

Contaminación fúngica: Influencia de la calefacción y de la orientación de la ventilación en locales de viviendas familiares urbanas y suburbanas de la ciudad de Santa Fe, Argentina

Basilico, María Z.^{1*}; Aringoli, Elena²; Chiarvetti José M.³; Basilico Juan Carlos¹

1- Cátedra de Microbiología. Dpto. Ingeniería en Alimentos. Facultad de Ingeniería Química.

2- Instituto de Tecnología de Alimentos. Facultad de Ingeniería Química

3- Cátedra de Diseño IV. Facultad de Arquitectura, Diseño y Urbanismo. Pertenecientes a la Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina

RESUMEN: Se estudió la contaminación fúngica en 33 locales de viviendas unifamiliares urbanas y suburbanas. Se analizó la influencia de la calefacción y la orientación de la ventilación. El estudio se realizó al final del período invernal. Se utilizó un equipo basado en el análisis de un volumen conocido de aire que impactó sobre extracto de malta agar + cloranfenicol.

Los recuentos estadísticamente más bajos (unidades formadoras de colonias/metro³ aire) correspondieron a locales urbanos calefaccionados, mientras que los recuentos más altos correspondieron a locales suburbanos no calefaccionados.

Los géneros fúngicos identificados fueron (%): *Cladosporium* 72,26 ; *Epicoccum* 5,03; *Alternaria* 3,59; *Penicillium* 1,64; *Aspergillus* 1,59; *Dreschlera* 0,95; *Acremonium* 0,76; *Fusarium* 0,52; *Beauveria* 0,51 y con frecuencias inferiores al 0,50: *Botrytis*, *Stachibotris*, *Ulocladium*, *Aureobasidium*, *Curvularia*, *Scopulariopsis*, *Phoma*, *Coletotrichum*, *Mucor*, *Chrysosporium*, *Nigrospora*, *Zygosporium*, *Arthrinium*, *Basipetospora*, *Humicola*, *Geotrichum* y *Sporotrichum*. Las Levaduras (5,33 %), pertenecieron principalmente al género *Rhodotorula*. Un 4,85 % de los mohos desarrollaron micelio estéril. El Análisis de Cluster demostró que *Cladosporium*, *Epicoccum* y *Alternaria* pertenecen a una agrupación fuertemente asociada.

Palabras claves: mohos, hongos aerotransportados, contaminación ambiental, interiores.

SUMMARY: Fungi contamination: Influence of heating and ventilation position in urban and suburban domestic dwellings in Santa Fe, Argentine. Basilico, M.Z.^{1*}; Aringoli, E.²; Chiarvetti J.M.³; Basilico J.C.¹. Fungi contamination in 33 urban and suburban domestic dwellings in Santa Fe, Argentine were studied. The influence of heating and ventilation position was analyzed. The study was made at the end of wintry period. A commercial air sampling device based in the analysis of a known air volume which impacts on multiple hole plate, which contain malt extract agar plus chloramphenicol was used.

The lowest statistically count (colony forming units/meter³ of air) belongs to urban heating dwellings, whereas the highest belongs to suburban non heating homes.

Genera identified were (%): *Cladosporium* 72,26 ; *Epicoccum* 5,03; *Alternaria* 3,59; *Penicillium* 1,64; *Aspergillus* 1,59; *Dreschlera* 0,95; *Acremonium* 0,76; *Fusarium* 0,52; *Beauveria* 0,51 and with frequency inferior to 0,50: *Botrytis*, *Stachibotris*, *Ulocladium*, *Aureobasidium*, *Curvularia*, *Scopulariopsis*, *Phoma*, *Coletotrichum*, *Mucor*, *Chrysosporium*, *Nigrospora*, *Zygosporium*, *Arthrinium*, *Basipetospora*, *Humicola*, *Geotrichum* y *Sporotrichum*. Yeast (5,33 %) belongs principally to *Rhodotorula* genera. An 4,85 % of moulds develop sterile micelia. The Cluster Analysis showed that *Cladosporium*, *Epicoccum* and *Alternaria* belong to a strongly associated group.

Key words: Moulds, airborne fungi, internal air, dwellings.

Introducción

La Organización Mundial para la Salud (OMS) reconoce desde 1981 el Síndrome del Edificio Enfermo como una enfermedad relacionada con la producción de anticuerpos cuando las personas están expuestas a altas concentraciones de propágulos fúngicos aerotransportados. Los síntomas incluyen malestares generalizados, dolores de cabeza, fatiga extrema, sinusitis recurrentes, inflamación de las mucosas, etc. (1).

*Santiago del Estero 2829. (3000) Santa Fe, Argentina.
mbasilic@fiqus.unl.edu.ar

Numerosas especies fúngicas pertenecientes a la subdivisión *Deuteromycotina* son consideradas alergénicos humanos (2). La contaminación fúngica en los ambientes interiores se origina fundamentalmente en el ambiente externo. Los hongos pueden ser introducidos en las habitaciones a través de corrientes de aire, partículas de polvo, suela de los zapatos, mascotas y otros elementos (3). Si estos propágulos encuentran en los ambientes interiores condiciones adecuadas de temperatura, humedad y nutrientes para su colonización podrán establecerse y desarrollar, siendo los procesos de condensación la principal fuente de humedad para el crecimiento en las superficies de los interiores (4).

La liberación de los esporos en el aire interior dependerá de las propiedades fisiológicas de las especies individuales, sin embargo la mayoría de los mohos contaminantes ambientales producen esporos secos que pueden ser liberados pasivamente y así ser transportados o mantenidos en suspensión por acción de las corrientes de aire (5, 6, 7).

Son numerosos los estudios realizados en zonas urbanas en países de climas fríos, que viven gran parte del año en ambientes calefaccionados (8, 9, 10, 11). En los años '70, en Bélgica, debido a la crisis mundial del petróleo, se encontró una correlación positiva entre el recuento de mohos y la disminución de la calefacción en ambientes mal ventilados (12). Sin embargo existe menor número de datos en países con climas cálidos y especialmente de Latinoamérica (13, 14).

En zonas rurales la contaminación fúngica es elevada por el mayor aporte de nutrientes, siendo la tierra un reservorio importante de los mohos (15). Por otra parte no se conocen estudios referidos a la influencia de la localización de las viviendas urbanas o suburbanas sobre la contaminación fúngica interior.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la contaminación fúngica en ambientes de viviendas familiares con localización urbana y suburbana, en la ciudad de Santa Fe, Argentina, durante el período invernal, estudiando la influencia de la calefacción en los mismos.

Materiales y Métodos

Condiciones de muestreo

Se seleccionaron locales pertenecientes a viviendas situadas en la ciudad de Santa Fe, Argentina. La misma se encuentra en la región pampeana y está caracterizada por un clima templado y húmedo, con un período invernal frío moderado. Posee una población aproximada de 350.000 habitantes. Todos los locales estudiados pertenecían a viviendas unifamiliares de situación socioeconómica similar, en planta baja, con dimensiones entre 20 a 40 m² de superficie y condiciones de habitabilidad, limpieza y ventilación semejantes.

Las viviendas urbanas estaban en medianera unas con otras, en calles con transporte público, las suburbanas pertenecían a viviendas separadas con jardines perimetrales y menor afluencia de tránsito sin presencia de transporte público. Se consideraron locales calefaccionados aquellos con calefactores a gas por convección y que estuvieron encendidos permanentemente durante la temporada invernal, los no calefaccionados, aquellos donde la calefacción sólo se encendió de manera ocasional.

Se estudiaron 33 locales distribuidos de la siguiente manera: urbanos calefaccionados 8, urbanos no calefaccionados 8, suburbanos calefaccionados 8 y suburbanos no calefaccionados 9.

El estudio se llevó a cabo al final del período invernal, primera quincena de agosto de 2000, en días soleados con condiciones atmosféricas similares. Para el día de la toma de muestra se recomendó a la familia que realizara la limpieza habitual en horas tempranas y que posteriormente se mantuviera el local cerrado hasta el momento del estudio, realizado éste en horas del medio día.

Simultáneamente se confeccionó una planilla del local donde constaron: domicilio, ubicación, uso del local, orientación de la ventilación principal, así como las características de los muros, cielorraso y piso. La temperatura media interior y la humedad relativa (HR) se determinaron con termómetro de bulbo seco y húmedo.

Muestreo

Se utilizó un equipo (Hi Air Sampler System, HiMedia Lab. Mumbai, India) basado en el muestreo de un volumen conocido de aire que impacta sobre placas multipocillos conteniendo extracto de malta agar con el agregado de cloranfenicol (100 mg/L)

(16). Los locales estudiados fueron estares y dormitorios. La toma de muestra se realizó en el centro de los mismos y a una altura de aproximadamente 1,5 m desde el suelo, entre las 12 y 14 horas (2). Durante el muestreo, salvo la presencia del operador no se registró ninguna otra actividad a los fines de no generar corrientes de aire. En todos los casos el tiempo de muestreo fue de 1 min. Luego de la exposición las placas multipocillos fueron incubadas a 25 °C durante 4 días, posteriormente se realizó el recuento (16). Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por metro cúbico de aire estudiado (UFC/m³). Los cultivos fueron luego purificados de acuerdo a Pitt y Hocking (17) para lo cual esporos fúngicos y/o micelio fueron transferidos a placas de Petri con el mismo medio de cultivo. Este procedimiento se repitió hasta que se obtuvieron cultivos puros caracterizados por el aspecto uniforme de las colonias.

Luego se procedió al aislamiento de los mohos, y se los cultivó con medios apropiados para la identificación de géneros/especies por sus características macro y microscópicas (17, 18, 19, 20).

Estudios Estadísticos

Las UFC/m³ de los ambientes fueron transformados en log₁₀ para el análisis estadístico. Se realizó un análisis de variancia (ANOVA) y se usó el método de mínima diferencia estadística (LSD) del Test de Rangos Múltiples para la comparación de las medias al nivel de significación $p < 0,05$ (21). A los efectos de encontrar grupos de hongos de similares características se realizó un Análisis de Cluster por el método de Ward, aplicando la distancia Euclídea al cuadrado (22).

El software estadístico utilizado fue: "Statgraphics Plus Version 3". Statistical Graphics Corp. 1997.

Resultados y Discusión

Como puede observarse en la Tabla 1 se obtuvieron diferencias significativas cuando se analizó el recuento fúngico teniendo en cuenta tanto la ubicación urbana - suburbana así como las condiciones de los locales calefaccionados - no calefaccionados. El ANOVA demostró que existen diferencias al nivel ($p < 0,05$) y se determinaron cuales medias eran significativamente diferente. Se constató que los recuentos más bajos correspondientes a locales urbanos calefaccionados eran estadísticamente diferentes al resto de los grupos, mientras que los recuentos correspondientes a locales suburbanos no calefaccionados resultaron los más altos y estadísticamente diferente a los recuentos en locales urbanos no calefaccionados. De acuerdo a la bibliografía el recuento de mohos aerotransportados en ambientes interiores es muy variable (23) siendo valores extremos $< 12 - 450.000$ UFC/ m³ (24). Los valores encontrados en el presente trabajo, para todos los locales estudiados, estuvieron dentro de este rango. Los valores extremos fueron: 212 UFC/m³ para un local urbano calefaccionado y 3.075 UFC/m³ para un local suburbano no calefaccionado. Como consecuencia de la calefacción aumenta la temperatura interior de los ambientes disminuyendo la HR en los mismos, lo que hace menos probable la condensación de agua, parámetro fundamental para el desarrollo fúngico. No se pudo constatar diferencias significativas en los valores registrados de HR en horas del medio día en los locales estudiados. Sin embargo es sabido que es en horas de la noche cuando existen mayores diferencias de HR entre los locales que están o no calefaccionados.

Cuando se analizó la orientación principal de la ventilación de los locales tanto urbanos como suburbanos, no se constató diferencias significativas de los recuentos entre las orientaciones norte y sur.

Tabla 1: Resumen estadístico y Análisis de Variancia del Recuento de Mohos (log UFC/m³ de aire) en locales de viviendas unifamiliares de la ciudad de Santa Fe, teniendo en cuenta su ubicación y calefacción

Ubicación	Urbana		Suburbana	
	Con calefacción (8) ¹	Sin Calefacción (8)	Con calefacción (8)	Sin Calefacción (9)
Promedio	2,60184 ^a	3,05637 ^b	2,90725 ^{b,c}	3,19050 ^c
Desviación Estandar	0,21130	0,31223	0,33086	0,21655
Rango	2,32634-2,99432	2,57403-3,43727	2,27184-3,22712	2,92273-3,48785

Análisis de Variancia					
Fuente	Suma de cuadrados	Df	Cuadrado de las medias	Relación-F	Valor p
Entre grupos	1,59505	3	0,531684	7,22	0,0009
Dentro de los grupos	2,1364	29	0,073669		
Total (Correlación)	3,73145	32			

¹ (N): Corresponde al número de locales estudiados en cada grupo

^{a,b,c}: Valores compartiendo la misma letra significa diferencias no significativas

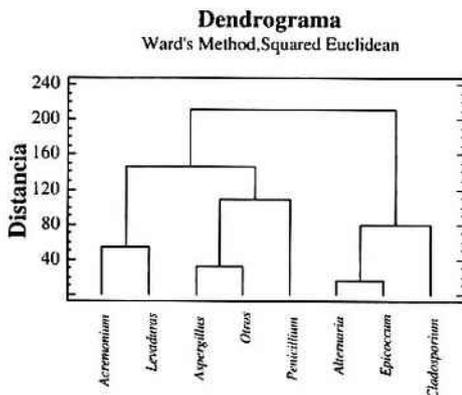
Df: Grados de libertad

Relación-F: relación estimada entre grupos y dentro de grupos

Los géneros fúngicos identificados fueron 26, siendo su frecuencia de aparición porcentual: *Cladosporium* 72,26; *Epicoccum* 5,03; *Alternaria* 3,59; *Penicillium* 1,64; *Aspergillus* 1,59; *Dreschlera* 0,95; *Acremonium* 0,76; *Fusarium* 0,52; *Beauveria* 0,51 y con frecuencias inferiores al 0,50%: *Botrytis*, *Stachibotris*, *Ulocladium*, *Aureobasidium*, *Curvularia*, *Scopulariopsis*, *Phoma*, *Coletotrichum*, *Mucor*, *Chrysosporium*, *Nigrospora*, *Zygosporium*, *Arthrinium*, *Basipetospora*, *Humicola*, *Geotrichum* y *Sporotrichum*. Las Levaduras representaron un 5,33 % del total de hongos enumerados, la mayoría de las cuales perteneció al género *Rhodotorula* que es considerada contaminante ambiental frecuente (2). Un 4,85 % de los mohos desarrollaron micelio estéril por lo que no pudieron ser identificados.

Los principales géneros identificados coinciden con los citados en la bibliografía. En un trabajo de revisión (2), sobre 19 referencias bibliográficas, los autores encontraron que los géneros más frecuentes son en orden de importancia *Cladosporium* (29,2%), *Alternaria* (14,0%), *Penicillium* (8,8%), *Aspergillus* (6,1 %) y *Fusarium* (5,6%). En nuestro estudio también *Cladosporium* es el género que presentó frecuencias más altas en los 33 locales estudiados, llegando hasta el 92 % para dos locales, uno urbano y otro suburbano ambos sin calefacción. Cuando se identificaron las especies pertenecientes a este género se observó que correspondieron principalmente a *C. cladosporioides* y *C. herbarum* y con menor frecuencia *C. sphaerospermum* y con muy pocos aislados *C. macrocarpum*. Los aislados co-

Figura 1: Dendrograma mostrando la clusterización de los principales géneros fúngicos aislados de ambientes interiores teniendo en cuenta las variables de ubicación y calefacción de los locales



Otros: incluye al resto de los géneros fúngicos así como a los mohos no identificados

respondientes al género *Alternaria* correspondieron todos a la especie *A. alternata*. Respecto al género *Aspergillus*, los aislados pertenecieron a diversas especies, con un ligero predominio de *A. niger*, *A. versicolor* y *A. restrictus*. En cuanto a las especies de *Penicillium* más frecuentes fueron *P. chrysogenum* y *P. glabrum*.

Gravesen y col. (3) consideran que los ambientes interiores y especialmente el polvo de los hogares es un biotopo muy estable en diferentes regiones, encontrándose diferencias cuantitativas más que cualitativas para las zonas geográficas estudiadas: Canadá y Dinamarca. Sin embargo en estas regiones frías *Epicoccum nigrum* sólo ha sido encontrado en forma muy esporádica como contaminante de interiores (24), a diferencia del presente trabajo donde se lo ha aislado con una frecuencia que supera el 5%. *E. nigrum* es un moho considerado como típico invasor primario en la naturaleza, especialmente de material vegetal muerto, sin embargo como puede ser un contaminante ambiental tanto a nivel habitacional (3, 24) como industrial (25). Por otra parte como puede crecer hasta 37 °C es capaz de actuar como patógeno humano (2, 3).

Dado que los principales géneros encontrados fueron aislados de la mayoría de los locales se aplicó el Análisis de Cluster usando el método de Ward, para verificar si existían agrupaciones dominante entre ellos. Para lo cual se tuvo en cuenta la ubica-

ción urbana - suburbana y la presencia o no de calefacción. Los resultados obtenidos se muestran en el Gráfico 1, donde puede observarse que se crearon 3 clusters a partir de los valores obtenidos, demostrando las características similares dentro de cada uno de ellos. *Cladosporium*, *Epicoccum* y *Alternaria* pertenecen a un cluster que presenta un comportamiento particular, estando los otros 2 clusters formados por *Acremonium* y Levaduras por una parte, y *Aspergillus* y *Penicillium* junto al resto de los mohos encontrados por otra.

Esta asociación principal podría estar justificada por el hecho que estos géneros fúngicos (*Cladosporium*, *Epicoccum* y *Alternaria*) comparten características comunes, siendo las principales la pigmentación y el tamaño de sus conidios (17, 18) lo que podría estar favoreciendo una mayor resistencia a los procesos de desecación y radiaciones ultravioleta. Asimismo en el aire pueden existir una serie de mohos que debido a su escasa vitalidad no pueden ser recuperados *in vitro* a pesar de que ellos pueden todavía conservar su poder alergénico (9)

Los principales mohos responsables de causar alergias incluyen especies pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* (2); todos ellos son aerotransportados (2, 3). Sin embargo cualquier moho puede resultar alergénico si encuentra al individuo adecuadamente sensible(2).

Conclusiones

En el presente trabajo se constató que a fines del invierno, en la ciudad de Santa Fe, los recuentos fúngicos resultaron significativamente menores en viviendas calefaccionadas ubicadas en zonas urbanas de mediana densidad poblacional, mientras que los mayores fueron observados en viviendas no calefaccionadas ubicadas en zonas suburbanas, independientemente de que la principal orientación de la ventilación de los locales sea norte o sur. Por otra parte de los 26 géneros identificados, los más frecuentes y comunes a todos los locales estudiados fueron: *Cladosporium*, *Epicoccum* y *Alternaria*.

Bibliografía

- 1- Block, S. S., 1991. Microorganisms, Sick Buildings, and Building Related Illness, cap 65. En: "Disinfection, Sterilization, and Preservation". Ed. por S.S. Block. Lea & Febiger. (Philadelphia, U.S.A.), 1107-1120.
- 2- Al-Doory, Y., y Domson, J.F., 1984. "Mould Allergy". Lea & Febiger (Philadelphia, U.S.A.).
- 3- Gravesen S.; Frisvad J.C. y Samson R.A., 1994. "Microfungi". Special - Trykkeriet Viborg a/s, (Copenhagen, Dinamarca).
- 4- Building Research Establishment, 1985. Digest 297: Surface condensation and mould growth in traditionally-built dwellings. Ed. por Garston, Herts.: Building Research Establishment (Aylesbury, U.K.).
- 5- Gregory PH., 1973. "Microbiology of the Atmosphere". Leonard Hill (Plymouth), 39-42
- 6- Kramer C.L., 1979. "Aerobiology. The Ecological Systems Approach". Dowden, Hutchinson & Ross, (Stoudsburg), 24-40.
- 7- Piecková E., y Jesenska Z., 1999. Microscopic fungi in dwellings and their health implications in humans. Ann. Agric. Environ. Med. **6**, 1-11.
- 8- Federal-Provincial Committee on Environmental and Occupational Health of Canada, 1995. "Fungal Contamination in Public Buildings: A Guide to Recognition and Management", (Ottawa, Canada).
- 9- Johanning E., y Yang C.S., 1995. Fungi and Bacteria in indoor air environments. Health Effects. Mount Sinai, Eastern New York Occupational Health Program, (New York, U.S.A.).
- 10- Pirhonen I.; Nevalainen A.; Husman T., y Pekkanen J., 1996. Home dampness, moulds and their influence on respiratory infections and symptoms in adults in Finland. Eur. Respir. J., **9**, 2618-2622.
- 11- Reenen-Hoekstra, van, E.S.; Samson R.A.; Verhoeff A.P.; van Wijnen J.H., y Brunekreef B., 1991. Detection and identification of moulds in Dutch houses and non-industrial working environments. Grana **30**, 418-423.
- 12- Summerbell R.C.; Staib F.; Dales R.; Nolard N.; Kane J.; Zwanenburg H.; Burnett R.; Krajden S.; Fung D.; y Leong D., 1992. Ecology of fungi in human dwellings. J. Med. Vet. Mycol., suppl. **1**, 279-285.
- 13- Lacaz, C.S. 1958. Fungos anemofilos mas cidadesde São Paulo e Santos. Rev. Hosp. Clin. Fac.Med. São Paulo. **13**, 187-190.
- 14- Naranjo P., 1958. Etiologicalagents of respiratory allergy in tropical countries of Central and South America. J. Allergy. **22**, 326-333.
- 15- Grant W.D., y Long P.E. 1989. "Microbiología ambiental". Editorial Acibia, S.A. (Zaragoza, España).
- 16- Verhoeff A.P., van Wijnen J.H., Boleij J.S.M., Brunekreef B., van Reenen-Hoekstra, E.S., Samson R.A. (1990) Enumeration and identification of airborne viable mould propagules in houses. Allergy **45**, 275-284.
- 17- Pitt J.J., y Hocking A.D., 1997. "Fungi and food spoilage" Blackie Academic and Professional (London U.K.).
- 18- Samson R.A.; Hoekstra, E.S.; Frisvad J.C., y Filtenborg O., 1995. "Introduction to food-borne fungi". Centraalbureau voor Schimmelcultures, (Baarn, The Netherlands).
- 19- Domsch K.H.; Gams W., y Anderson T.H. 1980. "Compendium of Soil Fungi". vol. 1. Academic Press (London, U.K.).
- 20- Carmichel J.W.; Kendrick W.B.; Conners I.L., y Sigler L., 1980. "Genera of Hyphomycetes". University of Alberta Press (Alberta, Canada).
- 21- Snedecor G.W. y Cochran W.G., 1977. "Métodos Estadísticos". Compañía Editorial Continental S.A. (México).
- 22- Hair J. Jr.; Anderson R.; Tatham R., y Black W., 1999. "Análisis multivariante". Printice Hall Iberia (Madrid, España).
- 23- Piecková E., y Jesenská Z., 1999. Microscopic fungi in dwellings and their health implications in humans. Ann. Agric. Environ. Med., **6**, 1-11.
- 24- Hunter C.A.; Grant C.; Flannigan B., y Bravery A.F., 1988. Mould in building: the air spora of domestic dwellings. Intern. Biodeter., **24**,81-101.
- 25- Basílico J.C.; Basílico M.Z.; Chiericatti C., y Vinderola C.G., 2001. Characterization and control of thread mould in cheese. Letters Appl. Microbiol., **32**, 419-423.