	20
Salón 208	8	8	6	22
Baños	7	8	15	30
Salón de Usos Múltiples	4	3	7	14
segundo piso	12	9	10	31

Tabla 3. Número de colonias obtenidas por puntos en el área muestreada del edificio FCQ9

Una vez obtenido el total de colonias por área, utilizando la fórmula descrita en el punto 8.2.4. de la sección materiales y métodos, se calculó el número de UFC/m³ de aire en cada una de las áreas muestreadas, mismas que se encuentran en la tabla 4.

Área	UFC/m ³
Laboratorio de Microbiología	40
Salón 208	44
Baños	60
Salón de Usos Múltiples	28
Segundo piso	62

Tabla 4. Conteo total de UFC/m³ de aire en áreas muestreadas del edificio FCQ9 de la Facultad de Ciencias Químicas- BUAP

Para el análisis de las UFC/m³ presentes en cada punto de muestreo se utilizó el programa estadístico Minitab 18 el cual nos permitió generar un Análisis de varianza (ANOVA) (Anexo C), utilizando un nivel de significancia de 0.05, se obtuvo un valor de 0.69 para F, aceptando así nuestra hipótesis nula, por lo tanto, nuestra hipótesis alternativa se rechaza, concluyendo que no existen diferencias significativas en la contaminación por bioaerosoles fúngicos en las 5 áreas del edificio.

Con base a los resultados obtenidos en esta investigación, el número de UFC presentes en las áreas de estudio del edificio FCQ9 varía entre 28 y 60 UFC/ m³ de aire, resultados que de acuerdo a la OMS y al INSST se encuentran por debajo de los límites permisibles, los cuales aceptan hasta un total de 100 UFC/m³ de hongos saprófitos siempre y cuando en dichos espacios no exista presencia de individuos con inmunocompromiso o inmunosupresión [32]. Hizri, *et al.* en 2017 realizaron un estudio al ambiente interior de dos escuelas primarias ubicadas en dos zonas distintas de Pahang, Malasia, obteniendo un total de 444 a 487 UFC/ m³ de aire en la escuela ubicada en la zona urbana y de 874 a 1005 UFC/m³ en la escuela de la zona rural, esto se debe a que el ambiente y el tiempo de estos edificios era distinto, ya que la escuela de la zona urbana a pesar de la gran actividad en la zona abrió sus puertas en el 2004, mientras que la escuela de la zona rural además de encontrarse rodeada de zonas naturales inicio sus actividades en 1952, indicando que el tiempo de los edificios influye en la concentración de esporas fúngicas. Por otro lado, en estudios realizados por Li *et al.* en 2014, en ambientes universitarios la concentración de hongos se encuentra entre 130 a 940 UFC/ m³ de aire, indicando que la contaminación del aire interior por bioaerosoles fúngicos es mayor en las aulas, esto se debe a las actividades realizadas dentro de las mismas, así como a la posible resuspensión de partículas de polvo depositadas en superficies, las cuales

transportan esporas fúngicas. Como podemos observar los resultados obtenidos en el edificio FCQ9, los valores de UFC obtenidos son bajos al compararlos con ambos estudios.

10.4 Identificación de géneros fúngicos aislados.

De las muestras de aire de las 5 áreas se obtuvo un total de 117 colonias, de las cuales el 70% pertenecían a hongos filamentosos y solo el 30 % de estas eran levaduras. Se llevó a cabo el aislamiento de cada una de las colonias desarrolladas en los cassettes hasta obtener cultivos axénicos y posteriormente, la realización de microcultivos.

De acuerdo a las características macroscópicas y microscópicas de los hongos aislados se obtuvo un total de 4 géneros de hongos filamentosos, encontrando a los hongos del género *Aspergillus sp.* en mayor proporción, de acuerdo a estudios realizados en ambientes interiores escolares, los hongos de género *Aspergillus* se han aislado en un 27.7% [23], mientras que en el edificio FCQ9 se aisló 3 veces más, obteniendo un 88.46% del total de hongos presentes en el aire (tabla 5). Los hongos de los géneros *Acremonium sp.*, *Penicillium sp.*, y *Verticillium sp.* se aislaron en un 3.85% (Gráfica 1). Por lo tanto, el género *Aspergillus sp.* es considerado el principal contaminante fúngico del edificio.

Géneros aislados	%
<i>Aspergillus sp</i>	88.46
<i>Penicillium sp</i>	3.85
<i>Acremonium sp</i>	3.85
<i>Verticillium sp</i>	3.85

Tabla 5. Porcentaje de géneros aislados de muestras de aire del edificio FCQ9.



Gráfica 1. Géneros de hongos filamentosos aislados de muestras de aire del edificio FCQ9.

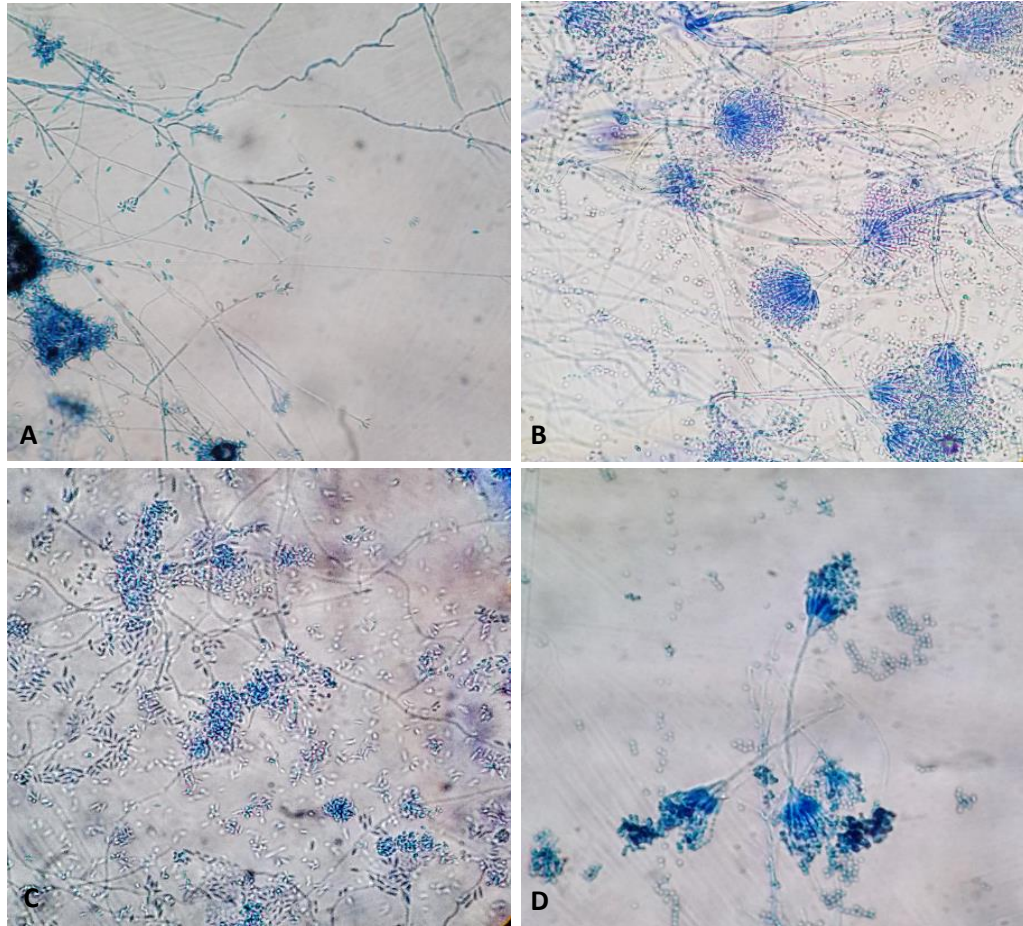


Figura 10. Microfotografías de las principales generos aislados de muestras de aire del edificio FCQ9. A) *Verticillium* sp, B) *Aspergillus* sp. C) *Acremonium* sp, D) *Penicillium* sp. (vistos a 40 x, tinción azul de algodón de Lactofenol).

En relación con diversos estudios llevados a cabo en ambientes interiores, la cantidad de bioaerosoles aislados es distinta, en cuanto a las especies aisladas del aire interior del edificio FCQ9 los resultados coinciden con estudios realizados por Hizri *et al* (2017), Molina-Veloso (2017), Gorny *et al* (2002), Horner *et al* (2004), Cardozo (2015), Maldonado-Vega (2014), Báez *et al* (2014) y Alonso *et al* (2003), los cuales indicaron que los principales contaminantes del aire interior son hongos del género *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Acremonium* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., y levaduras como *Rhodotorula* sp.

En cuanto a las áreas muestreadas, el laboratorio de Microbiología se compone de 2 laboratorios, 3 cubículos, un área de lavado y el almacén de reactivo. El muestreo se procuró

no realizarlo al momento en se tuviera clase de Micología, con el fin de no alterar los resultados de nuestra investigación. Se lograron identificar 4 especies del género *Aspergillus* sp., como se muestra en la gráfica 2, se identificó *Aspergillus nidulans* en un 30%, seguido de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus terreus* con un 20% y *Aspergillus niger* con tan solo el 10%, el 20% restante de las cepas aisladas solo se logró identificar el género (tabla 6).

Hongos aislados	%
<i>Aspergillus terreus</i>	20
<i>Aspergillus nidulans</i>	30
<i>Aspergillus niger</i>	10
<i>Aspergillus flavus</i>	20
<i>Aspergillus</i> sp	20

Tabla 6. Porcentaje de hongos por género y especie aislados de muestras de aire en el laboratorio de Microbiología del edificio FCQ9

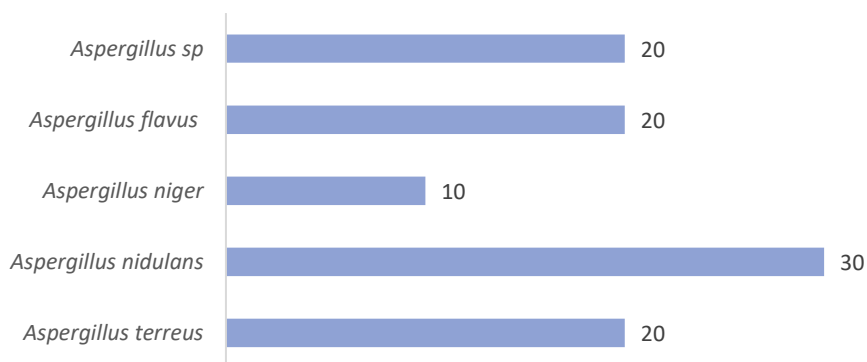


Gráfico 2. Porcentaje de especies de hongos aislados de muestras de aire en el laboratorio de microbiología del edificio FCQ9.

Aspergillus nidulans es un hongo saprófito capaz de sobrevivir en diversos ambientes, es raramente encontrado en pacientes con riesgo de aspergilosis, pero presenta mayor virulencia que *Aspergillus fumigatus* debido a su capacidad de diseminación dentro de pulmones y estructuras adyacentes.

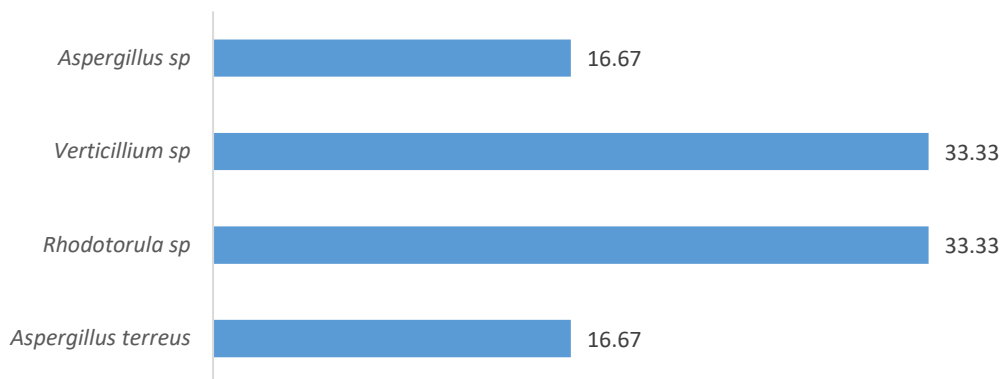


Figura 11. Principal agente contaminante presente en el laboratorio de microbiología A) Cultivo de *Aspergillus nidulans* en agar Dextrosa Sabouraud B) Cabezas aspergiliares de *Aspergillus nidulans* (vistos a 40x, tinción azul de algodón de Lactofenol)

Debido a que se pasa la mayor parte del tiempo en los salones, nuestra segunda área muestreada fue el salón 208, el cual se encuentra en el segundo piso del edificio FCQ9, al abrir las ventanas de este salón, no entra aire del exterior si no del mismo edificio, en dicho salón, se toman alrededor de 6 clases por día con un total de 45 alumnos aproximadamente. Los resultados obtenidos del muestreo de esta área son los siguientes, se aislaron un total de 2 géneros de hongos filamentosos y un género de levadura (Gráfica 3). El 66.67% de los contaminantes aislados en el salón 208 pertenecían a hongos filamentosos, género *Verticillium* sp. (33.33%). Los hongos del género *Verticillium* son hongos saprofitos que afectan principalmente a plantas e insectos, la presencia de este hongo dentro del edificio FCQ9 puede estar relacionada a la presencia de árboles alrededor del edificio en estudio, por último, nos encontramos con las levaduras del género *Rhodotorula* las cuales se aislaron en un 33.33% cuyo porcentaje es mayor al obtenido por Báez *et al*, en 2003, quienes las aislaron en un 13.90%. Las levaduras del género *Rhodotorula* son levaduras que se encuentran comúnmente en el ambiente, principalmente en suelo, leche, jugos y aire, anteriormente esta levadura no se consideraba patógena para el ser humano, sin embargo, tras estudios realizados en los últimos años se ha llegado a la conclusión de que es capaz de causar fungemia en pacientes con sistema inmune comprometido [35]. En cuanto al 33.34% restante pertenece a hongos del género *Aspergillus* sp. y tan solo el 16.67% de éstos son de la especie *Aspergillus terreus* (tabla 7).

Especie	%
<i>Aspergillus</i> sp	16.67
<i>Aspergillus terreus</i>	16.67
<i>Verticillium</i> sp	33.33
<i>Rhodotorula</i> sp	33.33

Tabla 7. Bioaerosoles fúngicos aislados del salón 208 del edificio FCQ9 de la Facultad de Ciencias Químicas



Gráfica 3. Porcentaje de hongos aislados de muestras de aire en el salón 208, edificio FCQ9.

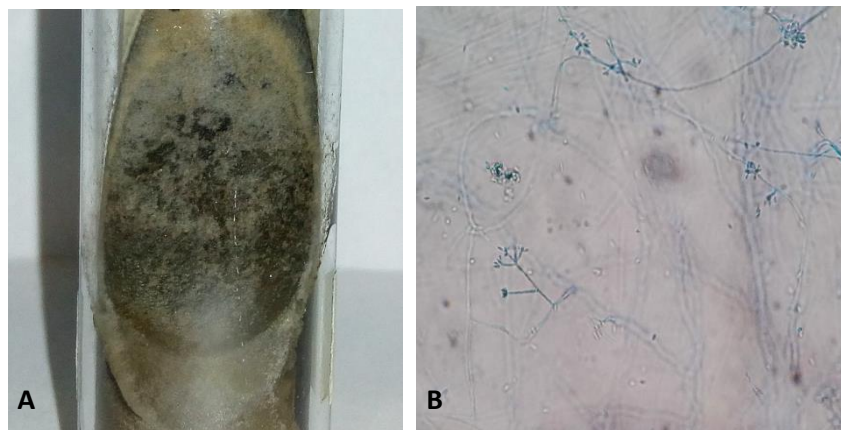


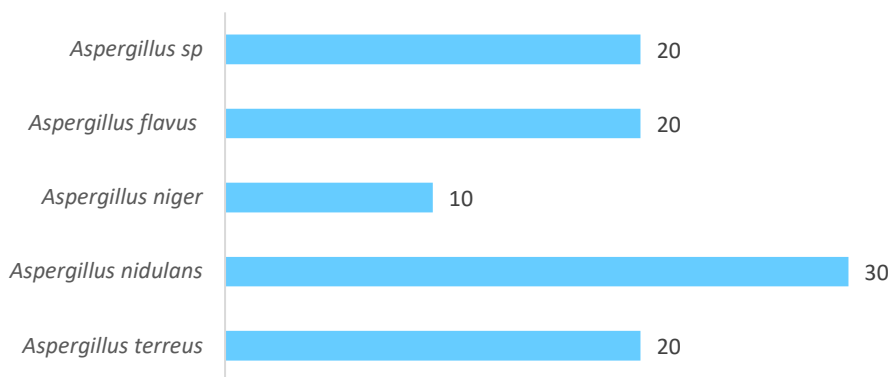
Figura 12. Hongo aislado de muestras de aire del salón 208. A) Colonia de *Verticillium* sp en agar dextrosa Sabouraud. B) Estructuras de *Verticillium* sp vistas a 40x (Tinción azul de algodón de Lactofenol).

En el área de los baños, a pesar de ser un lugar húmedo, con gran carga microbiana y una de las principales áreas generadoras de bioaerosoles dentro del edificio, se lograron aislar en un 100% hongos del género *Aspergillus* sp. (Grafica 4), del cual el 30 % de estos pertenecían a

la especie *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus terreus* en un 20% para cada uno y tan solo el 10 % de estos pertenecía a *Aspergillus niger*, el cual es un hongo filamentoso que se encuentra de forma ubicua en el ambiente capaz de causar infecciones oportunistas en humanos, además juega un papel importante la industria biotecnológica en procesos como la fermentación al producir ácido cítrico [36], del 20% solo se identificó el género (tabla 8).

Especie	%
<i>Aspergillus terreus</i>	20
<i>Aspergillus nidulans</i>	30
<i>Aspergillus niger</i>	10
<i>Aspergillus flavus</i>	20
<i>Aspergillus sp</i>	20

Tabla 8. Especies de hongos del género *Aspergillus* aisladas de muestras de aire en el baño de mujeres del edificio FCQ9



Gráfica 4. Porcentaje de hongos del género *Aspergillus* aislados de muestras de aire en el baño de mujeres del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas-BUAP

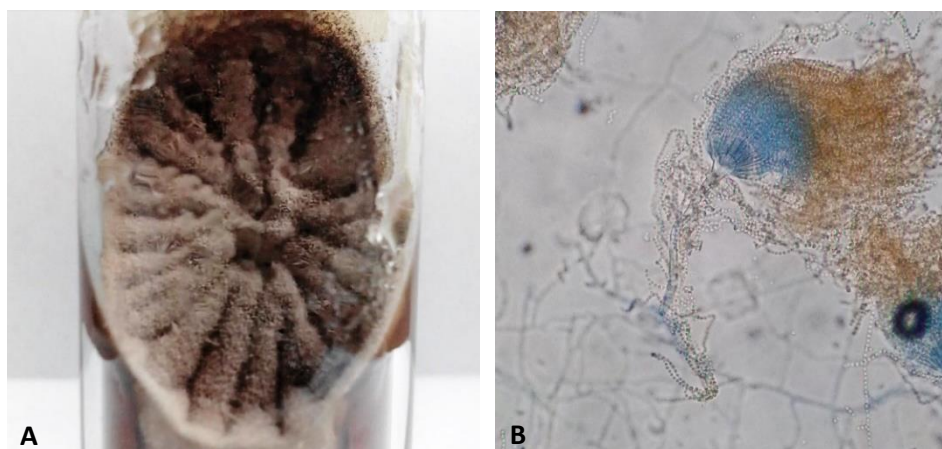


Figura 13. A) Colonia de *Aspergillus terreus* en agar dextrosa Sabouraud, B) Cabeza aspergilar de *Aspergillus terreus* (vista a 40x, tinción azul de algodón de lactofenol).

De acuerdo a la NTP 289, el salón de usos múltiples al ser un área que se encuentra revestida de material textil, con asientos y alfombras es considerada un área en la que pueda existir contaminación biológica. Se encontraron hongos de 2 géneros distintos *Aspergillus* sp. (71.43%) del cual se identificaron 2 especies *Aspergillus fumigatus* (42.86%) (tabla 9), hongo saprofito que juega un papel importante en el reciclaje de carbono y nitrógeno en el ambiente, que además es capaz de sobrevivir en un amplio intervalo de condiciones ambientales, debido a las altas concentraciones de esporas en el ambiente que van de 1-100 conidios/m³ de aire [37], es considerado uno de los principales agentes causantes de aspergilosis invasiva en el 90% de pacientes inmunocomprometidos, puesto que en pacientes sanos los conidios producidos por este hongo son eliminados de manera eficiente por mecanismos de inmunidad innata [38] y *Aspergillus terreus* con un 26.57 % que al igual que las especies anteriores de *Aspergillus*, *Aspergillus terreus* además de ser un hongo causante de infecciones en pacientes con sistema inmune comprometido es capaz de producir metabolitos secundarios como citrinina y patulina, las cuales son perjudiciales para el ser humano, el segundo género de hongos encontrado en el ambiente fue *Penicillium* sp (28.57%) (Gráfica 5). Hongos como *Penicillium* sp. se encuentran comúnmente en el suelo, granos, textiles y en materia orgánica en descomposición, es uno de los principales hongos aislados en ambientes con humedad excesiva, son capaces de provocar alveolitis alérgica, neumonitis por hipersensibilidad y asma en individuos susceptibles.

Hongos aislados	%
<i>Aspergillus terreus</i>	28.57
<i>Aspergillus fumigatus</i>	42.86
<i>Penicillium</i> sp	28.57

Tabla 9. Principales hongos aislados de muestras de aire del salón de usos múltiples en el edificio FCQ9



Gráfica 5. Hongos identificados en el salón de usos múltiples del edificio FCQ9, *Aspergillus fumigatus* aislado en un 42.86 %.

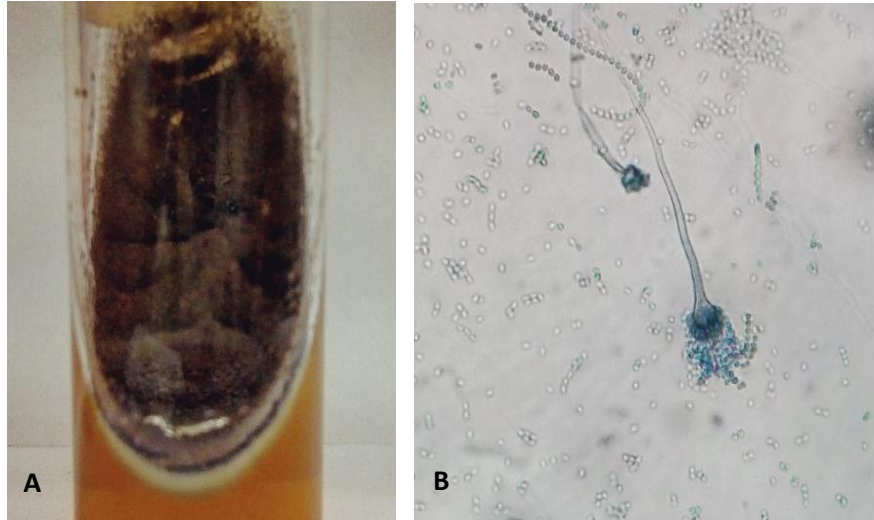
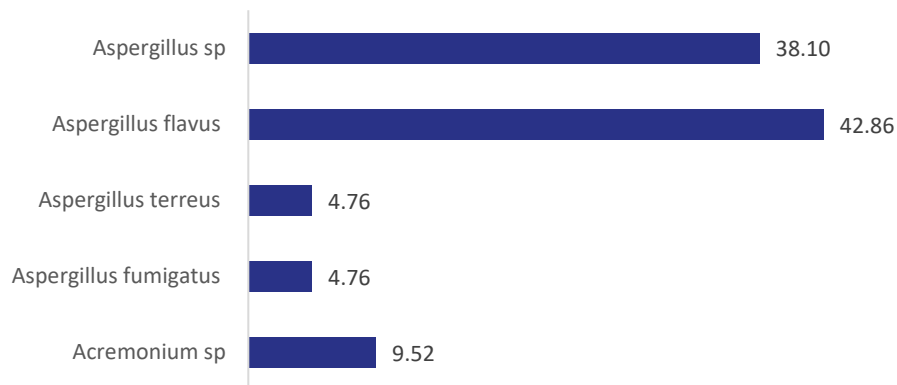


Figura 14. Cultivo y cabezas aspergílicas de *Aspergillus fumigatus*

En cuanto al área del segundo piso, presentó un mayor número de UFC/m³, como se muestra en la gráfica 6, se aislaron principalmente dos géneros de hongos distintos. Los hongos del género *Aspergillus* sp. con un 90.48% son los principales contaminantes en el área siendo *Aspergillus flavus* (42.86%) una de las principales especies aisladas (tabla 10), es la segunda especie causante de infecciones más importante, es capaz de incrementar su concentración en climas cálidos y secos y es uno de los principales productores de aflatoxinas. La presencia de *Aspergillus flavus* en ambientes interiores es considerado un factor de riesgo ya que es causante de aspergilosis, tanto alérgica como invasiva [39], mientras que las especies como *Aspergillus fumigatus* (4.76%) y *Aspergillus terreus* (4.76%) se encuentran en menor proporción, mientras que del género *Acremonium* sp solo se encontró en un 9.52%. Los hongos del género *Acremonium* son hongos saprófitos encontrados principalmente en suelo y materia orgánica muerta, la mayoría son no patógenas, sin embargo, ciertas especies patógenas afectan principalmente a individuos con sistema inmune comprometido, las esporas de *Acremonium* se dispersan por medio del aire, sin embargo, suele estar presente en bajas concentraciones, especies como *Acremonium strictum* y *Acremonium carticola* se han reportado en ambientes interiores [40].

Especie aislada	%
<i>Acremonium</i> sp	9.52
<i>Aspergillus fumigatus</i>	4.76
<i>Aspergillus terreus</i>	4.76
<i>Aspergillus flavus</i>	42.86
<i>Aspergillus</i> sp	38.10

Tabla 10. Hongos aislados del Segundo piso del edificio FCQ9 en la facultad de Ciencias Químicas- BUAP.



Gráfica 6. Porcentaje de especies aisladas en el segundo piso del edificio FCQ9. Principal contaminante *Aspergillus flavus* (42.86%).

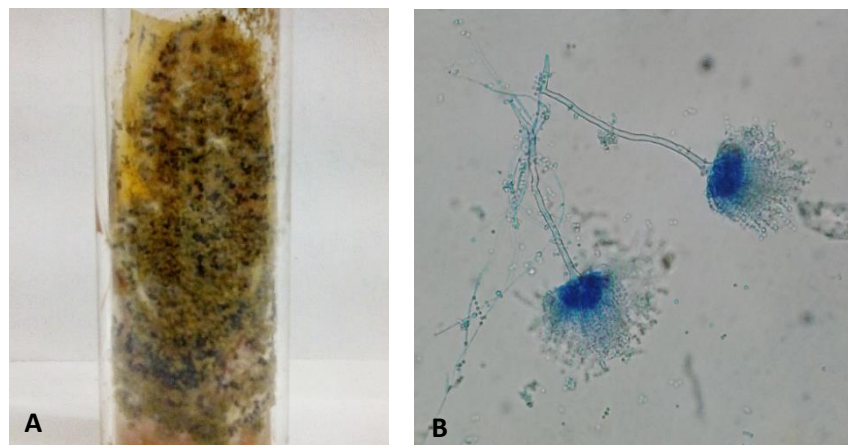


Figura 15. A) Cultivo de *Aspergillus flavus* en agar dextrosa Sabouraud B) cabezas aspergiliares de *Aspergillus flavus* (vistas a 40x, tinción azul de algodón de lactofenol)

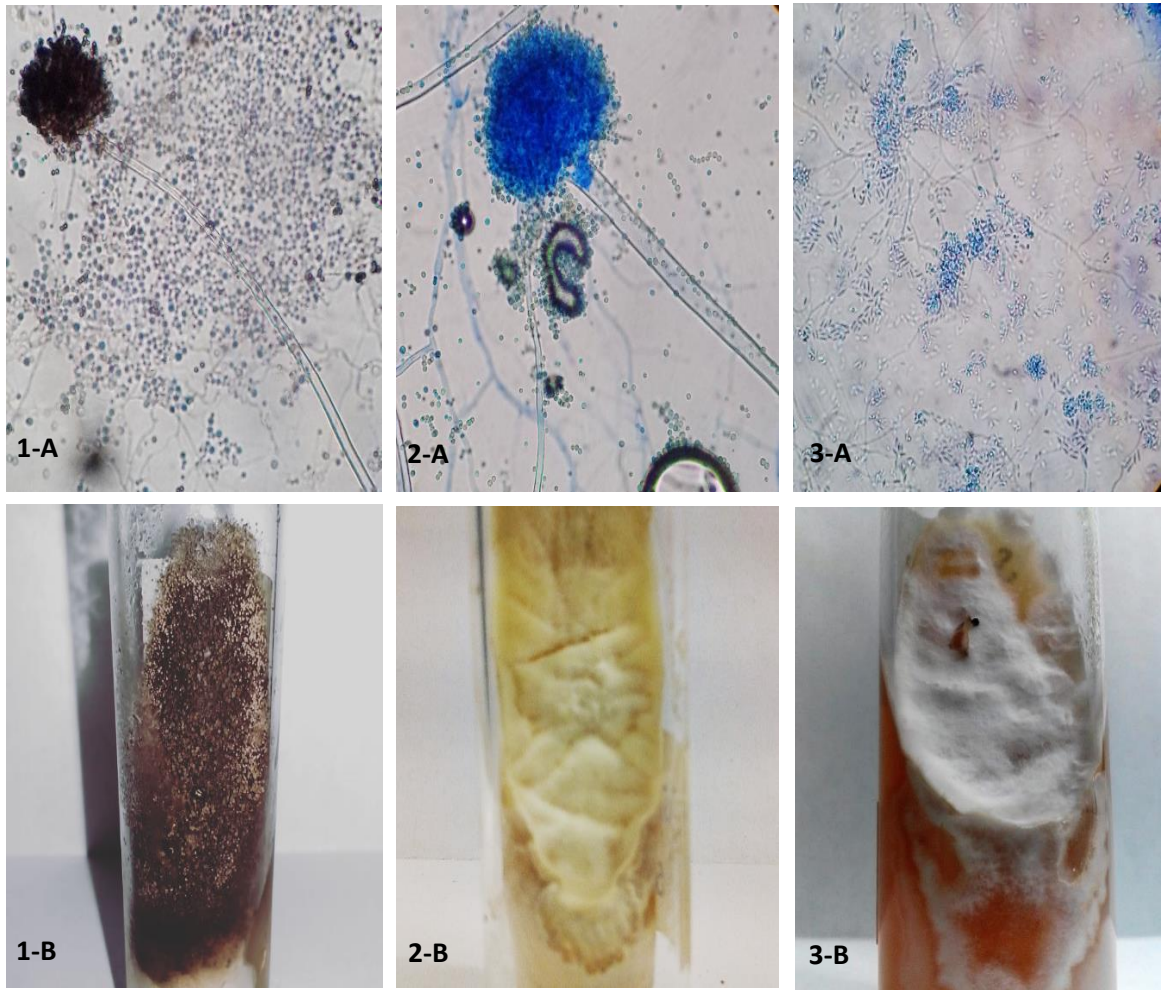


Figura 16. Otros géneros aislados de muestras de aire del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas. 1-A y 1-B) Cultivo y cabeza aspergilar de *Aspergillus niger*, 2-A y 2-B) Cultivo y cabeza aspergilar de *Aspergillus sp.* 3-A y 3-B) Cultivo y microconidios de *Acremonium sp*

Las enfermedades respiratorias transmitidas por aire son frecuentes y uno de los motivos más importantes del ausentismo laboral y escolar. Las esporas fúngicas son causantes principalmente de reacciones de hipersensibilidad que afectan el aparato respiratorio causando enfermedades como rinitis y asma [33]. En la tabla 11 se encuentran las principales enfermedades de hipersensibilidad causadas esporas fúngicas suspendidas en el aire de ambientes interiores.

Enfermedad	Agente	Síntomas
Rinitis alérgica	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Aspergillus</i> sp - <i>Cladosporium</i> sp - <i>Alternaria</i> sp - <i>Penicillium</i> sp - <i>Mucor</i> sp 	<ul style="list-style-type: none"> - Prurito nasal - Estornudos - Rinorrea - Congestión nasal
Asma alérgico	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Aspergillus</i> sp - <i>Cladosporium</i> sp - <i>Alternaria alternata</i> - <i>Penicillium</i> sp 	<ul style="list-style-type: none"> - Tos - Dolor u opresión del pecho - Mucosidad - Fatiga - Sibilancia - Dificultad para respirar
Neumonitis por hipersensibilidad	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Aspergillus</i> sp - <i>Cladosporium</i> sp - <i>Alternaria</i> sp - <i>Acremonium</i> sp - <i>Penicillium</i> sp 	<ul style="list-style-type: none"> - Tos seca - Fiebre - Escalofríos - Disnea
Conjuntivitis alérgica	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Aspergillus</i> sp - <i>Penicillium</i> sp 	<ul style="list-style-type: none"> - Enrojecimiento - Lagrimeo - escozor - Secreción

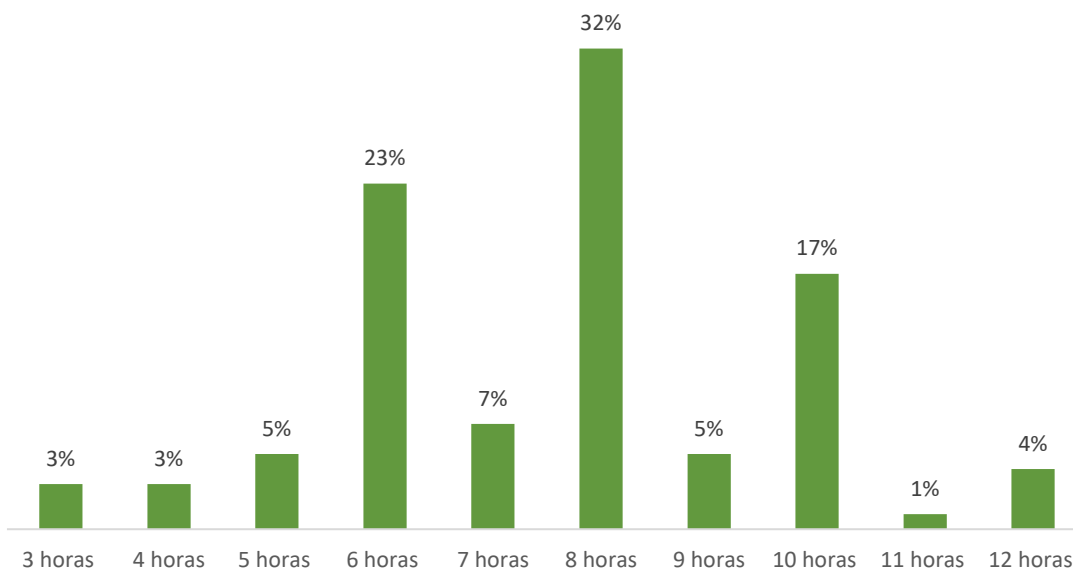
Tabla 11. Principales enfermedades de hipersensibilidad causadas por bioaerosoles fúngicos en ambientes interiores

10.5 Resultados de cuestionarios aplicados

De acuerdo a la NTP 380, durante el mes de febrero se aplicaron cuestionarios 200 simplificados (Anexo B), con el fin de relacionar los síntomas presentados por los ocupantes del edificio con los bioaerosoles fúngicos aislados dentro del mismo. De acuerdo a la información obtenida de los cuestionarios, el edificio permanece de 6 a 10 horas con un mayor número de ocupantes, teniendo que, el 32% de la población estudiantil pasa alrededor de 8 horas en promedio al día dentro del edificio (gráfica 7), el 23% de los ocupantes pasan 6 horas dentro del edificio al día y el 17 % de estos pasan 10 horas dentro del edificio y tan solo el 1% de los ocupantes pasan 11 horas al día dentro del edificio. De acuerdo al número de horas dentro del edificio, los bioaerosoles aislados dentro del mismo y al porcentaje de tiempo que pasamos en espacios cerrados (80 al 90% de tiempo) de acuerdo a la OMS, se aplicaron dichos cuestionarios.

Horas en el edificio	Porcentaje
3 horas	3%
4 horas	3%
5 horas	5%
6 horas	23%
7 horas	7%
8 horas	32%
9 horas	5%
10 horas	17%
11 horas	1%
12 horas	4%
TOTAL	100%

Tabla 12. Horas al día dentro del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP



Gráfica 7. Porcentaje de horas al día dentro del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP

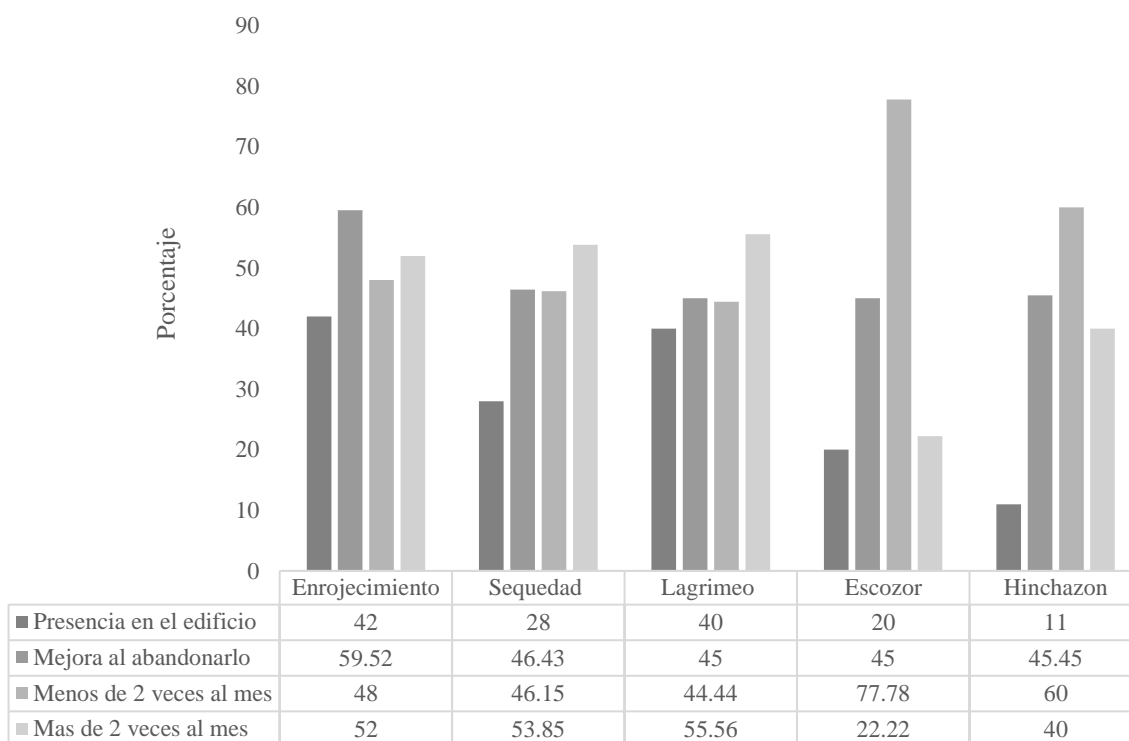
De acuerdo a los resultados obtenidos de los cuestionarios, nos enfocaremos en las respuestas con síntomas positivos como aquellos que aparecen al permanecer dentro del edificio y mejoran al abandonarlo, así como también el número de veces en las que estos síntomas se han presentado durante el último mes (Tabla 13).

Síntomas	Presencia en el edificio (%)	Mejora al abandonarlo (%)	Número de veces en el mes	
			Menos de 2 (%)	Mas de 2 (%)
OJOS				
Enrojecimiento	42	59.52	48	52
Sequedad	28	46.43	46.15	53.85
Lagrimeo	40	45	44.44	55.56
Escozor	20	45	77.78	22.22
Hinchazón	11	45.45	60	40
NARIZ				
Hemorragia	0	0	0	0
Congestión	54	64.81	60	40
Sequedad	25	52	53.85	46.15
GARGANTA				
Sequedad	32	40.63	61.54	38.46
Dolor	16	31.25	20.00	80.00
Escozor	21	66.67	35.71	64.29
TRASTORNOS RESPIRATORIOS				
Dificultad para respirar	20	28.13	55.56	44.44
Tos	25	75	83.33	16.67
Dolor en el pecho	10	9.52	100	0
TRASTORNOS CUTANEOS				
Sequedad	38	34.21	30.77	69.23
Erupciones	22	13.64	33.33	66.67
Escamas	4	25	100	0
Escozor	29	44.83	38.46	61.54

Tabla 13. Porcentaje de ocupantes con síntomas positivos relacionados a su permanencia en el edificio FCQ9.

Como se menciona anteriormente, dichos cuestionarios se aplicaron con el fin de obtener información acerca del estado de salud de los ocupantes del edificio y así relacionar los síntomas que estos presenten con la contaminación por bioaerosoles fúngicos (Tabla 11). Del total de los cuestionarios aplicados se descartaron aquellos que presentaron respuestas negativas a los síntomas mencionados, del total de cuestionarios con respuesta positiva, se descartaron aquellos cuya respuesta fue negativa a la desaparición de los síntomas al

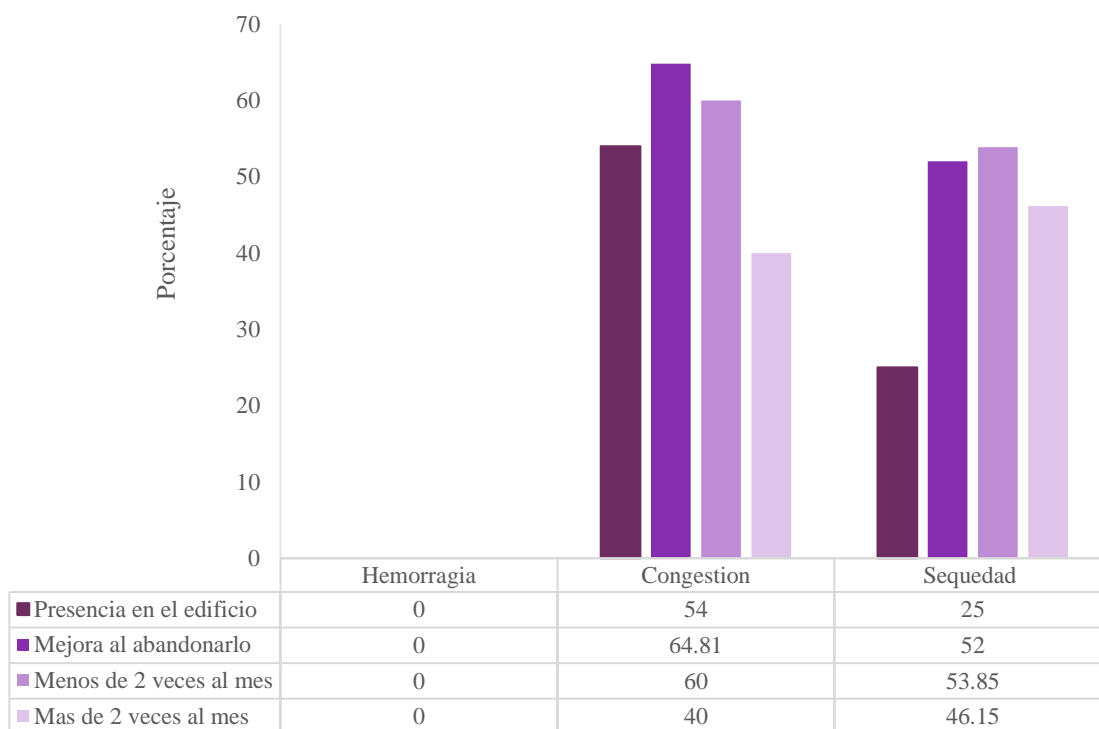
abandonar el edificio, ya que los ocupantes pueden presentar alguna otra enfermedad no relacionada con la permanencia en el edificio FCQ9.



Gráfica 8. Porcentaje de ocupantes con síntomas oculares dentro del edificio FCQ9 de la Facultad de Ciencias Químicas- BUAP

En cuanto a los ocupantes con síntomas oculares, podemos observar que el 42% de estos presentan enrojecimiento de ojos al permanecer dentro del edificio, los síntomas desaparecen en el 59.52 % de los ocupantes y el 52 % afirman haber presentado este síntoma más de 2 veces durante el mes de febrero. Otro de los síntomas con mayor número de casos es el lagrimeo, el cual está presente en el 40 % de la población, y en el 45% de los ocupantes de edificio FCQ9 que presentan el síntoma desaparece al abandonar el edificio y el 55.56 % indicaron que este síntoma lo han presentado más de 2 veces durante el mes. Algunos síntomas como la hinchazón (11%) y el escozor (20%) son menos frecuentes, aunque ambos síntomas desaparecen en un 45% de los ocupantes que lo presentan al momento de abandonar el edificio, como se muestra en la gráfica, estos síntomas solo han ocurrido de 1 a 2 veces durante el mes en un 60 y 77.78% respectivamente. La irritación ocular no solo se debe a la exposición a hongos alergenos y algunos otros componentes como micotoxinas y β -1,3 glucanos que se encuentran en el ambiente, sino también por las partículas emitidas por los

productos de limpieza utilizados en las actividades diarias, de acuerdo a un estudio realizado en 2009 por Caress y Steinemann indicaron que el 19% de la población presentó síntomas de irritación ocular debido a los productos de limpieza [41].

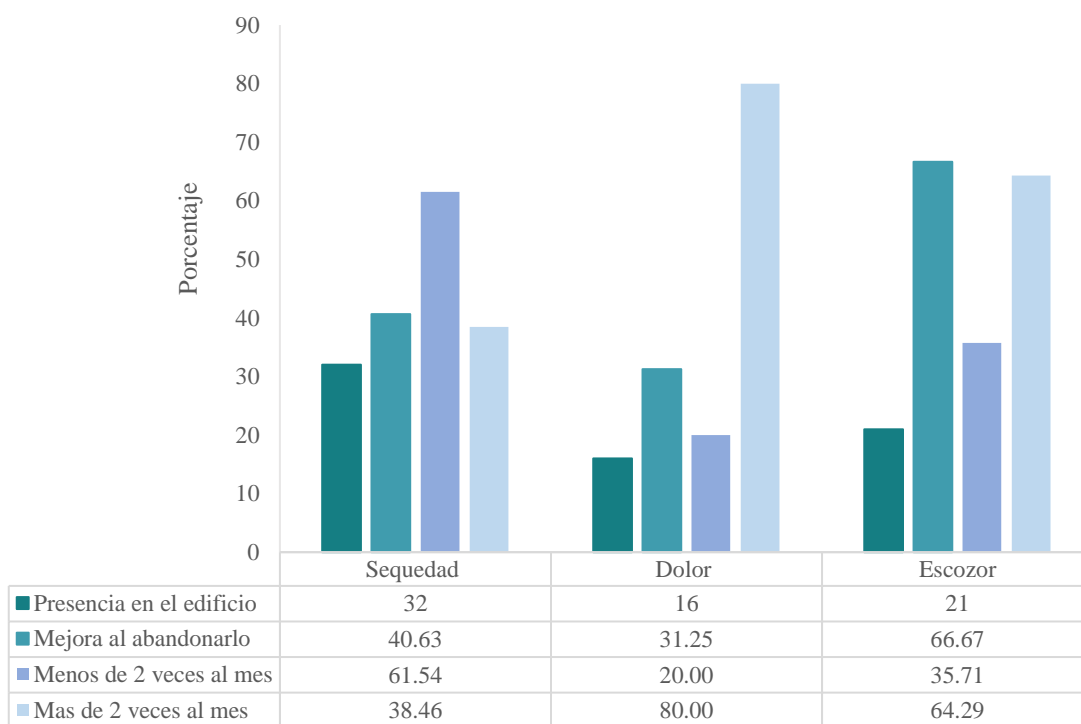


Gráfica 9. Porcentaje de ocupantes con síntomas nasales dentro del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP.

Uno de los principales síntomas relacionados a la exposición a bioaerosoles fúngicos son los síntomas nasales, principalmente la congestión y el escurrimiento nasal. Como se observa en la gráfica 9 dentro del cuestionario aplicado se tomaron en cuenta síntomas como la hemorragia, síntoma que el 100% de la población descarto padecer, por otro lado, síntomas como la congestión y la sequedad nasal se presentaron en un 54% y 25 % de la población, siendo la congestión nasal uno de los síntomas con mayor número de casos.

En el caso de la congestión, dicho síntoma se presentó en un 54% de la población del edificio FCQ9, el 64.81 % de quienes presentan este síntoma mencionan que desaparece al momento de abandonar el edificio, el 40 % de quienes presentan este síntoma indicaron que ha ocurrido más de 2 veces durante el mes, sin embargo, se ha presentado en de 1 a 2 veces durante el mes en el 60% de los ocupantes, cabe mencionar que debe considerarse como uno de los

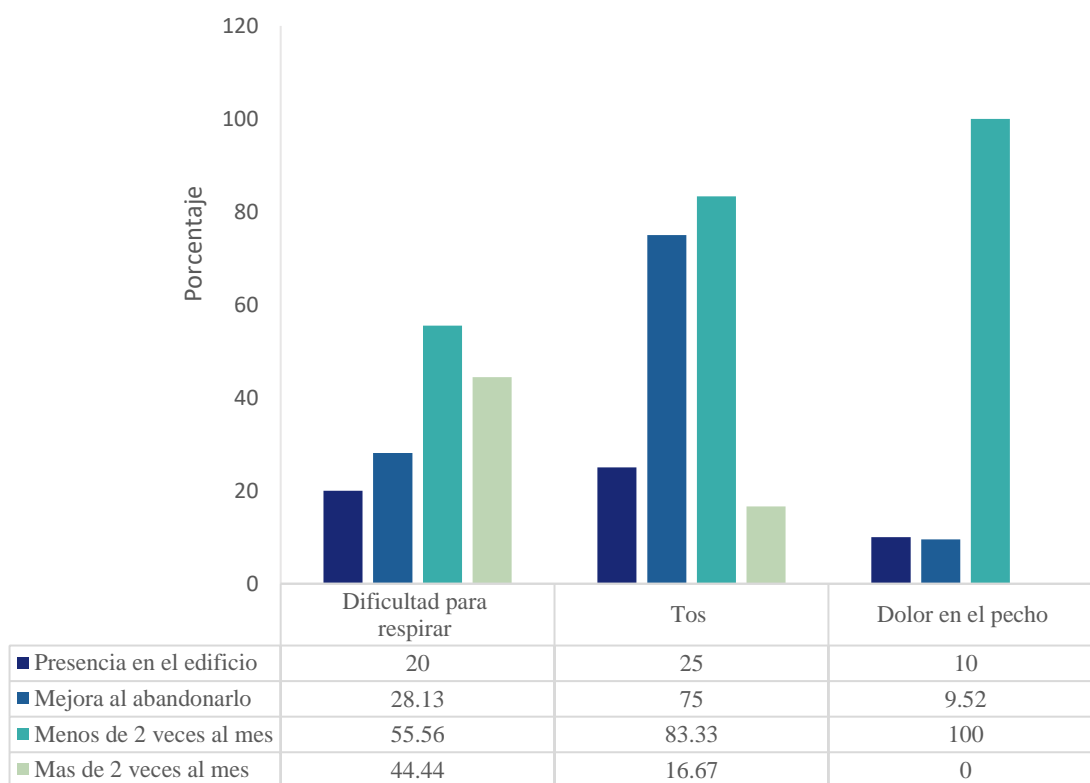
principales síntomas desarrollados debido a la exposición a bioaerosoles fúngicos, ya que hongos alérgenos como *Penicillium*, *Aspergillus*, entre otros, así como algunos componentes de la pared de los hongos son causantes de alteraciones en el sistema inmunológico, alérgenos como el polen, el cual generalmente proviene del exterior también es causante de congestión nasal. La rinitis tanto alérgica como no alérgica presentan síntomas como goteo nasal, escozor, estornudos y congestión nasal producidos principalmente por inflamación en la mucosa nasal, la cual es causada por hongos, polen, productos químicos, humo de tabaco y en ocasiones por bajas temperaturas. Por otro lado, la sequedad de la mucosa nasal se ha presentado en 25 % de la población de la cual, el 52% refiere mejorar al abandonar dicho edificio, del mismo modo este síntoma se ha presentado de 1 a 2 veces a lo largo del mes en un 53.85 % de los ocupantes del edificio. Algunos otros contaminantes como el CO₂ proveniente tanto del exterior como de estufas, refrigeradores y humo del tabaco en bajas concentración es capaz de causar síntomas respiratorios en individuos sanos [41].



Gráfica 10. Porcentaje de ocupantes con síntomas como sequedad, dolor y escozor en garganta dentro del edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas.

De acuerdo a la gráfica 10, el 32% de la población presenta síntoma de sequedad en la garganta de la cual el 40.63% refiere mejorar al abandonar el edificio, de dicha población el

61.54 % indicaron que su síntoma se ha presentado de 1 a 2 veces al mes, mientras que el 38.46 % mencionaron que ha ocurrido en más de 2 ocasiones. El escozor o irritación en la garganta se ha presentado en un 21% del cual el 66.67 % de los casos mejoran al salir del edificio, mencionado síntoma se ha presentado en un 64.29 % más de 2 veces al mes. Por otro lado, el síntoma de dolor en la garganta lo han presentado el 16% de la población, de la cual el 31. 25% ha indicado que el síntoma desaparece en el momento en el que desaloja el edificio, como se puede observar en la gráfica 10, el 80% de la población ha presentado este tipo de síntoma más de 2 veces durante el mes de febrero.



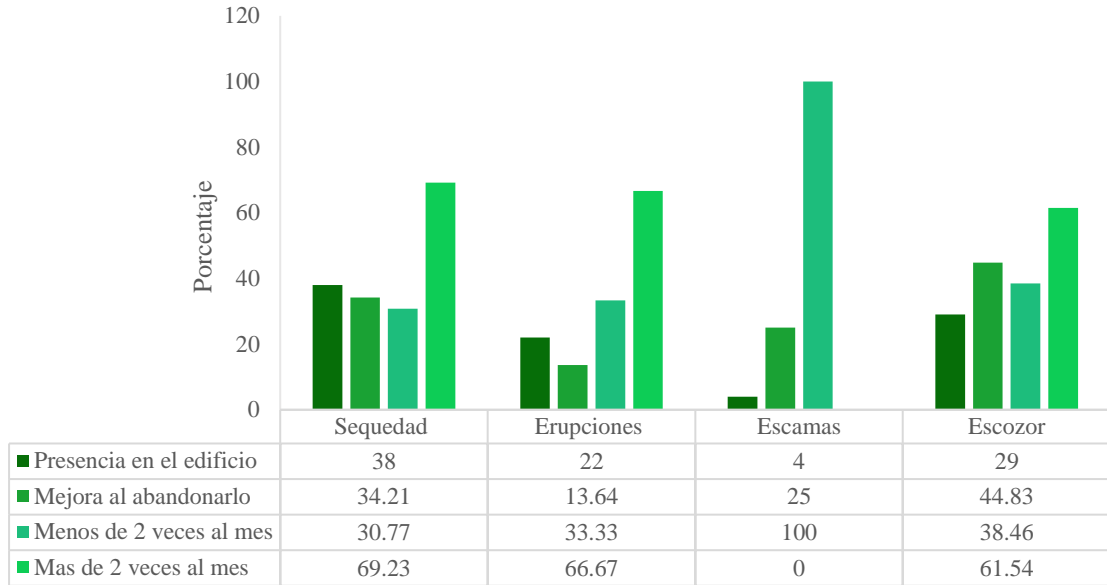
Gráfica 11. Porcentaje de ocupantes con trastornos respiratorios durante su estancia en el edificio FCQ9 de la facultad de Ciencias Químicas- BUAP.

Los síntomas relacionados al aparato respiratorio son considerados como principales indicadores de contaminación por bioaerosoles fúngicos debido a que muchos de estos microorganismos producen conidios que desencadenan reacciones de hipersensibilidad en quienes se encuentran expuestos a ellos. Los síntomas respiratorios de origen laboral se deben principalmente a inflamaciones en vías respiratorias, dicha inflamación es causada

principalmente por la exposición a toxinas, alérgenos o algún otro agente causante de inflamación [42].

Podemos observar que la tos se presenta en un 25% de la población del edificio FCQ9, de la cual el 75% ha indicado mejorar al momento de abandonar el edificio, lo cual ha ocurrido de 1 a 2 veces durante el mes en un 83.33% de los casos. Otro de los síntomas relacionados al aparato respiratorio es la dificultad para respirar, que, aunque solo se ha presentado en el 20% de los ocupantes, el 28.13% han indicado que su síntoma desaparece al salir del edificio a ocurrido de 1 a 2 veces por mes (55.56%). El síntoma con menor frecuencia en los ocupantes del edificio en cuanto a los trastornos respiratorios es el dolor en el pecho, el cual solo se ha presentado en un 10%, dicho síntoma desaparece en el 9.52% al momento de abandonar el edificio, mismos que han indicado que ha ocurrido de 1 a 2 veces durante el mes. La contaminación ambiental por hongos se ha relacionado con la prevalencia de asma, enfermedad en la cual ocurre una reducción reversible en el diámetro de los bronquios debido a una inflamación, la cual también puede ser producida por estímulos como el estrés, ansiedad, cambios de temperatura y la inhalación de sustancias irritantes, la exacerbación de la enfermedad es causada principalmente por componentes de hongos como ergosterol y β -1, 3 glucanos, provocando síntomas como sibilancias, tos, dificultad para respirar y opresión torácica. De acuerdo a Mendell *et al*, en 2011 han indicado que la presencia tanto de humedad como de hongos, se han asociado a la aparición de infecciones respiratorias afectando principalmente a niños y adultos (OR alcanza el 1.50) [42]. En estudios realizados por Øie *et al* (1999), Bornehag *et al* (2001), Kilpeläinen *et al* (2001), Zheng *et al* (2002), Zock *et al* (2002) y Hwang, Jaakkola, (2005) la mayoría de los síntomas respiratorios principalmente la tos, infecciones respiratorias y las sibilancias se asocian a altos niveles de humedad en interiores.

Por último, se encuentran las alteraciones en la piel la cual es considerada la primera barrera que protege al organismo de diversos agentes químicos y de infecciones producidas por microorganismos siempre y cuando no existan lesiones que alteren su integridad, así como también lo protege de efectos producidos por la luz, calor y frío, además de que controla la pérdida de agua en el organismo.



Gráfica 12. Porcentaje de ocupantes con trastornos cutáneos durante su permanencia en el edificio FCQ9 de la Facultad de Ciencias Químicas- BUAP.

De acuerdo a las respuestas obtenidas por parte de los ocupantes del edificio, la sequedad en la piel es uno de los mayores problemas ya que el 38 % mencionó presentarla durante su estancia en el edificio, de la mencionada población el 34.21% indicó que mejora al abandonar el edificio y ha ocurrido más de 2 veces al mes (69.23%). El escozor o irritación es uno de los principales síntomas que aquejan a los ocupantes (29%), el 44.83% de los ocupantes que presentan el síntoma han indicado que mejora al momento de salir del edificio y más de 2 veces al mes en un 61.54 % de los casos. La piel escamosa es uno de los síntomas con menor frecuencia entre los ocupantes del edificio ya que solo el 4% de la población menciona padecerlo, sin embargo, en el 25% de los casos éste desaparece al momento de salir del edificio y ha ocurrido de 1 a 2 veces durante el mes.

El número de materiales y productos que causan alteraciones cutáneas son variables, haciendo que las dermatosis oscilen entre un ligero eritema a una alteración del color en la piel, principalmente se clasifican en categorías como agentes mecánicos, biológicos y químicos, las exposiciones a agentes biológicos como bacterias, hongos o virus pueden provocar infecciones en la piel, ejemplo de ello la dermatomicosis, la cual es una infección fúngica puede empeorar si se encuentran afectadas las uñas, la hiperhidrosis es considerada un factor predisponente, ya que la sudoración excesiva en plantas de pies y palmas de las

manos puede macerar la piel aumentando la vulnerabilidad de esta, a infecciones tanto fúngicas como bacterianas [44].

Con base a los resultados obtenidos a partir de los cuestionarios aplicados (Tabla 13), podemos comprobar que el edificio FCQ9 presenta el síndrome del edificio enfermo, debido a que sus ocupantes presentan síntomas como congestión nasal (54%), enrojecimiento de ojos (42%) y lagrimeo (40%) durante su estancia en el edificio y en más del 40% de los casos estos desaparecen al momento de abandonar el edificio. Estos síntomas no solo son causados por contaminantes biológicos, sino también por contaminantes químicos debido a que dentro del edificio también se trabaja con sustancias químicas.

Es importante mencionar que la prevalencia del síndrome del edificio enfermo se asocia principalmente a las altas concentraciones de esporas de *Aspergillus* sp., debido a que son hongos altamente alérgicos causantes de enfermedades respiratorias como asma bronquial y rinitis alérgica [45].

11. CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos del presente trabajo de investigación, se ha concluido que en el edificio FCQ9 identificado como la principal área de estudio, la contaminación por bioaerosoles fúngicos en todas las áreas del edificio es la misma.

Se aislaron de 28 a 62 UFC/m³ de hongos en aire, contaminación que se encuentra por debajo de los límites permitidos por la OMS y INSST, siendo *Aspergillus flavus* el mayor contaminante.

Se encontraron hongos alérgenos de los géneros *Aspergillus* sp, y *Penicillium* sp. Se identificaron hongos considerados patógenos como *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus flavus*, cabe mencionar que su virulencia dependerá del estado inmunológico de los individuos presentes en el edificio.

En cuanto a los cuestionarios aplicados, se ha identificado al edificio FCQ9 con el síndrome del edificio enfermo ya que más del 20% de los ocupantes presenta algún síntoma relacionado a la mala calidad de aire interior, provocada no solo por la contaminación de aerosoles biológicos si no también, por aerosoles de naturaleza química.

Entre el 10 y el 55% de la población presenta síntomas respiratorios, la mayoría relacionados a la contaminación por hongos causantes de hipersensibilidad y enfermedades respiratorias.

Debido a que los síntomas referidos por los ocupantes del edificio no solo se deben a la presencia de esporas de hongos como *Aspergillus* sp., si no también a la presencia de otros contaminantes se recomienda realizar un monitoreo completo de la calidad del aire interior del edificio en cuestión.

12. BIBLIOGRAFÍA

- [1] United States Environmental Protection Agency. (2018). *Indoor Air Quality (IAQ)*. Washington DC, EU. U.S. Environmental Protection Agency. Recuperado de <https://www.epa.gov/indoor-air-quality-iaq/inside-story-guide-indoor-air-quality>.
- [2] Berenguer, M.J. (1992). *NTP 289: Síndrome del edificio enfermo: factores de riesgo*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo.
- [3] Berenguer, M.J., Martí, M.C. (1994). *NTP 243: Ambientes cerrados: calidad del aire*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo.
- [4] United States Department of labor. (2015). *Healthcare*. Washington DC, EU. Occupational Safety and Health Administration. Recuperado de <https://www.osha.gov/SLTC/healthcarefacilities/index.html>.
- [5] Hernández, A., Martí, M.C. (1994). *NTP 203: Contaminantes biológicos: evaluación en ambientes laborales*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo.
- [6] Cox, C., Wathes, C. (1995). *Bioaerosols handbook*. Boca Raton. Lewis Publisher.
- [7] Olalla, R., Mateo, M. (2008). *Alergias. Los ácaros del polvo doméstico*. Revista OFFARM ámbito farmacéutico. 27:56-67.
- [8] Vega, G. (2009). *Antígenos e inmunógenos*. Revista de la Facultad de Medicina UNAM. 52: 41-42.
- [9] WHO/ Cohen, A. (2009). *WHO guideline for indoor quality: dampness and mould*. WHO Regional office for Europe, Dinamarca.
- [10] Bonifaz, A. (2012) *Micología médica básica* 4º Edición. México. McGraw Hill Interamericana Editorial.
- [11] Arenas, R. (2014). *Micología médica ilustrada* 5ª Edición. México. McGraw Hill Interamericana Editorial.
- [12] Alonso, T.; Ruiz, D.; Martínez, J.; García, Y.; Álvarez, R.; Whong-Chio, M; Vertiz-Chavez, E., Tay, J. (2003). *Aislamiento de hongos en instalaciones deportivas de la UNAM*. Revista de la Facultad de Medicina UNAM.46:93-96. México.
- [13] Esquivel, P.; Mangiaterra, M.; Sosa, G. (2000). *Hongos anemófilos de las ciudades de corrientes y resistencia*. Instituto de Medicina Regional. Argentina.
- [14] Báez, M., Gaxiola, P., Diaz, S., Uribe, M., De la Cruz, M., Osuna, I., Tiznado, M. (2014). *Fungal spore concentrations in indoor and outdoor air in university libraries*,

- and their variations in response to changes in meteorological variables.* International Journal of Environmental Health Research. 24: 320-340.
- [15] International Organization for Standardization. (2014). *Indoor air. Part 32: Investigation of buildings of the occurrence of pollutants* (ISO 16000-32:2014).
- [16] American Society of Heating Refrigerating and Air- Conditioning Engineers. (2018). *ASHRAE Standards and Guidelines*. Atlanta, Georgia. ASHRAE. Recuperado de https://www.techstreet.com/ashrae/ashrae_standards.htm
- [17] Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. (2018). *Documentación: Notas Técnicas de Prevención*. España. INSST. Recuperado de <http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.1f1a3bc79ab34c578c2e8884060961ca/?vgnextoid=361b78266ab1c210VgnVCM1000008130110aRCRD&vgnnextchannel=d b2c46a815c83110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD>
- [18] Agencia de Normalización Española. (2005). *Higienización de sistemas de climatización*. Asociación Española de Normalización y Certificación. Madrid.
- [19] De la O, M. (2015). *NTP 1604: Calidad del aire interior. Contaminantes biológicos (I): estrategia de muestreo*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo.
- [20] De la O, M. (2015). *NTP 1605: Calidad del aire interior. Contaminantes biológicos (II): Tipos de muestreo*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo.
- [21] Horner, W., Worthan, A., Morey, P. (2004). *Air- and dustborne mycoflora in houses free of water damage and fungal growth*. Applied and environmental microbiology. 70:6394-6400.
- [22] Maldonado-Vega, M., Peña-Cabriales, J., De los Santos, S., Castellanos-Arévalo, A., Camarena-Pozos, D., Arévalo- Rivas, B., Valdés-Santiago, L., Hernandez-Valadez, L., Guzmán de Peña, D. (2014). *Bioerosoles y evaluación de la calidad del aire en dos centros hospitalarios ubicados en León, Guanajuato, México*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 30: 351- 363.
- [23] Cardozo, R., Araque, L. (2015). *Caracterización de bioerosoles en tres edificaciones administrativas de Bogotá, 2012- 2013*. Revista Ciencia en desarrollo. 6: 41-54
- [24] Li, Y., Wang, W., Guo, X., Wang, T., Fu, H., Zhao, Y., Wang, W. (2015). *Assessment of airborne bacteria and fungi in various university indoor environments: a case study in Chang'an University, China*. Environmental engineering science. 32: 273-283.

- [25] Molina-Veloso, A., Borrego-Alonso, S. (2017). *Hongos alergénicos viables en un depósito documental del Archivo Nacional de Cuba*. Revista Alergia México. 64:40-51
- [26] Hizri, A., Nabilah, M., Nurul Amni, Z., Shahida, N., Maryam Z., Hazrin, A., Mohd Faez, S. Mohd Shukri, M. (2018). *Indoor air quality (IAQ) characteristics and its microbial community identifications at two selected schools in Pahang, Malaysia: a preliminary study*. Asian Journal of agricultura and biology. Special Issue: 88-96.
- [27] Hernández, A. (2001). *NTP 608: Agentes biológicos: planificación de la medición*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo.
- [28] Hernández, A. (2001). *NTP 609: Agentes biológicos: equipos de muestreo (I)*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo.
- [29] Martí, M.C. (1999) *NTP 299: Método para el recuento de bacterias y hongos en aire*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo.
- [30] Solé, M. D., Pérez., J. (1999) *NTP 380: El síndrome del edificio enfermo: cuestionario simplificado*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo.
- [31] Martí, M.C., Alonso, R., Aubert, A. (1998). *NTP 488: Calidad del aire interior: Identificación de hongos*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo.
- [32] Martí, M.C. (1998) *NTP 409: Contaminantes biológicos: criterios de valoración*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo.
- [33] De la Rosa, M., Mosso, M., Ullán, C. (2002). *El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos*. 5: 375-402.
- [34] Quian, J., Hospodsky, D., Yamamoto, N., Nazaroff, W., Peccia, J. (2012). *Size-resolved emisión rates of air borne bacteria and fungi in an occupied classrom*. Indoor Air. 22:339- 351.
- [35] Wirth, F., Goldani, L. (2012). *Epidemiology of Rhodotorula: an emerging pathogen*. Hindawi publishing corporation Interdisciplinary Perspective on Infectious Diseases. 2012: 1-7.
- [36] Baker, S. (2006). *Aspergillus niger genomics: past, presente and into the future*. Medical mycology. 44: S17-S21.
- [37] Latgé, J. (2001). *The pathobiology of Aspergillus fumigatus*. Trends in microbiology. 9: 382- 389.

- [38] Latgé, J. (1999). *Aspergillus fumigatus and aspergillosis*. Clinical microbiology reviews. 12: 310- 350.
- [39] Hedayati, M., Pasqualotto, A., Warn, P., Bowyer, P., Denning, D. (2007). *Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer*. Microbiology. 153: 1677-1692.
- [40] Samson, R., Hoekstra, E., Frisvad, J. (2004). *Introduction to food and airborne fungi* 7 th. Baarn, Centralalbureau voor Schimmellcultures, 389 pp.
- [41] Carazo, L., Fernández, R., González-Barcala, F., Rodríguez, J. (2012) *Contaminantes del aire interior y su impacto en las patologías respiratorias*. Archivos de bronconeumonía. 49: 1- 40.
- [42] Hernández, A. (2008). *NTP 802: Agentes biológicos no infecciosos: enfermedades respiratorias*. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo.
- [43] Mendell, A., Miren, K., Cheung, K., Tong, M., Douwes, J. (2011). *Respiratory and allergic health effects of dampness mold and dampness- related agents: a review of the epidemiologic*. Environ health perspect. 119: 748-756.
- [44] Birmingham, D. (2017). *El cuerpo humano: enfermedades de la piel*. Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Barcelona. Chantal Dufresne, Pp:12.2- 12.21.
- [45] Mandal, J., Brandl, H. (2011). *Bioaerosols in indoor enviroment: a review with special reference to residential and ocupational locations*. The open environmental &biological monitoring journal. 4: 83-96.

13. ANEXOS

13.1 Anexo A. Siembra de microcultivos

Material:

Placas de Petri estériles con un portaobjeto, un cubre objeto y una varilla de vidrio en forma de “V”.

Medio de cultivo Borelli.

Asas micológicas.

Procedimiento:

Con ayuda de un bisturí, fragmentar el medio de cultivo en cuadros de aproximadamente 1 x 1 cm. En la base de una placa de Petri colocar una varilla de vidrio en forma de “V” y sobre esta un portaobjeto, sobre uno de los extremos del portaobjetos colocar un cuadro de 1cm de Agar Borelli e inocular el hongo en estudio e inmediatamente colocar un cubreobjetos.

Agregar de 10 a 15 ml de agua estéril, sellar la placa con cinta adhesiva e incubar a una temperatura de 25 a 28 °C durante un periodo de 7 a 15 días.

***Medio Borelli (Lactrimel)**

- Harina de trigo 14 g
- Leche en polvo 14 g
- Miel 7g
- Agar bacteriológico 20 g
- Agua destilada 1000mL

Preparación:

Mezclar los ingredientes y esterilizar en autoclave a una temperatura de 121 °C a 15 lb durante 15 minutos.

Uso:

Conservación y producción de pigmentos de dermatofitos y para esporulación de hongos dematiáceos

13.2 Anexo B. Cuestionario simplificado [30].

Género:

Edad:

Fecha:

Horas que permanece en el edificio:

Anote solo aquellos síntomas o molestias que haya experimentado durante su permanencia en el edificio en el último mes y que mejoren al abandonar el edificio.

Síntomas	Presencia		Mejoran al abandonar el edificio		Número de veces en el último mes		
Ojos							
Enrojecimiento	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Sequedad	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Lagrimo	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Escozor	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Hinchazón	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Nariz							
Hemorragia	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Congestión	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Sequedad	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Garganta							
Sequedad	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Dolor	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Escozor	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Trastornos respiratorios							
Dificultad para respirar	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Tos	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Dolor en el pecho	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Trastornos cutáneos							
Sequedad	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Erupciones	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Escamas	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2
Escozor	Si	No	Si	No	0	Menos de 2	Más de 2

Número de síntomas positivos:

13.3 Anexo C. ANOVA de un solo factor.

Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna No todas las medias son iguales

Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	66.67	16.67	0.69	0.617
Error	10	242.67	24.27		
Total	14	309.33			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
4.92612	21.55%	0.00%	0.00%

Medias

Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
A	3	9.33	9.71	(3.00, 15.67)
B	3	7.333	1.155	(0.996, 13.670)
C	3	10.00	4.36	(3.66, 16.34)
D	3	4.67	2.08	(-1.67, 11.00)
E	3	10.333	1.528	(3.996, 16.670)

Desv.Est. agrupada = 4.92612