

Comportamiento de la concentración microbiana aérea en la Fototeca del Archivo Nacional de Cuba

Sofía Borrego-Alonso y Michel García-Miniet.

Laboratorio de Conservación Preventiva, Archivo Nacional de la República de Cuba. Compostela No. 906 esquina a San Isidro, Habana Vieja, La Habana, Código Postal: 10100, Cuba. Correo electrónico: sofia@arnac.cu

Recibido: 19 de febrero de 2010.

Aceptado: 20 de julio de 2010.

Palabras clave: biodeterioro, contaminación microbiana ambiental, hongos, patrimonio documental, patogenicidad.
Key words: biodeterioration, documentary heritage, environmental microbial contamination, fungi, pathogenicity.

RESUMEN. Los objetivos del estudio fueron evaluar el predominio microbiano en el aire interior de la Fototeca del Archivo Nacional de la República de Cuba, realizar la caracterización fisiológica de los hongos aislados para determinar su potencial biodeteriorante y analizar a partir de la información especializada, las características patogénicas de los microorganismos que se aislaron con mayor frecuencia. En el muestreo microbiológico se utilizó un método de sedimentación y para ello, se emplearon placas Petri con medios de cultivo apropiados colocados a 1,5 m de altura del suelo. Se determinó cualitativamente la actividad celulolítica de las cepas fúngicas aisladas, así como la producción de pigmentos y ácidos. La concentración fúngica ambiental no varió con respecto al 2004, en tanto la bacteriana disminuyó significativamente. El género fúngico predominante fue *Cladosporium* (87,1 %), mientras que dentro de las bacterias, las Gram positivas fueron las que predominaron. Se evidenció que la mayoría de las cepas fúngicas aisladas mostraron actividad celulolítica, excretaron pigmentos y produjeron ácidos, lo que constituye un elevado riesgo de biodeterioro para el patrimonio documental. Entre las bacterias Gram positivas, se identificaron cepas de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces* y *Bacillus*. Dentro de las Gram negativas se identificaron cepas de *Serratia marcescens*, *Serratia* sp., *Enterobacter agglomerans*, *Beijerinckia* sp., *Azotobacter* sp., *Acinetobacter* sp. y *Pseudomonas* sp. La mayoría de los géneros fúngicos y bacterianos aislados son agentes con potencialidades patogénicas.

ABSTRACT. The objectives of the paper were to evaluate the microbial prevalence of indoor environment of the Photo library of the National Archives of the Republic of Cuba, to determine some of the physiological features of fungal isolates in order to evaluate their potential for biodeterioration, as well as to analyze the pathogenic characteristics of microorganisms isolated more frequently using the literature as basic. A sedimentation method was used for the microbiological sampling of air. Petri dishes with appropriate selective culture media were used to isolate fungi and bacteria. They were placed at 1.5 m from the floor. The cellulolytic activity and the production of acids and pigments of the fungal isolated were qualitatively determined. The fungal concentration was unchanged compared with 2004, while the bacteria decreased significantly. The predominant fungal genus in the air was *Cladosporium* while the prevalent bacterial isolated was Gram positive. It was shown that the fungal isolated genera showed cellulolytic activity and produced acid and pigments, which is a high risk of biodeterioration for documentary heritage. Among Gram positive bacteria, strains of *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces* and *Bacillus* were identified while strains of *Serratia marcescens*, *Serratia* sp., *Enterobacter agglomerans*, *Beijerinckia* sp., *Azotobacter* sp., *Acinetobacter* sp. and *Pseudomonas* sp. were identified among bacteria Gram negative. Most fungal and bacterial genera isolated are potentially pathogenic agents.

INTRODUCCIÓN

En los ambientes exteriores e interiores se encuentra un gran número de partículas de diferente forma y tamaño suspendidas en el aire, las cuales constituyen el aerosol atmosférico. Se pueden clasificar de diferentes formas, teniendo en cuenta el origen (biológico, orgánico, inorgánico), la localización (marina, continental, rural, industrial, urbana) y el efecto que pueden causar sobre las superficies en que se depositan (químico, tóxico, patogénico, degradativo). Entre las partículas de origen biológico se encuentran bacterias, esporas fúngicas, algas, virus, protozoos y granos de polen.^{1,2}

Los microorganismos pueden ser transportados por las partículas de polvo presentes en el aire exterior hacia el interior de los locales a través de la ventilación y

los visitantes. La colonización y el crecimiento sobre la superficie de los objetos que se encuentran en el interior de un edificio, así como los materiales de construcción que lo conforman, también pueden ser una importante fuente de contaminación del aire interior.³⁻¹⁰

A temperatura y humedad relativa menores de 20 °C y de 65 %, respectivamente, la microbiota del aire puede coexistir con las colecciones de valor histórico y con las personas en un ecosistema específico sin causar grandes daños. Sin embargo, cuando se produce un incremento significativo de estas variables ambientales, los microorganismos pueden tener efectos negativos, tanto para los soportes como para la personas, pues se alcanzan cantidades de agua en el ambiente o sobre los materiales que se acercan a la actividad del agua (a_w) y

temperaturas óptimas que favorecen el metabolismo microbiano.^{3,11}

El biodeterioro puede definirse como un cambio en las propiedades de un material a causa de la actividad vital de los organismos.¹² Una amplia variedad de materiales puede ser afectada y entre estos materiales, se encuentran metales, pinturas, papel, cartón, rocas, fotografías, textiles, cuero, plásticos, etc. Estos soportes en dependencia de las condiciones microclimáticas pueden sufrir daños físicos, químicos y estéticos causado por insectos, algas, líquenes, hongos y bacterias, debido a que ellos poseen sustancias nutritivas que facilitan el desarrollo de estos organismos.^{3,13,14}

Dentro de los microorganismos, los principales agentes biodeteriorantes de los soportes orgánicos son los hongos, pues pueden germinar en condiciones de humedad relativa y a_w más bajas que las requeridas por las bacterias (HR próxima al 60 %, $a_w \geq 0,60$), lo que permite que un contenido de agua muy bajo en el soporte, pueda ser suficiente para su crecimiento.¹⁵ Esto junto al hecho de que además poseen estructuras (hifas) que les permiten la formación rápida de biopelículas sobre los sustratos y de que son capaces de excretar enzimas (celulasas, proteasas, amilasas, etc.), ácidos orgánicos e inorgánicos, pigmentos y otras sustancias, posibilitan que los deterioren mecánica, química y estéticamente.^{11,16,17}

Teniendo en cuenta que los problemas de biodeterioro alcanzan gran importancia económica y social cuando los sustratos colonizados pertenecen al patrimonio cultural¹⁸ y que además, los microorganismos pueden provocar daños a la salud, la comunidad científica reconoce la necesidad de realizar muestreos microbiológicos sistemáticos que permitan caracterizar al ambiente y por tanto definir no solo el riesgo al que están expuestos los soportes, sino también, el personal que labora en estas instituciones.^{3,10,15,19} Por ello, en el 2004, se realizó una primera evaluación de la calidad del aire interior de la Fototeca del Archivo Nacional de la República de Cuba¹⁴ y ahora, se vuelve a hacer para comparar los resultados. Con ello, se podrán determinar los cambios ocurridos en la microbiota después cuatro años de análisis y por tanto, proponer una estrategia que garantice mejores condiciones para conservar las fotografías que se atesoran en ella y por otro lado, contribuir a que no se afecte la salud del personal.

De ahí, que los objetivos de este trabajo fueron evaluar el predominio microbiano en el aire interior de la Fototeca del Archivo Nacional de la República de Cuba, realizar la caracterización fisiológica de los hongos aislados para determinar su potencial biodeteriorante y analizar a partir de la literatura especializada las características patogénicas de los microorganismos que se aislaron con mayor frecuencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características del local

El estudio se realizó en julio de 2008 a cuatro años del primero.¹⁴ La Fototeca del Archivo Nacional de la República de Cuba (FANC) es un depósito pequeño que cuenta con un total de 66 340 fotografías, la mayoría en papel aunque existen otras técnicas fotográficas antiguas que emplean hierro, cobre o vidrio como soporte. Dentro del material atesorado se encuentran 220 álbumes con fotografías en papel y cartón, 36 ferrotipos (hierro como soporte), seis placas de vidrio, un daguerrotipo (cobre como soporte), 2 500 caricaturas y 56 grabados en papel.

Medición de la temperatura y la humedad relativa en el momento del muestreo microbiológico

Aunque es habitual desde hace varios años la medición de la temperatura (T) y la humedad relativa (HR) dos veces al día en todos los depósitos del Archivo (10:00 a.m. y 3:00 p.m.) con un termohigrómetro analógico ubicado en el local, durante la colecta de las muestras microbiológicas, se realizaron las mediciones en cada punto empleando un termohigrómetro digital.

Muestreo microbiológico del aire

El muestreo microbiológico del aire se llevó a cabo siguiendo el método de sedimentación descrito por Omeliansky.²⁰ Para ello, se emplearon placas Petri con medio agar malta suplementado con NaCl (7,5 %)⁶ para el aislamiento de hongos y agar nutriente para bacterias, se colocaron abiertas a 1,5 m del piso aproximadamente y se expusieron por cinco minutos. Teniendo en cuenta las dimensiones del local, se muestrearon dos puntos por triplicado. Posteriormente, las placas con agar malta y NaCl se incubaron durante 7 d a 28 °C y las que contenían agar nutriente a 32 °C por 72 h .

Determinación de las unidades formadoras de colonias por m³ de aire

Una vez concluida la incubación, se realizó el conteo de las colonias fúngicas y bacterianas emergentes en los medios de cultivo. Se estimó el número de unidades formadoras de colonia por m³ de aire (UFC/m³), acorde con la ecuación descrita por Omeliansky.²⁰

$$N = 5a \cdot 10^4 (bt)^{-1}$$

donde:

N concentración media de unidades formadoras de colonias por m³ de aire interior muestreado.

a número de colonias obtenidas por placas Petri.

b superficie o área de la placa (cm²).

t tiempo de exposición (min).

Aunque no existe disponibilidad de datos que permitan correlacionar el método de sedimentación de Omeliansky para el cálculo de la concentración microbiana en el aire con los métodos de muestreo activo (impactación) más frecuentemente empleados, se ha utilizado solo para comparar la concentración microbiana que se obtuvo en este mismo local en un estudio anterior.

Identificación de microorganismos aislados

En el caso de los hongos, se observaron sus características culturales y morfológicas (micro y macroscópicas) y la identificación se realizó con ayuda de manuales de identificación taxonómica.²¹⁻²³ Para las bacterias, se tuvo en cuenta la respuesta ante la tinción de Gram, las formas de las células, así como la presencia o no de catalasa y oxidasa. Esto permitió su agrupación y la posterior identificación de algunas de las colonias seleccionadas al azar, se realizó mediante las pruebas bioquímicas que se describen en el Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.^{24,25}

Determinación de la distribución relativa de las colonias

Este análisis se realizó de acuerdo con Smith²⁶ que propone calcular la distribución relativa (DR) como:

$$DR = \frac{\text{Colonias del género o especie...}}{\text{Total de colonias de todos los géneros o especies}} \times 100$$

Determinación cualitativa de la actividad celulolítica y de la producción de pigmentos de hongos

Para determinar cualitativamente la actividad celulolítica y la producción de pigmentos de las cepas fúngicas aisladas, se procedió a su siembra en un medio de cultivo cuya composición salina para 1 L fue: nitrato de sodio 2 g; fosfato de dipotasio 1 g; sulfato de magnesio 0,5 g; cloruro de potasio 0,5 g; sulfato ferroso 0,01 g; agar 20 g; pH = 5,5. Como fuente de carbono se empleó en un caso, una tira de papel de filtro de 4,8 cm de largo por 1 cm de ancho (equivalente a 50 mg de papel de filtro), en otro celulosa cristalina (1 %) y como control, se empleó glucosa (1 %). Los cultivos se incubaron a 28 °C durante 21 d.²⁷ La producción de pigmentos se evaluó sobre la tira de papel de filtro.²⁸

Determinación de la producción de ácidos de hongos

Una asada de esporas de cada cepa de hongos aislada, se sembró en el caldo de cultivo de composición salina similar al empleado anteriormente, pero con glucosa 1 %. El pH se ajustó a 7 y se le adicionó rojo fenol a 0,001 % como indicador de pH.²⁹ Los cultivos se incubaron a la misma temperatura antes mencionada por 3 d. El resultado positivo se evidenció por el cambio de coloración en el medio de cultivo (de rojo a amarillo) y por una disminución del pH después de haberlo medido con un potenciómetro.

RESULTADOS Y DISCUSION

Concentración de la contaminación microbiana ambiental

Como resultado de la continuidad de estudios en la Fototeca, depósito que atesora materiales especiales, fue necesario establecer una comparación entre las concentraciones microbianas obtenidas en 2008 y 2004,¹⁴ para conocer el comportamiento de la microbiota ambiental y por tanto la calidad del aire. Al analizar las concentraciones microbianas (Tabla 1), se comprobó que las concentraciones de hongos y bacterias detectadas en 2008 fueron de 250,8 y 514,2 UFC/m³ respectivamente. Al comparar estas concentraciones con las referidas para 2004, no se evidenciaron cambios significativos para los hongos en tanto que para las bacterias las diferencias fueron significativas. Resultó muy evidente la disminución de la concentración bacteriana en el transcurso de estos cuatro años. El Archivo Nacional de la República de Cuba se encuentra ubicado en una zona de elevada contaminación, ya que próximo a él existen avenidas de gran circulación de vehículos, además, cerca quedan el puerto y varias industrias, elementos que contribuyen a una gran generación de sustancias tóxicas, polvo y hollín, entre otros contaminantes. Durante el primer estudio de 2004, el local se ventilaba de forma natural, por lo que

se encontraba expuesto a la gran contaminación antes descrita y probablemente debido a esto, se detectaron porcentajes elevados de bacterias. Tras los resultados de ese primer estudio y debido a que en la FANC se atesoran documentos que se agrupan dentro de la categoría de materiales especiales, que requieren ser conservados a (18 ± 2) °C y (50 ± 5) % de humedad relativa.^{11,30} se recomendó la climatización del depósito y se eliminó la ventilación natural, para garantizar una menor exposición de estos materiales a los contaminantes ambientales y lograr estabilizar la temperatura y la humedad relativa necesarios para la adecuada conservación de las fotografías. Se considera que estas condiciones favorables fueron las causantes de tan significativa y positiva disminución en la concentración bacteriana del aire interior del depósito.

A pesar de que no existe una norma internacional que establezca los límites para clasificar a un ambiente interior de contaminado o no, en algunos casos se plantea que por encima de 1 000 UFC/m³ los ambientes se consideran contaminados.^{31,32} Sin embargo, en Brasil se ha establecido que un ambiente interior con 750 UFC/m³ es aceptable, superior a este valor lo consideran contaminado,³³ en tanto que en otros casos se plantea que un ambiente interior con 300 UFC/m³ o más de hongos, está contaminado.³⁴

Caracterización de la microbiota aérea

Géneros fúngicos aislados. La densidad relativa de los géneros fúngicos aislados evidenció un predominio de *Cladosporium* (87,2 %), seguido de *Aspergillus* (12,8 %), a diferencia de 2004, en el cual predominó *Aspergillus* (41,3 %), seguido por los géneros *Cladosporium* (27,6 %) y *Penicillium* (10,3 %) (Tabla 2).

Tabla 2. Densidad relativa de los géneros fúngicos aislados del aire de la Fototeca en 2004 y 2008.

Géneros fúngicos	Densidad relativa (%)	
	2004	2008
<i>Aspergillus</i>	41,3	12,8 ^a
<i>Cladosporium</i>	27,6	87,2
<i>Penicillium</i>	10,3	0
<i>Curvularia</i>	8,7	0
<i>Alternaria</i>	8,7	0
<i>Fusarium</i>	3,4	0

^a Este porcentaje corresponde en su totalidad a la especie *A. flavus* que es una de las especies de *Aspergillus* de mayor interés clínico.^{11,51,52}

Tabla 1. Concentración microbiana del aire de la Fototeca en 2004 y 2008.

AÑO	Hongos (UFC/m ³)	Bacterias (UFC/m ³)	Microorganismos totales ¹ (UFC/m ³)	T (°C)	HR (%)
2004	260,7	2 148,7*	2 409,4*	28,0 ^a	75,0 ^a
2008	250,8	514,2	765,0	24,8 ^a	78,5 ^a

¹ Suma de la concentración media de hongos y de bacterias. ^a Media de dos mediciones por triplicado que se corresponden con los puntos de muestreo microbiológico (n = 6).

* Diferencias significativas según la prueba de Student (p ≤ 0,05) cuando se compara la concentración bacteriana y de microorganismos totales en ambos años de estudio.

Estos resultados se corresponden con lo que ha sido reportado, en donde se señala a estos géneros fúngicos como los principales contaminantes de ambientes interiores a nivel mundial.¹⁰ Asimismo, han sido aislados con anterioridad en ambientes interiores de archivos, bibliotecas y museos en Cuba^{5,14,18,35-41} y de otros países.^{3,13,42-46}

Aspergillus y *Penicillium* se consideran como colonizadores primarios, pues son capaces de crecer a una $a_w < 0,8$. Otros géneros fúngicos como *Cladosporium*, *Alternaria*, *Phoma*, etc. son colonizadores secundarios porque requieren a_w entre 0,8 y 0,9.⁴⁷ Esto tal vez, explica el predominio de *Cladosporium* en las condiciones estudiadas, ya que la humedad relativa en esta ocasión fue ligeramente superior (78 %) a la de 2004 (75 %), pero muy próxima a su a_w .

Caracterización fisiológica de los géneros fúngicos aislados del aire

Los hongos aislados, en mayor o menor medida, fueron capaces de crecer a expensas del papel de filtro como única fuente de carbono y de la celulosa cristalina, lo que indica que presentan actividad celulolítica (Tabla 3).

En 2004, el 90,5 % de las cepas fúngicas que se analizaron excretaron pigmentos sobre el papel que abarcaron colores desde el amarillo hasta el carmelita intenso pasando por el naranja y tonos rojizos,¹⁴ a diferencia de las aisladas en 2008, en que solo el 62,5 % de ellas excretaron pigmentos oscuros (pardo y negro) sobre el papel. Esto se debió al predominio del género *Cladosporium* que es capaz de excretar melanina.³ De manera similar, se evidenció que todas las cepas obtenidas en los dos años del estudio produjeron ácidos, pues propiciaron una disminución significativa del pH del medio de cultivo. Resultados similares han sido reportados por otros autores.^{3,14,37,41,48}

Los hongos no solo provocan alteraciones cromáticas debido a manchas de diferentes colores, tonalidades y texturas como resultado de la excreción de pigmentos y al crecimiento micelial, sino que al crecer sobre el papel o la gelatina de las fotografías, degradan todos sus componentes y principalmente su fuente carbonada, la celulosa, la gelatina, o ambas y excretan ácidos orgánicos tales como el oxálico, fumárico, succínico y acético, los que se depositan sobre el soporte acidificándolo. En particular, los muy celulolíticos llegan a atacar las fibras celulósicas y la debilitan.^{3,7,16,17,37,39,49}

Los resultados obtenidos tras las pruebas fisiológicas realizadas indican que el patrimonio documental está expuesto a un elevado riesgo potencial de biodeterioro provocado por las cepas fúngicas analizadas, por lo que debe existir un estricto control sobre las condiciones ambientales existentes en el depósito, especialmente, sobre la humedad relativa que puede favorecer la actividad de agua (a_w), en aras de evitar la proliferación de este grupo microbiano.

La existencia en el ambiente interior del depósito de estos géneros fúngicos no solo resulta riesgosa para los documentos, sino también, para el personal que allí trabaja, por su potencial patogénico. Se conoce que un gran número de especies fúngicas son causantes de un amplio espectro de enfermedades en humanos. Los hongos poseen diferentes estructuras y mecanismos patogénicos causantes de afecciones específicas como rinitis, asma bronquial y alveolitis o neumonitis generalizada. Numerosos estudios han establecido una estrecha relación entre las condiciones ambientales, la presencia visible o no de hongos y su incidencia en el desarrollo de enfermedades respiratorias, con lo que se ha logrado asociar su existencia con el desarrollo de síntomas pertenecientes a diferentes tipos de patologías, fundamentalmente con alergias.^{3,10,34,50,51}

Tabla 3. Actividad celulolítica cualitativa, producción de pigmentos y de ácidos por parte de los hongos aislados del aire de la Fototeca en 2004 y 2008.

Año	Cepa	Crecimiento		Producción de pigmentos ¹	pH
		Sobre papel de filtro	En celulosa cristalina		
2004	<i>Aspergillus flavus</i>	+++	+	+	6,1
	<i>Aspergillus nidulans</i>	++	±	+	4,9
	<i>Aspergillus flavipes</i>	++	+	+	5,0
	<i>Aspergillus versicolor</i>	+++	++	+	5,2
	<i>Cladosporium</i> sp. III	+++	+	+	3,6
	<i>Cladosporium</i> sp. IV	±	±	+	4,7
	<i>Cladosporium</i> sp. V	+	+	+	5,0
	<i>Penicillium</i> sp. III	++	+	+	3,9
	<i>Penicillium</i> sp. IV	±	-	-	5,9
	<i>Fusarium</i> sp. I	++	+	+	5,0
2008	<i>Cladosporium</i> sp. I	+++	+	+	3,9
	<i>Cladosporium</i> sp. II	±	±	-	6,4
	<i>Cladosporium</i> sp. III	+	±	-	6,4
	<i>Cladosporium</i> sp. IV	++	++	+	6,9
	<i>Cladosporium</i> sp. V	++++	+++	+	6,8
	<i>Cladosporium</i> sp. VI	++++	+++	+	6,7
	<i>Cladosporium</i> sp. VII	+++	+++	+	6,8
	<i>Aspergillus flavus</i>	++	±	-	5,9

¹ La producción de pigmentos se evidenció sobre la tira de papel de filtro. +++ Crecimiento abundante. ++ Crecimiento moderado. + Crecimiento pobre, también indica la presencia de pigmento. ± Crecimiento o producción de pigmento muy pobre. - NO crecimiento y NO producción de pigmento.

Se han realizado estudios que permiten evaluar la acción de varios indicadores de contaminación fúngica y sus mecanismos de acción. Dentro de ellos, se han determinado las concentraciones de micotoxinas, de compuestos orgánicos volátiles (COV) y de componentes estructurales que forman parte de todas las células fúngicas y sus esporas. Dentro de estos componentes, se encuentran el ergosterol y el 1-3 β -D-glucano que junto a los COV se han asociado a síntomas respiratorios y de otra índole en un gran número de estudios epidemiológicos.^{10,51}

Géneros bacterianos aislados del aire

En cuanto a las bacterias aisladas, se pudo apreciar que las características morfológicas de las colonias fueron muy variadas al igual que los resultados obtenidos tras la tinción de Gram. Se observó un predominio de bacterias Gram positivas (92 %), al igual que en 2004 (Tabla 4). Este grupo de bacterias puede ingresar al interior del depósito por dos vías. La primera puede estar asociada a la actividad humana, ya que muchas de ellas pueden formar parte de la piel y las mucosas del organismo^{52,53} y la segunda puede estar relacionada con la entrada de tierra y restos de plantas.⁵⁴

Entre las bacterias Gram positivas que se aislaron en este estudio, se encontraron representantes de los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces* y *Bacillus*. Ellos también se detectaron en el estudio anterior.¹⁴ Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores.^{9,15,18,41,44,55,56}

Dentro de *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Bacillus* algunas especies resultan patógenas al hombre,^{10,57} igualmente se conoce que *Streptomyces* resulta dañino al sistema respiratorio humano.⁵⁸

Aunque algunas especies de *Staphylococcus* y *Streptococcus* pueden ser parte de la microbiota normal humana y habitan la piel o la nariz sin causar ninguna enfermedad, otras en cambio, pueden causar infecciones en la piel, neumonía, meningitis y a veces, sepsis importantes, condiciones en que una respuesta inflamatoria sistémica produce un choque en el organismo que da lugar a una vasodilatación masiva y a la muerte.⁵⁹

Se ha publicado que concentraciones elevadas de bacterias pertenecientes al género *Bacillus* en el aire de interiores, es generalmente indicativo de daños provocados por agua o por la necesidad de realizar un mantenimiento constructivo en el edificio.⁶⁰ Una probable causa de la existencia y el incremento de este género bacteriano en ambos años (2,7 % para 2004 y 5,1 % en 2008), puede ser la necesidad de realizar una

adecuación del sistema de climatización que garantice la estabilidad de una humedad relativa baja en el local durante todo el año.

Se puede apreciar un incremento considerable del porcentaje de bacterias Gram negativas en 2008 (25,6 %) en relación con el otro año de estudio (8 %), lo que indica que el ambiente de este local es poco saludable. Por ello, se deberán determinar las posibles fuentes de contaminación, ya que en la actualidad este depósito posee buenas condiciones para la conservación de los documentos.

Dentro de las bacterias Gram negativas aisladas en este estudio se encuentran *Serratia marcescens*, *Serratia* sp., *Enterobacter agglomerans*, *Beijerinckia* sp., *Azotobacter* sp., *Acinetobacter* sp. y *Pseudomonas* sp., de las cuales las tres primeras coinciden con los aislamientos realizados en 2004.¹⁴

La mayoría de las bacterias patógenas Gram negativas producen endotoxinas. Estas sustancias son lipopolisacáridos y están relacionados con la membrana bacteriana que al inhalarse, desencadenan irritación de las mucosas del sistema respiratorio y causan fiebre, escalofríos, malestares, dolores de cabeza. Como consecuencia de una exposición continuada a este tipo de bacterias puede producirse bronquitis y asma.^{10,54,61}

Serratia marcescens y *Enterobacter* sp. están relacionadas con enfermedades respiratorias.⁶² En cambio, *Acinetobacter* sp. es un género que se encuentra asociado a infecciones nosocomiales.⁶³

Serratia marcescens pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y puede crecer a temperaturas que oscilan entre 5 y 40 °C, a pH entre 5 y 9, frecuente ambientes húmedos y puede ser peligrosa para el hombre, por lo que resulta patógena en ocasiones. Es un bacilo mótil que puede provocar conjuntivitis, queratitis e infecciones en heridas, así como afecciones renales y en las vías urinarias, infecciones respiratorias, meningitis y endocarditis. Esta bacteria afecta especialmente a personas hospitalizadas o a aquellas que tienen la inmunidad disminuida por enfermedades sistémicas o tratamientos médicos con inmunosupresores o a ambas.⁶⁴

Azotobacter sp. y *Beijerinckia* sp. son bacterias comunes del suelo,⁶⁵ que pudieron penetrar al interior del local a través de la ventana, pues este depósito está ubicado en el semisótano del edificio y su ventana queda a nivel de la tierra.

Se conoce que varias especies pertenecientes al género *Pseudomonas* son patógenos oportunistas en humanos, como es el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, que posee una marcada resistencia a determinados antibióticos.⁶⁶

Tabla 4. Densidad relativa de los distintos tipos de bacterias aisladas en el aire de la Fototeca en 2004 y 2008.

Características morfológicas de las bacterias	Densidad relativa (%)	
	2004	2008
Cocos Gram positivos	56,8	59,0
Bacilos Gram positivos no esporulados	32,5 ^a	10,3 ^b
Bacilos Gram positivos esporulados ¹	2,7	5,1
Cocos Gram negativos	–	20,5
Bacilos Gram negativos	8,0	5,1

^a Se incluye un 8 % de cepas del género *Streptomyces* sp.

^b Se incluye un 6 % de cepas del género *Streptomyces* sp.

¹ Corresponden al género *Bacillus*.

Los géneros *Bacillus*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Acinetobacter* y *Enterobacter* han sido aislados por otros autores en ambientes de archivos.^{14,15,41,44} Sin embargo, en toda la información consultada no se encontraron referencias de la presencia de los géneros *Azotobacter* y *Beijerinckia* en este tipo de ambiente.

La mayoría de los géneros bacterianos detectados en este estudio no están directamente relacionados con el deterioro del papel sino con las afecciones que pueden provocar a los humanos. Sin embargo, *Bacillus* y *Streptomyces* por su marcada actividad celulolítica,⁶⁷ pueden degradar el papel a una humedad relativa de 90 % en 24 h, lo cual pudiera llevarse a cabo si la humedad relativa del depósito aumentara bruscamente por cualquier motivo.

Si bien concentraciones de microorganismos medianas o elevadas en el aire pueden ser dañinas al hombre, también resultan perjudiciales al patrimonio documental. Se ha podido determinar, fisiológicamente, la actividad biodegradante de la mayoría de los hongos aislados en ambos años de estudio y se encuentra referida una similar actividad de algunos géneros bacterianos, lo cual es indicativo de un gran riesgo de biodeterioro por microorganismos, si las condiciones ambientales imperantes se deterioraran.

CONCLUSIONES

El ambiente de la Fototeca del Archivo Nacional de la República de Cuba se considera no contaminado, pues la concentración microbiana del aire en su interior resulta menor a 1 000UFC/cm³. En él, el género fúngico *Cladosporium* y las bacterias Gram positivas resultan dominantes.

Todas las cepas fúngicas aisladas muestran actividad celulolítica y liberan ácidos al medio, lo cual evidencia que las cepas fúngicas aisladas pueden propiciar el biodeterioro de los soportes documentales almacenados en la Fototeca. Por otro lado, los géneros bacterianos *Bacillus* y *Streptomyces* al ser celulolíticos pueden deteriorar los documentos a una humedad relativa superior al 90 %.

Los géneros fúngicos aislados y la mayoría de las cepas bacterianas identificadas pueden provocar afecciones a la salud humana, por lo que su existencia en ese lugar constituye un riesgo potencial para la salud de los trabajadores.

Por primera vez en Cuba, se detectaron cepas bacterianas de los géneros *Azotobacter* y *Beijerinckia* en su ambiente, las cuales provienen del suelo.

REFERENCIAS BIBLIORÁFICAS

- Mandrioli P. Bioaerosol and Biodeterioration. Part 2. EC Advanced Study Course in Science and Technology of the Environment for Sustainable Protection of Cultural Heritage. Technical Notes for Session 7-8. UCL Center for Sustainable Heritage. London. UK: 2002. [Consultado: 15 de marzo de 2004]. Disponible en: http://www.ucl.ac.uk/sustainableheritage/Archive_0906/sustainableheritage/sustainableheritage/learning/asc/delegates/TechNotes_PM.pdf
- Walker A. Basic preservation guidelines for library and archive collections. National Preservation Office. The British Library. 2003. [Consultado: 9 de febrero de 2006]. Disponible en: <http://www.bl.uk/blpac/pdf/basic.pdf>
- Florian MLE. Fungal facts. Solving fungal problems in heritage collections. Archetype Publications Ltd. London: UK: 2004:p.25, 26, 52, 60, 61, 65, 71, 72, 109.
- Cruz P. 2002. Identification of airborne fungi. Encyclopedia of Environmental Microbiology. Bitton G. (editor), Vol. 3, New York: John Wiley & Sons, Inc.: 2002:p.1647-61.
- Rojas TI, Martínez E, Gómez Y, Alvarado Y. Airborne spores of *Aspergillus* species in cultural institutions al Havana University. Grana. 2002;41:190-3.
- Toivola M, Alm S, Reponen T, Kolari S, Nevalainen A. Personal exposure and microenvironmental concentration of particles and bioaerosols. J Environ Monit. 2002;4:66-5.
- Abrusci C, Martín-González A, Del Amo A, Catalina F, Collado J, Platas G. Isolation and identification of bacteria and fungi from cinematographic films. International Biodeterioration and Biodegradation. 2005;56:58-68.
- Wiktor V, Grosseau P, Guyonnet R, García-Díaz E. Biodeterioration of cementitious matrix by fungi. Geophysical Research Abstracts, Vol.9. European Geosciences Union. EGU2007-A-09404. 2007. [Consultado: 8 de junio de 2008]. Disponible en: <http://hss.ulb.uni-bonn.de/90/2007/1252/1252.pdf>
- Rintala H, Pitkäranta M, Toivola M, Paulin L. Nevalainen A. Diversity and seasonal dynamics of bacterial community in indoor environment. BMC Microbiology 2008;8:56 doi:10.1186/1471-2180-8-56. [Consultada: 29 de julio de 2009]. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/8/56>.
- Nevalainen A, Morawaska L. Biological agents in indoor environments. Assessment of health risks. Work conducted by a WHO Expert Group between 2000-2003. 2009. [Consultado: 4 de septiembre de 2009]. Disponible en: http://www.ilaqh.qut.edu.au/Misc/BIOLOGICAL_AGENTS_2009.pdf.
- Florian MLE. Water, heritage photographic materials and fungi. Topics in Photographic Preservation. 2003;10:60-73.
- Hueck HJ. The biodeterioration of materials as a part of hydrobiology. Materials and Organism. 1965;1:5-34.
- Villalba LS, Mikan JF, Sanchez J. Actividades hidrolíticas y caracterización isoenzimática de poblaciones microbianas aisladas del patrimonio documental del Archivo General de Colombia. NOVA. 2004;2:50-8.
- Borrego S, Pons V, Perdomo I. La contaminación microbiana del aire en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba. Revista CENIC Ciencias Biológicas. 2008;39:63-8.
- Valentín N. Microorganisms in museum collections. COALITION. 2010;(19):2-5.
- Florian MLE, Manning L. SEM analysis of irregular fox spots in an 1854 book: Population dynamics and species identification. International Biodeterioration and Biodegradation. 2000;46:205-20.
- Rakotonirainy MS, Heude E, Lavédrine B. Isolation and attempts of biomolecular characterization of fungal strains associated to foxing on a 19th century book. Journal of Cultural Heritage. 2007;8:126-33.
- Guimet PS, Gómez de Saravia SG, Battistoni P, Borrego S, de la Paz J, Pons V. Evaluación microbiológica de los materiales almacenados en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, Argentina y en el Archivo Nacional de la República de Cuba. En: Vázquez C., Martín Palacios O, editores. Patrimonio cultural: la Gestión, el Arte, la Arqueología y las Ciencias Exactas, 1ra ed. Buenos Aires, Argentina: Comisión Nacional de Energía Atómica - CNEA: 2007:p.25-30.
- Valentín N. 2004. Diseño y propuesta para el control y erradicación del biodeterioro. Microorganismos e insectos. Jornadas Monográficas. Prevención del biodeterioro en archivos y bibliotecas. España. Instituto del Patrimonio Histórico Español: 2004:p.84-9.
- Bogomolova EV, Kirtsideli I. Airborne fungi in four stations of the St. Petersburg Underground railway system. International Biodeterioration and Biodegradation. 2009;63:156-61.
- Barnett HL, Hunter BB. Illustrated genera of imperfect fungi. 3rd Edition, Minneapolis: Burgess Publishing Co.: 1987.
- The *Aspergillus* Website. Image Bank. Species images of *Aspergillus*. 2006. [Consultado: 20 de septiembre de 2007]. Disponible en: <http://www.aspergillus.man.ac.uk/index.html>.
- Pitt JI. A laboratory guide to common *Penicillium* species. Color Appendix. Third edition published by Food Science Australia. 2007. [Consultado: 26 de octubre de 2007]. Disponible en: http://www.dehs.umn.edu/iaq_fib_fg_gloss_penicilliumsp.htm.

24. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Holt JG (editor-in-chief). Vol.1: Baltimore, London: Williams & Wilkins: 1984.
25. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Sneath PH, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG, editores. Vol.2: Baltimore, London: Williams & Wilkins: 1986.
26. Smith G. Ecology and Field Biology. 2nd Edition: New York: Harper & Row: 1980:p.134.
27. Rautela GS, Cowling EB. Simple culture test for relative cellulolytic activity of fungi. Appl Microbiol 1986;14:892-7.
28. Szczepanowska H, Lovett CM. A study of the removal and prevention of fungal stains on paper. JAIC. 1992;3:147-60.
29. Klich MA, Pitt JI. 1994. A laboratory guide to the common *Aspergillus* species and their teleomorphs. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Processing: North Ryde, Australia. 1994.
30. Roosa M. 2004. Care, handling and storage of photographs. International Preservation Issues. 2004;(5):20-39.
31. Wonder Makers Environmental Inc. Post-remediation Guideline. Information Series 147, December 2001. [Consultado: 10 de abril de 2004]. Disponible en: http://www.wondermakers.com/public_html/Articles/Remediation%20Guidelines.pdf.
32. Eagle Industrial Hygiene Associates. Microbial Sampling and Analysis: moulds and bacteria. 2004. [Consultado: 10 de enero de 2005]. Disponible en: <http://www.eagleih.com/micro.html>
33. Radler de Aquino F, de Góes L.F. Guidelines for indoor air quality in offices in Brazil. Proceedings of Healthy Buildings. 2000;4:549-54.
34. Kołwzan B, Adamiak W, Grabas K, Pawełczyk A. Microbiology of air. In: Introduction to Environmental Microbiology. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej: Wrocław. 2006. [Consultado 25 de octubre de 2007]. Disponible en: <http://www.oficyna.pwr.wroc.pl>
35. Vaillant M, Barreal RT, Sánchez AI. Algunas consideraciones sobre la contaminación fúngica en depósitos y documentos del Archivo Nacional de Cuba. Boletín del Archivo Nacional. 1992;(6):81-8.
36. Vaillant M. 1994. La Microbiología: Una herramienta importante para el trabajo de los archivos. Boletín del Archivo Nacional. 1994;(7):105-8.
37. Martínez P. Determinación de la acidez producida por hongos contaminantes en bienes culturales. Boletín Patrimonio y Desarrollo 2003;(9):3-11.
38. Borrego S. 2004. Método para contabilizar microorganismos del aire en ambientes de archivos y bibliotecas. Patrimonio y Desarrollo. 2004;(11):8-9.
39. Hidalgo Y, Borrego S. Aislamiento y caracterización de hongos en documentos de la Biblioteca Nacional "José Martí". Bibliotecas. 2006. [Consultado: 10 de diciembre de 2006]. Disponible: http://www.bnjm.cu/sitios/rev_biblioteca/bibliotecas_2006/pages/articulo6.htm
40. Rojas TI, Martínez E, Aira MJ, Almaguer M. 2008. Aerobicota de ambientes internos: Comparación de métodos de muestreo. Boletín Micológico. 2008;23:67-73.
41. Borrego S, Guiamet P, Gómez de Saravia S, Battistoni P, García M, et al. The quality of air at archives and the biodegradation of photographs. International Biodeterioration and Biodegradation. 2010;64:139-45.
42. Valentín N, Vaillant M, Guerrero H. Programa de control integrado de plagas en bienes culturales de países de clima mediterráneo y tropical. Apoyo. 1997;7:13-21.
43. Maggi O, Persiani AM, Gallo F, Valenti P, Pasquariello G. Airborne fungal spores in dust present in archives: proposal for a detection method, new for archival materials. Aerobiología. 2000;16:429-34.
44. Valentín N. 2001. Microbial contamination and insect infestation in Spanish museums, archives and libraries. COALITION. 2001;(3):5-6.
45. Bueno DJ, Silva JO, Oliver G. Hongos ambientales en una biblioteca: un año de estudio. Anales de Documentación. 2003;6:27-34.
46. Mesquita N, Portugal A, Videira S, Rodríguez-Echeverría S, Bandeira AML, Santos MJA, et al. Fungal diversity in ancient documents. A case study on Archive of the University of Coimbra. International Biodeterioration and Biodegradation. 2009;63:626-29.
47. Nielsen KF. 2003. Mycotoxin production by indoor moulds. Fungal Genetics and Biology. 2003;39:103-17.
48. Mateus J, Peña D, Peña G, Roja A, Rojas J, Zambrano S, et al. Seguimiento y control de biodeterioro microbiológico en documentos de interés histórico en el Archivo General de La Nación. Revista de la Facultad de Ciencias Pontificia Universidad Javeriana. 2004;9:37-46.
49. Vaillant M, Valentín N. Principios básicos de la conservación documental y causas de su deterioro. Ministerio de Educación y Cultura. Instituto del Patrimonio Histórico Español: Madrid: 1996:p.85, 86.
50. EMLab (Environmental Microbiology Laboratory, Inc.). Fungal Library. An index of some commonly encountered fungal genera. 2002. [Consultado: 21 de septiembre de 2007]. Disponible en: <http://www.emlab.com/app/fungi/Fungi.po>
51. Storey E, Dangman KH, Schenck P, DeBernardo R, Yang CS, Bracker A, et al. Guidance for clinicians on the recognition and management of health effects related to mould exposure and moisture indoors. 2004. [Consultado: 30 de abril de 2006]. Disponible en: <http://structuretec.cm/pdfs/AirQuality.pdf>.
52. Zhu H, Phelan PE, Duan T, Raupp GB, Fernando HJS, Che F, et al. Experimental study of indoor and outdoor airborne bacterial concentrations in Tempe, Arizona, USA. Aerobiología. 2003;19:201-9.
53. Goh I, Obbard JP, Viswanathan S, Huang Y. Airborne bacteria and fungal spores in the indoor environment. A case study in Singapore. Acta Biotechnologica. 2000;20:67-73.
54. Tsai FC, Macher JM, Hung YY. Concentrations of airborne bacteria in 100 U.S. office buildings. Proceeding: Indoor Air. 2002: p.353-58. [Consultado: 10 de diciembre de 2009]. Disponible: http://www.epa.gov/iaq/base/pdf/base_4c1p5.pdf.
55. Bouillard L, Michel O, Dramaix M, Devleeschouwer M. Bacterial contamination of indoor air, surfaces, and settled dust, and related dust endotoxin concentrations in healthy office building. Ann Agric Environ Med. 2005;12:187-92.
56. Gandara A, Mota LC, Flores C, Pérez HR, Green CF, Gibbs S. Isolation of *Staphylococcus aureus* and antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* from residential indoor bioaerosols. Environ Health Perspect. 2006;114:1859-64.
57. Miller V, Sasala K, Hogan M, Roberts L. Health effect of project SHAD biological agent: *Bacillus globigii*. National Academies. Maryland, USA: The Center for Research Information, Inc.: Contrato No. IOM-2794-04-001. 2004.
58. Rintala H. 2003. *Streptomyces* in indoor environments- PCR based detection and diversity. Publication of the National Public Health Institute: Finland: [Consultado: 16 de febrero de 2006]. Disponible en: http://www.ktl.fi/attachments/suomi/julkaisut/julkaisusarja_a/2003a2.pdf.
59. Fish D. Optimal antimicrobial therapy for sepsis. Am J Health Syst Pharm. 2002;59:13-9.
60. Bacteria In Indoor Air, 2004. [Consultado: 23 de enero de 2005]. Disponible en: <http://www.esl.ns.ca/Bacteria.html>.
61. Indoor Air Quality. Bioaerosols: Bacteria Endotoxin. 2004. [Consultado 23 de octubre de 2008]. Disponible: http://www.indoorallergyrelief.com/_index.php/30.
62. America's Most Wanted Biological Agents. 2003. [Consultado: 4 de diciembre de 2003]. Disponible: <http://www.aerias.org/jtf-mostwanted.htm>
63. Muñoz-Price L, Weinstein S. Infecciones por *Acinetobacter*. RA. N Engl J Med. 2008;358:1271-8.
64. Braunwald E, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson L, Loscalzo J, et al. Harrison. Principios de Medicina Interna. 17ma edición, España, S.A.V: McGraw-Hill-Interamericana: 2008.
65. Mayz-Figueroa J. Fijación biológica de nitrógeno. Revista Científica UDO Agrícola. 2004;4:1-20.
66. Van Eldere J. Multicentre surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections, Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2003;51:347-52.
67. Ramírez P, Cocha JM. Enzymatic degradation of cellulose for thermophilic actinomycete: isolation, characterization and cellulolytic activity determination. Revista Peruana de Biología. 2003;10:67-77.