



Revista CENIC. Ciencias Biológicas

ISSN: 0253-5688

editorial.cenic@cnic.edu.cu

Centro Nacional de Investigaciones

Científicas

Cuba

Molina-Veloso, Alian; Borrego, Sofía F.; Ortega, Diana B.
Potencialidades biodeteriorantes y patogenicas de hongos anemófilos ambientales
frecuentes en ambiente de archivos y museos cubanos.
Revista CENIC. Ciencias Biológicas, vol. 48, núm. 3, septiembre-diciembre, 2017, pp. 69-
80
Centro Nacional de Investigaciones Científicas
Ciudad de La Habana, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181253610002>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Potencialidades biodeteriorantes y patogenicas de hongos anemófilos ambientales frecuentes en ambiente de archivos y museos cubanos.

Alian Molina-Veloso, Sofía F. Borrego y Diana B. Ortega.

Archivo Nacional de la República de Cuba. Compostela 906 esquina a San Isidro, La Habana Vieja, Habana Cuba. alainmolina807@gmail.com . alian@arnac.cu

Recibido: 17 de febrero de 2017.

Aceptado: 3 de mayo de 2017.

Palabras clave: hongos anemófilos, biodeterioro, patógeno oportunista, conservación patrimonial, caracterización fisiológica

Key words: anemophilous fungi, biodeterioration, opportunistic pathogen, heritage conservation, physiological characterization.

RESUMEN. Los hongos presentes en instituciones de interés patrimonial constituyen un serio problema para la conservación de las colecciones. En investigaciones relacionadas con el tema, la micobiota contaminante se ha estudiado mayoritariamente desde el punto de vista cuantitativo y cualitativo. Son aún escasos los trabajos de caracterización fisiológica de plagas fúngicas en archivos y museos. El objetivo del trabajo fue evaluar potencialidades biodeteriorantes y patogénicas en cepas de hongos ambientales correspondientes a taxones aislados frecuentemente en instituciones patrimoniales cubanas. Se determinó semicuantitativamente la actividad celulolítica, amilolítica y proteolítica de las cepas; así como la producción de ácidos orgánicos y pigmentos. Se evaluó la capacidad de crecimiento a 37 °C, además de la secreción de exoenzimas hemolisinas y fosfolipasas. Todas las cepas mostraron al menos un atributo biodeteriorante, mientras el 92 % mostraron atributos patogénicos. En relación con lo anterior, las cepas más peligrosas resultaron las pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, entre ellas las especies: *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. phoenicis*, *Penicillium citrinum* y *P. janczewskii*. Estos estudios aportan información valiosa sobre las características de la micobiota ambiental de estos ecosistemas, facilitan la elaboración de planes de conservación preventiva para las colecciones, contribuyen a esclarecer la fenomenología del biodeterioro de los materiales y tributan a la prevención de enfermedades ocupacionales.

ABSTRACT. Fungi in institutions of heritage interest are a serious problem for the conservation of collections. In research related to this subject, the contaminating mycobiota has been studied from a quantitative and qualitative point of view. Only a few studies of physiological characterization of fungal pests in archives and museums have been performed. The aim was to evaluate biodeteriogenic and pathogenic potential in strains of environmental fungi corresponding to taxa frequently isolated in Cuban heritage institutions. The cellulolytic, amylolytic and proteolytic activity of the strains was determined semi-quantitatively; as well as the production of organic acids and pigments. The ability to grow at 37 °C was evaluated, in addition to the secretion of exoenzymes hemolysins and phospholipases. All evaluated strains showed at least one biodeteriorating attribute, while 92 % showed pathogenic attributes. In relation to the above, the most dangerous strains are those belonging to the genus *Aspergillus* and *Penicillium* including the species: *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. phoenicis*, *Penicillium citrinum* and *P. janczewskii*. These studies provide valuable information about the characteristics of the environmental mycobiota of these ecosystems, facilitate the development of preventive conservation plans for collections, help to clarify the phenomenology of biodeterioration of materials and contribute to the prevention of occupational diseases.

INTRODUCCIÓN

Desde finales del pasado siglo se han realizado infinidad de estudios de la micobiota ambiental tanto de interiores como de exteriores. Se han descrito varios géneros y especies en ambientes domiciliarios y ocupacionales, así como la dinámica de la micobiota atmosférica en diferentes regiones del planeta.¹⁻⁷

A diferencia de los estudios de caracterización fisiológica profunda realizados a cepas de interés clínico (patógenos primarios), biotecnológico e industrial, la mayoría de las investigaciones se han enfocado en la cuantificación y clasificación taxonómica. Dicha información ha sido útil para diversos fines como diagnosticar la calidad ambiental (hongos como bioindicadores), predecir la aparición de plagas agrícolas, evaluar el riesgo potencial de afectaciones a alimentos y materiales o dar seguimiento a los propágulos de determinados hongos alérgicos.⁸⁻¹⁵ Son minoritario

aquellos estudios donde se ha llevado a cabo una caracterización fisiológica de la micobiota ambiental que permita relacionar de forma precisa su impacto en el deterioro de materiales así como en la calidad de vida.

En investigaciones relacionadas con la conservación de patrimonio documental y museológico, la micobiota contaminante igualmente se ha estudiado mayoritariamente desde el punto de vista cuantitativo y cualitativo. Resultan aún escasos los trabajos de caracterización fisiológica de plagas fúngicas en archivos, museos y bibliotecas y la realización de los mismos se centra mayoritariamente en países desarrollados.¹⁶⁻²² El elevado costo de materiales, equipamiento e infraestructura, la carencia de metodologías y la falta de expertos (biólogos, microbiólogos o micólogos) en las instituciones son algunos de los principales obstáculos para las investigaciones.

Los hongos presentes en instituciones de interés patrimonial constituyen un serio problema para la conservación de las colecciones al ser capaces de colonizar una amplia variedad de sustratos si las condiciones de temperatura y humedad relativa son propicias. El papel, la madera y los textiles están entre los materiales más abundantes en las obras y más afectados por el biodeterioro fúngico.

La exposición durante la jornada laboral a altas dosis de propágulos fúngicos puede causar en el equipo de trabajo reacciones alérgicas, asma, micosis oportunistas y otras enfermedades ocupacionales mediadas por diversos factores de virulencia propios de cada grupo, taxón o cepa.^{23,24}

Entre las especies más representativas del bioaerosol y los sustratos en archivos y museos cubanos se han reportado representantes de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Nigrospora*, *Chaetomium*, *Paecilomyces* y *Alternaria*; siendo los representantes de los tres primeros géneros los de mayor prevalencia.^{15-18,25-30}

La amplia diversidad de la micobiota en estos ambientes, su dinámica y su respuesta fisiológica ante condiciones ambientales cambiantes, evidencia la necesidad de realizar estudios de caracterización fisiológica que permitan esclarecer la fenomenología del biodeterioro, obtener datos de rigor científico comparables entre sí para minimizar el impacto de los hongos contaminantes en el deterioro de las colecciones y la salud del personal implicado en su salvaguarda.^{23-25,28,31}

El objetivo de este estudio fue evaluar potencialidades biodeteriorantes y patogénicas de cepas de hongos anemófilos correspondientes a taxones aislados frecuentemente en instituciones patrimoniales cubanas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas de estudio

Se seleccionaron 27 cepas de hongos filamentosos pertenecientes a la Colección de Cultivos Microbianos del Laboratorio de Conservación Preventiva del Archivo Nacional de la República de Cuba (ARNAC). Estas fueron aisladas a partir de estudios realizados en archivos y museos cubanos durante el año 2015. En aquel momento fueron identificadas taxonómicamente y depositadas en la colección. Todas las cepas son de especies de los géneros: *Aspergillus* P. Micheli ex Haller, *Cladosporium* Link y *Penicillium* Link. Para la selección, se tuvo en cuenta que en estudios realizados en varias instituciones patrimoniales cubanas, representantes de estas especies y géneros se han reportado entre los más abundantes del ecosistema.^{5, 15, 18, 26-28}

Determinación semicuantitativa de la actividad biodeteriorante

Actividad exoenzimática

Para cuantificar la actividad exoenzimática (Ae) celulolítica, amilolítica, proteolítica, así como la actividad hemolítica y fosfolipasa se utilizó la siguiente fórmula:³²

$$Ae = 1 - Dc / Dca$$

Donde Dc es el diámetro de la colonia y Dca es la suma de Dc y el diámetro del halo de hidrólisis. Los valores entre 0,5 y 0,59 se clasificaron como Ae baja, entre 0,6 y 0,69 Ae moderada y por encima de 0,7 de alta.

Actividad celulolítica

Se inocularon las cepas en placas Petri que contenían un medio agarizado, cuya composición salina para un litro fue: nitrato de sodio 2 g, fosfato de potasio 1 g, sulfato de magnesio 0,5 g, sulfato ferroso 0,01 g, cloruro de potasio 0,5 g y extracto de levadura 0,5 g. Como fuente de carbono se añadió carboximetilcelulosa (1 %) y se incubaron a 28 °C. Transcurrido siete días, se agregó a cada una de las placas una solución de rojo congo (0,05 gL⁻¹) durante una hora, luego se decantó esa solución y se añadió NaCl al 1 Mol/L por 10 min.³³ La actividad celulolítica se evidenció por la formación de un halo blanco alrededor de la colonia.

Actividad amilolítica

Se preparó en placas Petri un medio agarizado de composición salina similar al empleado en la prueba anterior. Como fuente de carbono se adicionó almidón (1 %). Después de incubar durante 7 días a 28 °C, se vertió sobre cada placa de cultivo una solución de reactivo Lugol. La presencia de un halo incoloro alrededor de las colonias evidenció la hidrólisis del almidón.^{34,35}

Actividad proteolítica

Las cepas se inocularon en placas que contenían un medio de cultivo agarizado de composición salina similar al empleado para la determinación de la actividad celulolítica, con gelatina como fuente de carbono (1 %). Las cepas se

incubaron a 28 °C, la lectura de la prueba se realizó a los 7 días de incubación con la adición del reactivo de Frazier. Un precipitado blanco alrededor de la colonia (halo) indicó la presencia de gelatina no hidrolizada y la ausencia de este, hidrólisis de la gelatina.³⁶

Excreción de ácidos orgánicos

Se inoculó 0,1 ml de una suspensión de conidios de cada cepa en un caldo de cultivo de composición salina similar al medio empleado para determinar actividad celulítica. Como fuente de carbono se utilizó glucosa (1%), el pH se ajustó a 7 y se adicionó 0,3 gL⁻¹ de rojo fenol como indicador. Los cultivos se incubaron a 28°C por 3 días y posteriormente se midió el pH del caldo con un pH metro (Pacitronic MV 870, USA), cuya precisión es de $\pm 0,2$ unidades. El resultado positivo se corroboró por el cambio de coloración del indicador rojo fenol (de rojo a amarillo) y la detección de valores de pH menores que 7.³⁵

Determinación semicuantitativa de la actividad patogénica

Actividad hemolítica

Las cepas fueron sembradas en un medio de cultivo base de Agar Czapeck suplementado con cloranfenicol (0,05 %). Una vez dicho medio estuvo estéril y fresco (45 °C), se agregó en forma aseptica por cada 95 ml del mismo, 5 mL de sangre de carnero desfibrinada y se vertió la mezcla en placas Petri. Las placas inoculadas se incubaron a 28 °C durante siete días. La actividad hemolítica se evidenció por la aparición de un halo verdoso o transparente alrededor de la colonia en el medio de color rojo.³²

Actividad fosfolipasa

Las cepas en estudio se sembraron en un medio de cultivo agarizado cuya composición para 500 ml fue peptona bacteriológica 5 g, glucosa 10 g, cloruro de sodio 29,25 g y cloruro de calcio 2,28 g. Se ajustó el pH del medio a 4 y luego de esterilizado, se añadieron 2 yemas de huevo en forma aseptica. Posteriormente se incubaron las placas a 28 °C durante siete días. La actividad se evidenció mediante la aparición de un halo transparente alrededor de la colonia en el medio amarillo claro, producto del precipitado que forman las sales.³²

Potencialidad de crecimiento radial a 37 °C

Cada cepa se inoculó en una placa Petri de 90 mm que contenía Agar Dextrosa de Saboraud como medio de cultivo, luego se incubó durante siete días a 28 y 37 °C³⁷. Concluido el período de incubación, se midió el diámetro de las colonias a las dos temperaturas.

Análisis Biométricos

Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se procesaron con el programa estadístico Statgraphics Centurion XV. Las variables de repuesta fueron los valores promedio (n=3) de índices de actividad exoenzimática, pH y crecimiento a 28 y 37 °C. Se hizo análisis de probabilidad mediante prueba de Kolmogorov-Smirnov y se compararon los resultados por el método de Múltiples Rangos por diferencias mínimas cuadradas (LSD) para un 95% de confianza ($p \leq 0,05$). Posteriormente se buscó la similitud entre las cepas de las especies fúngicas por análisis de conglomerados con distancia euclidiana aplicando el método del vecino más cercano.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Atributos biodeteriorantes de las cepas

Los principales atributos biodeteriorantes de las cepas fúngicas para afectar las colecciones documentales y museológicas fueron evaluados *in vitro*. Para ello se determinó de forma semicuantitativa la Ae de cada una de ellas sobre las principales biomoléculas que conforman los materiales. Además, se evaluó la capacidad de excretar al medio metabolitos biodeteriorantes, en este caso ácidos orgánicos y pigmentos difusibles (Tabla 1).

El análisis de la Ae evidenció que existen diferencias estadísticamente significativas entre géneros, especies e incluso cepas de una misma especie (Tabla 1). La micobiota ambiental es diversa y dinámica, así como amplia y versátil es la maquinaria metabólica de cada uno de sus integrantes. Por ello los estudios de caracterización de la misma enfocados al biodeterioro deben realizarse de forma puntual y sistemática.

La carboximetilcelulosa y la gelatina fueron las biomoléculas más asimiladas al evaluarse como únicas fuentes de carbono (96 % de las cepas). Se evidenció así la notable capacidad de estos hongos ambientales para secretar complejos enzimáticos de celulasas y proteasas. Varios autores cubanos, que han estudiado la micobiota de interiores, plantearon que entre las cepas caracterizadas (provenientes de ambientes donde abundan los sustratos celulósicos), los representantes de los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium* tuvieron la capacidad de crecer utilizando la celulosa como única fuente de carbono.^{25-28, 38,39}

El empleo en este estudio de un método semicuantitativo para evaluar la Ae permitió determinar que de forma general los representantes de *Penicillium* spp. mostraron una actividad celulolítica significativamente mayor que las cepas de *Aspergillus* y *Cladosporium* (Tabla 1).

Específicamente destacaron *Penicillium wortmannii* y *Aspergillus chevalieri*, ambos con un índice de actividad celulolítica (IAC) de 0,72, clasificada como Ae alta sobre dicho polímero. En contraparte, *Cladosporium oxysporum* no mostró la capacidad de secretar celulasas. El resto de las cepas mostraron Ae celulasa entre moderada y baja.

En el caso de la actividad gelatinasa sobresalieron *Cladosporium cladosporioides* 2 y *C. oxysporum*, con un índice de actividad proteolítica (IAP) en ambos casos de 0,70 (Ae alta). Mientras que *Aspergillus chevalieri* fue la única cepa que resultó negativa a esta prueba, el resto de los aislados mostraron Ae proteolítica entre moderada y baja (Tabla 1). Parece ser que bajo determinadas condiciones algunas especies de *Cladosporium* (entre ellas varias predominantes en el aire) pudieran ser mejores degradadores de gelatina que *Aspergillus* y *Penicillium* que usualmente suelen sobresalir en estudios similares a este, tal es el caso de representantes de los grupos taxonómicos *Aspergillus flavus* y *A. niger* además de las especies *Penicillium citrinum* y *P. chrysogenum*.^{25, 26, 34, 40}

En condiciones ambientales adecuadas de temperatura y humedad, *Cladosporium* puede crecer y colonizar una amplia variedad de sustratos, entre ellos los de naturaleza proteica. Además, debe tenerse en cuenta que estos hongos se encuentran entre los predominantes en ambientes exteriores e interiores de Cuba durante gran parte del año, de este hecho no están exentos los locales de archivos y museos. Esto implica que los representantes del género pueden constituir una seria amenaza para las colecciones de fotografía y otros documentos que estén conformados por materiales de naturaleza proteica.

En general estos resultados coinciden con lo referido por Borrego y Rodríguez⁴⁰ quienes al caracterizar fisiológicamente varias cepas de *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium* reportaron la producción de proteasas. Otros autores reportan la actividad proteolítica en hongos filamentosos como una de las más frecuentes.^{25, 26, 41}

La celulosa se encuentra entre los componentes principales del papel, el cartón, los textiles y la madera; brinda rigidez y resistencia en estos materiales. Mientras la gelatina, es constituyente de muchos materiales que conforman los documentos, tal es el caso de las encuadernaciones de libros en cuero, el pergamino, las fotografías y las películas cinematográficas. La capacidad de los hongos contaminantes para utilizar estas biomoléculas como fuente nutricional causa daños graves en colecciones documentales y museológicas en todo el mundo.^{15- 31,42-44}

El almidón es otro componente importante del papel, la madera y algunos textiles, se encuentra además en la goma y los aprestos que se suelen utilizar en las encuadernaciones de los libros, en las labores de restauración de los documentos y montaje de instalaciones.⁴⁵ La degradación de este polímero se evidenció en un 92 % de las cepas estudiadas. En este caso la cepa que mostró mejor producción de amilasas fue *Cladosporium tenuissimum* con un índice de actividad amilolítica (IAA) de 0,65 (Ae media). Por el contrario, *Aspergillus chevalieri* y *A. niger* no mostraron actividad alguna. Entre las Ae biodeteriorantes evaluadas, la actividad amilolítica fue la menos evidente (Tabla 1).

Las actividades exoenzimáticas evaluadas sobre las principales biomoléculas que conforman los soportes de origen orgánico, demostraron que las cepas caracterizadas en este estudio, cuentan con un amplio potencial enzimático biodegradador. Materiales como el papel, cartulina, textiles, madera y cuero que conforman documentos y piezas museológicas pueden ser afectados seriamente por estos hongos si entran en contacto con ellos y existen condiciones idóneas para su desarrollo. Rodríguez y cols.²⁶ quienes realizaron una caracterización fisiológica cualitativa similar a la llevada a cabo en este trabajo en aislados de *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium*, apuntaron que constituyen géneros fúngicos con un potencial enzimático muy amplio, lo cual además está en correspondencia con los resultados obtenidos por otros autores.^{21, 25, 30, 36, 38, 46, 47}

Cuando crecen sobre un sustrato, la mayoría de los hongos filamentosos liberan ácidos orgánicos que hidrolizan los enlaces β -1,4-glicosídicos (hidrólisis ácida) desintegrando las fibras de celulosa. Lo anterior contribuye de forma significativa al amarillamiento y debilitamiento de materiales como el papel.⁴² Además, en presencia de ácidos se potencia la Ae de muchas enzimas como celulasas, amilasas y proteasas.⁴⁷ Desde el punto de vista ecológico, la acidificación del soporte por especies colonizadoras primarias de los géneros estudiados facilita la colonización por otros hongos (generalmente acidófilos) propiciando que ocurran sucesiones ecológicas y se formen biopelículas que deteriorarán el material hasta destruirlo completamente.⁴⁸ Los resultados de este estudio mostraron que el 100% de los hongos excretaron ácidos orgánicos al medio de cultivo líquido donde se realizó la prueba (Tabla 1).

En este aspecto destacaron las cepas del grupo taxonómico *Aspergillus niger* con una disminución del pH del medio por debajo de 4. Algunos autores han referido que los representantes del género *Aspergillus* son buenos productores de ácidos.^{49,50} Además, el crecimiento en forma de microcolonias (tal y como crecen sobre materiales como el papel) favorece la producción de ácidos en especies de *Aspergillus* como las de la sección Nigri.⁵¹

Tabla 1. Resultados de las pruebas fisiológicas realizadas a 27 cepas de hongos filamentosos de géneros y especies frecuentes en archivos y museos cubanos para evaluar las potencialidades biodeteriorantes sobre varios materiales que conforman las colecciones.

Procedencia de la cepa	TAXA	Degradación de celulosa		Degradación de almidón		Degradación de proteínas		Excreción de ácidos (pH)	Excreción de pigmentos
		Ae	IAC	Ae	IAA	Ae	IAP		
Documento	<i>Aspergillus candidus</i> Link	+	0,54 cdef	+	0,56 fg	+	0,63 ghi	6,05 j	-
Documento	<i>A. carbonarius</i> (Bainier) Thom	+	0,51 bcde	+	0,50 b	+	0,52 b	3,44 abc	-
Documento	<i>A. chevalieri</i> Mangin	+	0,72 l	-	0 a	-	0 a	5,09 g	-
Aire depósito	<i>A. flavus</i> Link	+	0,51 bcd	+	0,53 c	+	0,57 de	5,09 g	-
Aire depósito	<i>A. flavus</i> var. <i>columnaris</i> 1 Raper y Fennel	+	0,52 bcde	+	0,55 de	+	0,60 ef	5,33 ghi	-
Aire depósito	<i>A. flavus</i> var. <i>columnaris</i> 2	+	0,53 bcde	+	0,55 ef	+	0,60 ef	5,81 j	+(amarillo)
Aire depósito	<i>A. niger</i> van Tieghem	+	0,51 b	-	0 a	+	0,50 b	3,29 ab	-
Aire depósito	<i>A. oryzae</i> (Ahlburg) Cohn	+	0,53 bcde	+	0,57 fgh	+	0,56 d	5,13 g	-
Documento	<i>A. parasiticus</i> Speare	+	0,59 ghi	+	0,62 mn	+	0,62 fgh	3,87 cde	-
Documento	<i>A. phoenicis</i> (Corda) Thom	+	0,51 bc	+	0,50 b	+	0,52 bc	3,17 a	-
Aire exterior	<i>Cladosporium chlorocephalum</i> (Fres.) Mason y Ellis	+	0,56 fg	+	0,58 hij	+	0,67 ijklm	5,29 gh	+(verde oscuro)
Aire depósito	<i>C. cladosporioides</i> 1 Fres. De Vries	+	0,53 bcde	+	0,61 lm	+	0,69 mno	5,20 ghi	-
Aire exterior	<i>C. cladosporioides</i> 2	+	0,54 def	+	0,60 lm	+	0,70 o	5,26 hij	+(verde oscuro)
Aire depósito	<i>C. coralloides</i> Yamam	+	0,56 fg	+	0,61 kl	+	0,68 lmno	5,66 ghi	-
Aire exterior	<i>C. herbarum</i> (Pers.) Link	+	0,59 ghi	+	0,55 ef	+	0,66 hijkl	5,29 gh	+(verde oscuro)
Aire depósito	<i>C. lignicola</i> Corda	+	0,54 ef	+	0,61 lm	+	0,67 jklm	5,22 g	-
Aire depósito	<i>C. minourae</i> Iwatsu	+	0,58 gh	+	0,61 lm	+	0,69 lmno	5,11 ghi	-
Aire depósito	<i>C. oxysporum</i> Berk y Curtis	-	0 a	+	0,59 ijk	+	0,70 no	6,02 j	+(pardo)
Aire depósito	<i>C. tenuissimum</i> Cooke	+	0,57 fg	+	0,65 o	+	0,67 jklmn	5,71 ij	-
Documento	<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	+	0,65 jk	+	0,62 n	+	0,69 lmno	4,15 ef	-
Aire depósito	<i>P. citrinum</i> Thom	+	0,61 hi	+	0,58 ghi	+	0,65 hijk	4,02 de	+(amarillo)
Aire depósito	<i>P. griseofulvum</i> Direkx	+	0,66 k	+	0,56 efg	+	0,69 lmno	3,55 abcd	-
Aire depósito	<i>P. janczewskii</i> 1 K. M. Zalesky	+	0,62 ij	+	0,58 ij	+	0,68 klmno	3,47 abc	+(amarillo)
Aire depósito	<i>P. janczewskii</i> 2	+	0,62 ij	+	0,59 jk	+	0,67 jklm	4,51 f	+(amarillo)
Aire depósito	<i>P. janthinellum</i> Biourge	+	0,57 fg	+	0,57 jhi	+	0,61 fg	3,92 cde	-
Aire depósito	<i>P. waksmanii</i> K.M. Zalessky	+	0,62 ij	+	0,56 fg	+	0,67 jklm	3,63 abcd	-
Aire depósito	<i>P. wortmannii</i> Klocker	+	0,72 l	+	0,62 lmn	+	0,64 ghij	3,91 cde	-

Ae: actividad exoenzimática; +: Actividad enzimática positiva, produce pigmentos; -: Actividad enzimática negativa, no produce pigmentos; IAC: Índice de actividad celolítica; IAA: Índice de actividad amilolítica; IAP: Índice de actividad proteolítica. Valores de pH<7 implica producción de ácidos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre cepas, para los valores de una misma columna, $p \leq 0,05$. +: produjo pigmentos; -: no produjo pigmentos

Entre los atributos biodeteriorantes evaluados en este estudio, la excreción de pigmentos fue el menos evidenciado (30 % de las cepas). La producción de pigmentos difusibles por parte de los hongos, debe tenerse en cuenta como un factor deteriorante importante. Las afectaciones estéticas que causan en las colecciones son casi siempre irreversibles y constituye uno de los problemas más graves que origina la contaminación microbiológica.⁵² Se ha relacionado además este fenómeno con la resistencia de determinadas cepas a métodos de desinfección físicos y químicos⁵³. En este aspecto destacaron cepas de los géneros *Cladosporium* y *Penicillium*, reportados ampliamente en la bibliografía como productores de pigmentos.^{54, 55, 56}

Atributos patogénicos de las cepas

La capacidad individual de un microorganismo para causar afecciones en otros organismos depende de una serie de mecanismos conocidos como factores de virulencia o atributos patogénicos.³⁷ Tales atributos van a determinar el grado de patogenicidad de determinado agente microbiano. Algunas de las principales potencialidades patogénicas de las cepas fúngicas estudiadas que pueden afectar la calidad de vida del personal que labora en archivos y museos (expuestos a altas concentraciones de propágulos fúngicos durante la jornada laboral) se evaluaron *in vitro*.

El crecimiento de los hongos a 37 °C, es un factor de virulencia necesario e imprescindible para considerar una cepa fúngica potencialmente patógena, debido a que esta es la temperatura corporal del hombre y otros animales homeotermos³⁷. El desarrollo bajo esta condición posibilita la invasión de superficies epiteliales, endoteliales y vasos sanguíneos. Según Rementería y cols.⁵⁷ la expresión de algunos genes que intervienen en mecanismos invasivos ocurre a dicha temperatura. De las 27 cepas evaluadas 16 crecieron a 37 °C lo que representó un 59% del total. No crecieron a esta temperatura *Aspergillus chevalieri* y *Penicillium wortmannii*, además de ninguna de las especies del género *Cladosporium*. Este resultado concuerda con lo reportado por Molina y cols.²⁸ y Borrego y cols.⁴¹ en estudios realizados con cepas provenientes de ambientes interiores de archivos. La mayoría de los hongos ambientales, no son capaces de desarrollarse a temperaturas superiores a los 32°C⁵³. No obstante, existen algunas especies cuyas temperaturas óptimas de crecimiento incluyen los 37 °C. Es probable que estas especies desplieguen todo su potencial fisiológico a temperatura corporal, cuestión que sin duda alguna los convierte en patógenos oportunistas con potencialidades invasivas, más peligrosos que aquellos que a pesar de desarrollarse bajo dicha condición no lo hagan de forma óptima (Fig. 1).

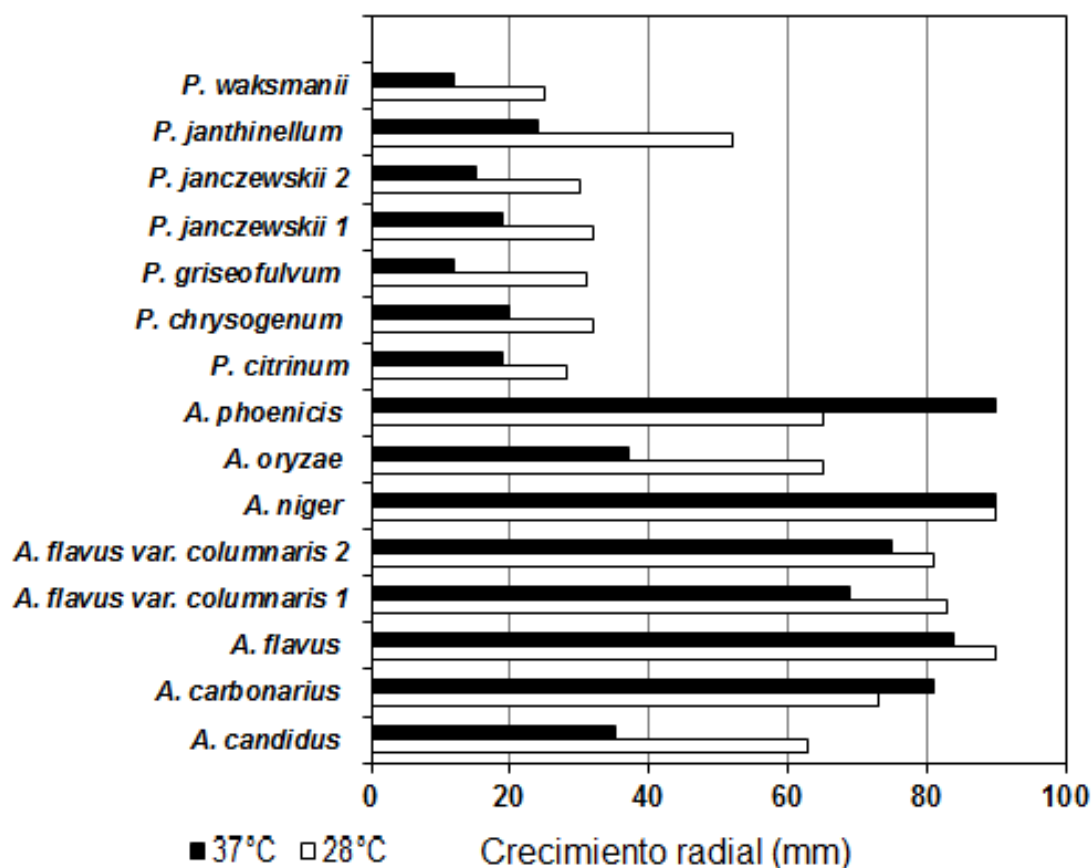


Fig. 1. Comparación de crecimiento radial en Agar Dextrosa de Saboraud a 28 y 37°C de las 15 cepas de hongos filamentosos de géneros y especies frecuentes en archivos y museos cubanos que, en este estudio, se desarrollaron a ambas temperaturas.

Los propágulos fúngicos en el aire pueden ser inhalados y causar micosis sistémicas oportunistas y endémicas, así como alergias.²³ El personal que permanece en depósitos de archivos, bibliotecas y museos durante la jornada laboral, puede estar expuesto a gran cantidad de esporas fúngicas sobre todo por la tendencia de éstas a adherirse a las partículas de polvo. Especialmente aquellas capaces de alcanzar los sacos alveolares (diámetro inferior a 3-4 μm) pueden germinar, atravesar su pared y dar lugar a un proceso invasivo, siempre y cuando sean capaces de resistir a los mecanismos de defensa del huésped.^{53,58} Es, por tanto, el tamaño de esporas y conidios un importante factor de virulencia, especialmente en cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* (Tabla 2). El 70 % de las cepas estudiadas produjeron conidios que pueden ser arrastrados durante la inspiración hasta los alvéolos pulmonares. En este aspecto destacaron las cepas de *Penicillium* donde las ocho especies tienen un diámetro conidial inferior a los 4 μm . Algunas de ellas como *Penicillium citrinum* y *P. griseofulvum* se han relacionado con episodios de queratitis, infecciones en el tracto urinario y en pacientes leucémicos e inmunocomprometidos complicaciones con micosis sistémicas.⁵⁵

En el caso de *Aspergillus* spp., especies como *A. parasiticus* y *A. flavus*, de notable capacidad invasiva en hospederos humanos susceptibles, presentaron esta característica (conidios $\leq 4 \mu\text{m}$). Debe considerarse que son especies que se detectan con alta frecuencia y de forma predominante en el aire y sobre las superficies de ambientes interiores en Cuba.⁵

Las hemolisinas son exotoxinas formadoras de poros que reconocen y se unen a sitios estructurales específicos en la superficie de los glóbulos rojos.⁵⁹ Son secretadas al medio extracelular y pueden producir ruptura de eritrocitos.

El desbalance en la presión osmótica de la célula debido a los poros formados por estas proteínas se ha sugerido como el principal mecanismo de hemólisis.⁶⁰ La principal función reconocida de estas enzimas en el proceso infeccioso es la lisis de los glóbulos rojos, lo cual provoca la liberación del hierro contenido dentro de estas células. Este importante ión es requerido por los microorganismos en muchos procesos metabólicos como cofactor enzimático.⁵⁹

Vesper y Vesper⁶¹ reportaron que las hemolisinas pueden jugar un rol importante en afectaciones a la salud producto del Síndrome del Edificio Enfermo (SBS, por sus siglas en inglés), pues estas exotoxinas se han detectado en la orina y otros fluidos corporales de pacientes que han estado expuestos a ambientes con alta carga fúngica.

En este estudio se detectaron 19 cepas de hongos hemolíticas, lo que representó un 70 % del total (Tabla 2). Las cepas de mayor Ae fueron: *Aspergillus niger* y *A. phoenicis*, ambas del grupo *A. niger* las cuales no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre sí para un índice de 0,57. Nayak y cols.⁵⁹ reportaron la detección de más de un tipo de hemolisina en cepas de *Aspergillus flavus*, *A. oryzae* y *A. niger*, especies productoras por excelencia de este tipo de micotoxinas y de importancia clínica ampliamente citada.^{53, 55, 62}

Las fosfolipasas son un grupo de enzimas secretadas por varios microorganismos patógenos que pueden dañar las membranas celulares del huésped. La capacidad de producir y secretar enzimas con actividad fosfolipasa de ciertos hongos, ha sido considerada por varios autores como factor de virulencia que contribuye de forma significativa a su patogenicidad.⁶³ Bomogolova y Kirtsideli³² estudiaron la actividad fosfolipasa en hongos aislados de ambientes exteriores de la ciudad de San Petersburgo; detectaron que representantes del género *Penicillium*, entre ellos *P. chrysogenum*, mostraban Ae positiva lo cual concuerda con este estudio. Estas enzimas están implicadas en importantes procesos fisiológicos como la diseminación fúngica en el hospedero y la defensa o evasión ante mecanismos del sistema inmune.⁶⁴

Tabla 2. Resultados de las pruebas fisiológicas realizadas a 27 cepas de hongos filamentosos de géneros y especies frecuentes en archivos y museos cubanos evaluar su actividad exoenzimática patogénica y la penetrabilidad de sus conidios en el tracto respiratorio humano.

Procedencia de la cepa	TAXA	Secreción de hemolisinas		Secreción de fosfolipasas		Penetración en TR	
		Ae	IAH	Ae	IAF	Diámetro conidial (µm)	Zona de deposición
Documento	<i>Aspergillus candidus</i>	-	0 a	+	0,50 b	2-4	A, B y C
Documento	<i>A. carbonarius</i>	-	0 a	+	0,55 d	5-8	A y B
Documento	<i>A. chevalieri</i>	-	0 a	-	0 a	4-5	A y B
Aire depósito	<i>A. flavus</i>	+	0,53 defg	-	0 a	3	A, B y C
Aire depósito	<i>A. flavus</i> var. <i>columnaris</i>	+	0,53 def	-	0 a	4-6	A, B y C
Aire depósito	<i>A. flavus</i> var. <i>columnaris</i>	+	0,53 defg	-	0 a	4-6	A, B y C
Aire depósito	<i>A. niger</i>	+	0,57 i	+	0,54 c	4-5	A, B y C
Aire depósito	<i>A. oryzae</i>	+	0,52 bc	-	0 a	5-8 x 4-7	A y B
Documento	<i>A. parasiticus</i>	-	0 a	-	0 a	3-5	A, B y C
Documento	<i>A. phoenicis</i>	+	0,57 i	-	0 a	3-4	A, B y C
Aire exterior	<i>Cladosporium chlorocephalum</i>	+	0,52 h	-	0 a	5-6 x 2-3	A y B
Aire depósito	<i>C. cladosporioides</i>	+	0,54 def	-	0 a	3-6 x 2	A, B y C
Aire exterior	<i>C. cladosporioides</i>	+	0,53 fgh	-	0 a	3-6 x 2	A, B y C
Aire depósito	<i>C. coralloides</i>	+	0,53 gh	-	0 a	5-6 x 3	A y B
Aire exterior	<i>C. herbarum</i>	-	0 a	-	0 a	10-13 x 5-6	A
Aire depósito	<i>C. lignicola</i>	+	0,54 de	-	0 a	6-8 x 4	A y B
Aire depósito	<i>C. minourae</i>	+	0,52 cd	-	0 a	5-6 x 3	A y B
Aire depósito	<i>C. oxysporum</i>	+	0,52 def	-	0 a	3-5	A, B y C
Aire depósito	<i>C. tenuissimum</i>	+	0,53 efg	-	0 a	2-5 x 2-3	A, B y C
Documento	<i>Penicillium chrysogenum</i>	+	0,51 b	+	0,51 b	2-4	A, B y C
Aire depósito	<i>P. citrinum</i>	+	0,51 b	-	0 a	2-3	A, B y C
Aire depósito	<i>P. griseofulvum</i>	+	0,51 b	+	0,51 b	3	A, B y C
Aire depósito	<i>P. janczewskii</i>	-	0 a	-	0 a	2-3	A, B y C
Aire depósito	<i>P. janczewskii</i>	+	0,51 bc	-	0 a	2-3	A, B y C
Aire depósito	<i>P. janthinellum</i>	-	0 a	+	0,51 b	2-4	A, B y C
Aire depósito	<i>P. waksmanii</i>	+	0,51 b	+	0,51 b	2-3	A, B y C
Aire depósito	<i>P. wortmannii</i>	-	0 a	-	0 a	2-3	A, B y C

Ae: actividad exoenzimática; **TR:** tracto respiratorio; **A:** TR superior; **B:** Tráquea, bronquios y bronquiolos; **C:** Alvéolos pulmonares; **+**: Actividad enzimática positiva; **-**: Actividad enzimática negativa; **IAH:** Índice de actividad hemolítica; **IAF:** Índice de actividad fosfolipasa. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre cepas. Para los valores de una misma columna. $p \leq 0.05$.

Consideraciones Finales

A partir de esta investigación se han podido establecer diferencias cuantitativas entre importantes potencialidades biodeteriorantes y patogénicas de 27 cepas de hongos ambientales de taxones aislados frecuentemente en archivos y museos cubanos. Como se comprobó, aunque existen similitudes entre cepas de un mismo género o grupo desde el punto de vista fisiológico, no siempre pueden agruparse como se haría desde el punto de vista taxonómico (Fig. 2). El desarrollo, morfología, actividad enzimática, producción de metabolitos secundarios entre otros aspectos, pueden variar notablemente entre cepas y ecosistemas para representantes de una misma especie. Los estudios de la micobiota ambiental enfocados al biodeterioro de materiales y a la salud humana, deben realizarse de forma puntual y sistemática, además de incluir una buena identificación taxonómica y caracterización fisiológica de las cepas más abundantes.

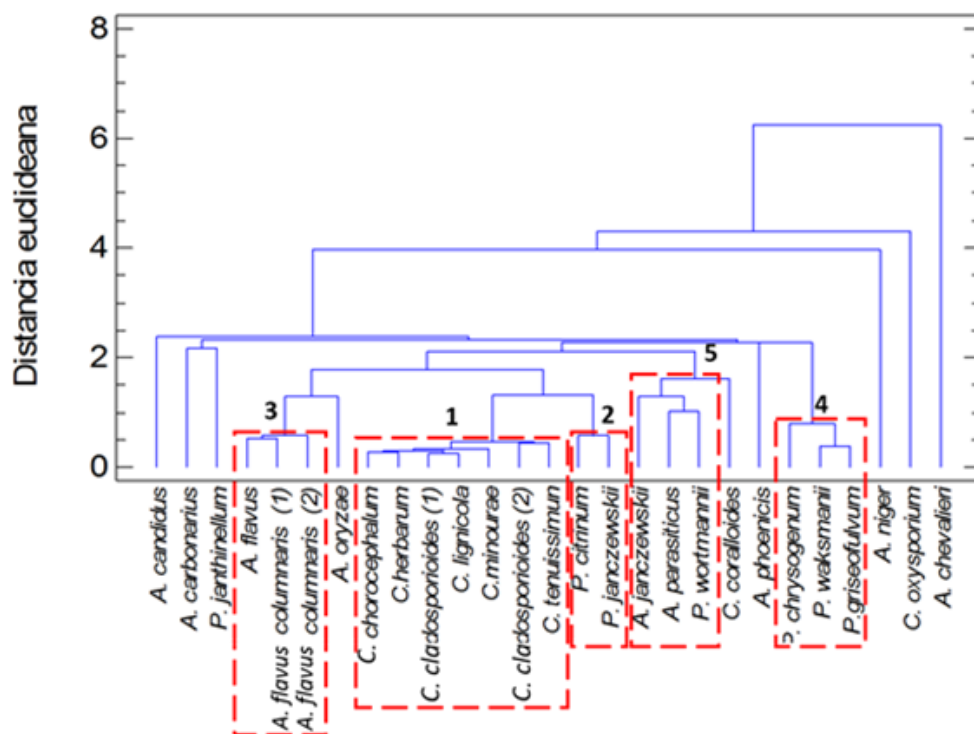


Fig. 2. Dendrograma obtenido por análisis de conglomerados con distancia euclidiana aplicando el método del vecino más cercano. Ilustra la similitud entre las 27 cepas fúngicas estudiadas según las variables evaluadas para el biodeterioro y la patogenicidad. Se definen claramente 5 clústeres que indican similitud entre cepas del mismo género o especie. No obstante, nótese que existen cepas o grupos de cepas del mismo género separadas por una distancia considerable, lo cual es indicativo de diferencias notables entre sí.

Estas investigaciones entre otras finalidades, aportan información valiosa acerca de la microbiota de este tipo de ecosistema, facilitan la elaboración y actualización de los planes de conservación preventiva para las colecciones, contribuyen a esclarecer la fenomenología del biodeterioro de los materiales y tributan a la prevención de enfermedades ocupacionales.

CONCLUSIONES

El 100 % de las 27 cepas evaluadas mostraron potencialidades biodeteriorantes para afectar varios materiales; las más peligrosas para las colecciones archivísticas y museológicas correspondieron a las especies: *Aspergillus flavus* var. *columnaris*, *Cladosporium chlorocephalum*, *C. cladosporioides*, *Penicillium janczewskii* y *P. citrinum*. Se detectaron atributos patogénicos en el 92 % de las cepas, representaron un mayor riesgo para la salud humana como patógenos oportunistas: *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. phoenicis*, *Penicillium chrysogenum*, *P. waksmanii* y *P. griseofulvum*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Codina R, Fox RW, Lockey RF, DeMarco P, Bagg. Typical Levels of Airborne Fungal Spores in Houses Without Obvious Moisture Problems During a Rainy Season in Florida, USA. J. Investig. Allergol. Clin. Immunol. 2008; 18 (3):156-62.
2. Lignell U. Characterization of microorganisms in indoor environments. Publications of the National Public Health Institute, Finland; 2008. ISSN 0359-3584; 1458-6290 (pdf-version). [consultado 2 de Abril 2009]. Disponible en: <http://www.ktl.fi/portal/4043>
- 3.

3. Nevalainen A, Morawska L, editors. Biological agents in indoor environments. Assessment of health risks. Work conducted by a WHO Expert Group between 2000-2003. QUT, April, 2009 [consultado 6 Sep 2016]. Disponible en: http://www.ilaqh.qut.edu.au/Misc/BIOLOGICAL_AGENTS_2009.pdf33
4. Grinn-Gofrón A. Airborne Aspergillus and Penicillium in the atmosphere of Szczecin, (Poland) (2004-2009). *Aerobiología*. 2011; 27: 67-76.
5. Rojas TI, Aira M J. Fungal biodiversity in indoor environments in Havana, Cuba. *Aerobiología*. 2012; 28: 367-374.
6. Durugbo EU, Kajero A.O, Omoregie EI, Oyejide NE. A survey of outdoor and indoor airborne fungal spora in the Redemption City, Ogun State, South-Western Nigeria. *Aerobiología*. 2013; 29: 201-216.
7. Martínez X, Tejeray L, Beri A. First volumetric record of fungal spores in the atmosphere of Montevideo City, Uruguay: a 2-year survey. *Aerobiología*. 2015; 32(2): 317 - 333.
8. Levetin E, Hall SA, Homer W E. Fungal aerobiology: exposure and measurement. In Breitenbach et al. (eds): *Fungal Allergy and Pathogenicity*. Chem. Immunol. 2002; 81: 10-27.
9. Horner E W, Worthan AG, Morey P R. Air- and Dustborne Mycoflora in Houses Free of Water Damage and Fungal Growth. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004; 70:6394-6400.
10. Rabito F A, Perry S, Davis EW, Yau L C, Levetin E. The Relationship between Mold Exposure and Allergic Response in Post-Katrina New Orleans. *J. Allergy*. 2010; 2010: 1-7.
11. Cabral J PS. Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions. *Sci. Total Environ.* 2010; 408:4285-295.
12. Gaikwad KN, Sonawane MD. Fungi as Bio-Indicators of Air Quality. *Research Article*. 2012; 2 (3): 25-28.
13. Almaguer M, Rojas TI. Aeromicota viable de la atmósfera de La Habana, Cuba. *NACC*. 2013; 20: 35-45.
14. Molina A, Borrego S. Análisis de la micobiota existente en el ambiente interior de la Mapoteca del Archivo Nacional de la República de Cuba. *Bol. Micol.* 2014; 29 (1): 2-17.
15. Borrego S, Perdomo I. Airborne microorganisms cultivable on naturally ventilated document repositories of the National Archive of Cuba. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2016; 23:3747-3757.
16. Abrusci C. Estudio de biodegradación de los materiales constituyentes de las películas cinematográficas por bacterias y hongos. Tesis en opción del título de Doctor. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Microbiología III. 2005.
17. Pinzari F, Montanari M. A substrate utilisation pattern (SUP) method for evaluating the biodeterioration potential of micro-aeroflora affecting libraries and archival materials. *Conservation Science*. 2007; 7: 29-34.
18. Rojas TI, Martínez E, Aira M J, Almaguer M. Aeromicota de ambientes internos: Comparación de métodos de muestreo. *Bol. Micol.* 2008; 23:67-73.
19. Cappitelli F, Sorlini C. Paper and manuscripts. In Mitchell R., McNamara CJ (eds): *Cultural Heritage Microbiology*. ASM Press. American Society for Microbiology, Washington. 2010. 45-59 pp.
20. Saiz- Jimenez C. *Cultural Heritage Microbiology*. ASM Press. American Society for Microbiology, Washington. 2010.
21. Bučková M, Puškárová A, Sclocchi C, Bicchieri M, Colaizzi P, Pinzari F, Pangallo D. Co-occurrence of bacteria and fungi and spatial partitioning during photographic materials biodeterioration. *Polym. Degrad. Stab.* 2014; 108: 1-11.
22. Micheluz A, Manente S, Tigini V, Prigione V, Pinzari F, Ravagnan G, Varese GC. The extreme environment of a library: xerophilic fungi inhabiting indoor niches. *Int. Biodeter. Biodegr.* 2015; 99:1-7.
23. Micheluz, A., S. Manente, V. Tigini, V. Prigione, F. Pinzari, G. Ravagnan y G. Varese. The extreme environment of a library: Xerophilic fungi inhabiting indoor niches. *Int. Biodeter. Biodegr.* 2015; 99:1-7.
24. Sánchez K, Almaguer M. Aeromicología y salud humana. *Rev. Cubana Med. Trop.* 2014; 66 (3):322-337.
25. Molina A, Borrego S F. Aerobiología y biodeterioro del género *Aspergillus* Link. en depósitos de tres instituciones patrimoniales cubanas. *Bol. Micol.* 2016; 31(1): 2-18.
26. Rojas T I. Diversidad fúngica en ambientes exteriores de áreas urbanas de ciudad de La Habana y sus potencialidades en el biodeterioro. [Tesis en opción del título de Doctor en Ciencias Biológicas]. La Habana, Universidad de la Habana. Facultad de Biología. noviembre 2010.
27. Rodríguez JC, Rodríguez B, Borrego S F. Evaluación de la calidad micológica ambiental del depósito de fondos documentales del Museo Nacional de la Música de Cuba en época de lluvia. *AUMGMDOMUS*. 2014; 6: 123-146.
28. Borrego S, Perdomo I. Caracterización de la micobiota aérea en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba. *Rev. Iberoam. Micol.* 2014; 31(3):182-7.
29. Molina A, Valdés O, Borrego S, Pérez D, Castro M. Diagnóstico micológico ambiental en depósitos de la Oficina Cubana de la Propiedad Industrial. *NACC*. 2014; 21:107-117.
30. Molina A, Borrego S. El planero como barrera contra agentes biodeteriorantes de mapas y planos. *Revista PH Investigación*. 2015; 4: 45-61.
31. Anaya M, Borrego S, Gámez E, Castro M, Molina A, Valdés O. Viable fungi in the air of indoor environments of the National Archive of the Republic of Cuba. *Aerobiología*. 2016; 32 (3): 513-527.
32. Sterflinger K. Fungi: Their role in deterioration of cultural heritage. *Fungal biology reviews*. 2010; 24:47-

32. Bogomolova E, Kirtsideli I. Airborne fungi in four stations of the St. Petersburg Underground railway system. *Int. Biodeter. Biodegr.* 2009; 63: 156-160.
33. Ponnambalam A, Deepthi R, Ghosh A. Qualitative Display and Measurement of Enzyme Activity of Isolated Cellulolytic Bacteria. *Bioinf. Bioeng.* 2011; 1(1):33-37.
34. Guiamet P, Borrego S, Lavin P, Perdomo I, Gómez de Sarabia S. Biofouling and biodeterioration in materials stored at the Historical Archive of the Museum of La Plata, Argentina and at the National Archive of the Republic of Cuba. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2010; 85: 229-234.
35. Borrego S, Guiamet P, Gómez de Sarabia S, Battistoni P, García M, Lavín P, Perdomo I. The quality of air at archives and the biodeterioration of photographs. *Int. Biodeter. Biodegr.* 2010; 64:139-145.
36. Iwatzu T. A new species of *Cladosporium* from Japan. *Mycotaxon.* 1984; 20: 521-533.
37. Llop A, Váldez-Dapena M, Zuazo J. Microbiología y Parasitología médica. Editorial Ciencias Médicas, La Habana, Caps. 14 y 41, 2001.
38. Borrego S, Perdomo I. Aerobiological investigations inside repositories of the National Archive of the Republic of Cuba. *Aerobiologia.* 2012; 28(3):303-316.
39. Anaya M, Borrego S, Cobo H, Valdés O, Molina A. Aeromicrobiota de un depósito de alimentos en La Habana, Cuba. *AUGMDOMUS.* 2014; 6:95-110.
40. Borrego S, Rodríguez JC. Caracterización micológica del ambiente aéreo del depósito de los fondos bibliográficos del Museo Nacional de la Música. *Boletín del Archivo Nacional.* 2013; (21): 48-60.
41. Borrego S, Molina A, Santana A. Mold on Stored Photographs and Maps: A Case Study. *Topics in Photographic Preservation.* 2015; 16: 109-120.
42. Vaillant M. Biodeterioro del Patrimonio Histórico Documental: Alternativas para su erradicación y control. Museu de Astronomia e Ciências Afins; Fundação Casa de Rui Barbosa, (ed.), Benjamín Albagli Neto. Rio de Janeiro, 2013.
43. Vivar I, Borrego S, Ellis G, Moreno DA, García MA. Fungal biodeterioration of color cinematographic films of the cultural heritage of Cuba. *Int. Biodeter. Biodegr.* 2013; 84:372-380.
44. Borrego S, Molina A. Comportamiento de la aeromicrobiota en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba durante 7 años de estudio. *Augmdomus.* 2014; 6:1-24.
45. Molina A, Borrego S. Caracterización de hongos aislados de mapas conservados en el Archivo Nacional de la República de Cuba. *Ge-conservación.* 2014; (6): 35-44.
46. Valentín N. El biodeterioro de materiales orgánicos. *Jornadas Monográficas Prevención del biodeterioro en archivos y bibliotecas.* Instituto del Patrimonio Histórico Español. 2004. 84-89 pp,
47. Villalba LS, Mikán JF, Sánchez J. Actividades hidrolíticas y caracterización isoenzimáticas de poblaciones microbianas aisladas del patrimonio documental en el Archivo General de Colombia. *Nova Publicación Científica.* 2004; 2: 50-57.
48. Lavin P, Gómez de Saravia S, Guiamet PS. An enviromental assessment of biodeterioration in document repositories. *Biofouling.* 2014; 30 (5): 561-569.
49. Dai Z, Mao X, Magnuson J, Lasure L. Identification of genes associated with morfology in *Aspergillus niger* by using suppression subtractive hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004; 70: 2474-2485.
50. Santhiya D, Ting YP. Bioleaching of spent refinery processing catalyst using *Aspergillus niger* with high-yield oxalic acid. *J. Biotechnol.* 2005; 116: 171-184.
51. Krijghsheld P, Bleichrodt R, van Veluw GJ, Wang F, Müller WH, Dijksterhuis J, Wösten HAB. Development in *Aspergillus.*; *Stud. Mycol.* 2013 74(1): 1-29.
52. Borrego S, García M. Comportamiento de la concentración microbiana aérea en la Fototeca del Archivo Nacional de Cuba. *Rev. CENIC Cienc. Biol.* 2011; 42 (2):61-67.
53. Bonifaz A. Micología Médica Básica. McGRAW-Hill Education, México, 2012.
54. Pitt J.I. A laboratory guide to common *Penicillium* species. Food Science Australia. Third edition, 2000.
55. De Hoog GS, Guarro G, Gene J, Figueras M J. Atlas of clinical fungi.2nd ed. Universidad Rovira I Virgili Reus, España, 2000.
56. Piontelli E. Morfología de los hongos comunes en ambientes internos y externos. Ed. Univ Valparaiso, 2012.
57. Rementería A, López-Molina N, Ludwig A. Genes and molecules involved in *Aspergillus fumigatus* virulence. *Rev. Iberoam. Micol.* 2005; 22: 1-2.
58. Hatch T F. Distribution and deposition of inhaled particles in Respiratory Tract. *Mmbr. Asm. Org.* 2009; 25: 237-240.
59. Nayak AP, Green B J, Beezhold DH. Fungal hemolysins. *Med. Mycol.* 2013; 51: 1-6.
60. Berne S, Lah L, S K. Aegerolysins: structure, function, and putative biological role. *Protein Sci.* 2009; 18:694 -706.
61. Vesper SJ, Vesper MJ. Possible roles of fungal hemolysins sick building syndrome. *Advances in Applied Microbiology.* 2004; 55:191-213.
62. Oliveira M, Caramalho R. *Aspergillus fumigatus*: a mere airborne particle or a powerful biohazard? *NACC.* 2014; 21: 20-34.

63. Echeverría A, Durante AG, Arechavala A, Negroni N. Estudio comparativo de dos medios de cultivo para la detección de la actividad fosfolipasa en cepas de *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*. Rev. Iberoam. Micol. 2002; 19: 95-98.
64. Webb BJ, Blair JE, Kusne S, Scott RL, Steidley DE, Arabia FA, Vikram HR. Concurrent pulmonary *Aspergillus fumigatus* and *Mucor* infection in a cardiac transplant recipient: a case report. Transplantation proceedings. 2013