

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA FÚNGICA
DEL AIRE EN UN ÁREA DE ENVASADO DE BEBIDAS”**

Presentado por:

Catherine Harumi Chong Sakihara

Christabelle Alexandra Savaresse Kennedy

Trabajo Académico para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO

Lima – Perú

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS

**“ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA FÚNGICA
DEL AIRE EN UN ÁREA DE ENVASADO DE BEBIDAS”**

Presentado por:

Catherine Harumi Chong Sakihara

Christabelle Alexandra Savaresse Kennedy

Trabajo Académico para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO

Sustentado y aprobado por el siguiente Jurado:

Biol. Juan Juscamaita Morales
PRESIDENTE

Biol. Katty Ogata Gutiérrez
MIEMBRO

Ph.D. Ana Kitazono Sugahara
MIEMBRO

Dr. Víctor Meza Contreras
ASESOR

Biol. Roberto Ramos Chaupin
Co-ASESOR

Dedicatoria

A mis padres Sachiko y Yori, porque cada uno a su manera nunca dejó de preocuparse, alentarme y apoyarme durante todos estos años, a pesar que muchas veces los saqué de quicio. Les estoy eternamente agradecida por tenerme tanta paciencia y por nunca perder su fe en mí.

A mi *obaachan* Mari, por ayudarme en todos los momentos que pudo. Aunque no lograste ver como terminé este trabajo, quiero darte las gracias por tanto cariño y sé que desde donde estás seguirás cuidándome y dándome fuerzas para seguir adelante.

A Fabian, por ser mi principal soporte. Tu amor, perseverancia y gran paciencia han acompañado cada uno de mis pasos, sobre todo en los momentos más difíciles. Es por ti que he podido avanzar, tener más confianza en mí misma y ver las cosas más positivamente.

Gracias a ustedes he logrado culminar con éxito esta etapa de mi vida y les dedico este pequeño logro.

Catherine Chong.

A mi madre Anabelle, por su apoyo en todo momento, su comprensión y amor sincero.

A mi compañero de vida Daniel García, por su confianza, paciencia y amor incondicional.

Christabelle Savaresse.

Agradecimientos

De manera especial al Dr. Víctor Meza Contreras y al Blgo. Roberto Ramos Chaupin, asesor y co-asesor de tesis, por sus orientaciones y consejos para la realización de esta investigación.

A la empresa AJEPER S.A. Planta Huachipa por facilitarnos el ambiente de trabajo, los materiales y equipos para la realización del presente trabajo.

A Miguel Llapasca, por su asesoramiento en los temas estadísticos. Consideramos que un six-pack no es suficiente reconocimiento.

Finalmente, a la Ph.D. Ana Kitazono Sugahara, por ser nuestra guía. Sus valiosas observaciones y recomendaciones han sido muy útiles para enriquecer nuestro trabajo.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN.....	
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	
2.1.	CALIDAD DEL AIRE EN INTERIORES.....	
2.2.	AGENTES BIOLÓGICOS QUE AFECTAN LA CALIDAD DEL AIRE.....	
2.3.	HONGOS.....	
2.3.1.	HONGOS FILAMENTOSOS.....	
a.	Reproducción de hongos filamentosos.....	
b.	Germinación de las esporas.....	
2.3.2.	LEVADURAS.....	
2.3.3.	NECESIDADES FISIOLÓGICAS.....	
2.3.4.	CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS.....	
a.	División Zygomycota.....	
b.	División Ascomycota.....	
2.4.	HONGOS EN LOS AMBIENTES INTERIORES.....	
2.4.1.	FACTORES QUE CONTRIBUYEN A LA CONTAMINACIÓN FÚNGICA DEL AIRE INTERIOR.....	
a.	Actividad de agua.....	
b.	Humedad relativa y temperatura.....	
c.	Ventilación.....	
d.	Polvo.....	
2.4.2.	PRINCIPALES FUENTES DE CONTAMINACIÓN EN AMBIENTES INTERIORES.....	
2.4.3.	GÉNEROS FÚNGICOS MÁS FRECUENTES EN AMBIENTES INTERIORES.....	
2.4.4.	NIVELES DE ESPORAS FÚNGICAS EN EL AIRE INTERIOR.....	
2.5.	MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AIRE INTERIORES Y EXTERIORES.....	
2.5.1.	MÉTODOS DE MUESTREO DE HONGOS AMBIENTALES.....	
a.	Sedimentación.....	
b.	Filtración.....	
c.	Impactación sobre superficies sólidas.....	
d.	Borboteo en líquidos.....	
2.5.2.	MUESTREADORES DE IMPACTACIÓN SOBRE SUPERFICIES SÓLIDAS.....	

2.5.3.	MEDIOS DE CULTIVO PARA LA RECUPERACIÓN DE HONGOS..	
2.6.	REGLAMENTOS Y LINEAMIENTOS	
2.6.1.	CALIDAD DEL AIRE INTERIOR	
2.6.2.	SISTEMAS DE CLIMATIZACIÓN	
2.6.3.	ÁREAS LIMPIAS	
2.6.4.	ELABORACIÓN DE MEDICAMENTOS	
2.6.5.	VENTILACIÓN EN HOSPITALES	
2.6.6.	LABORATORIOS	
2.7.	IMPACTO DE LOS HONGOS AMBIENTALES EN LA SALUD	
2.7.1.	INFECCIONES FÚNGICAS O MICOSIS.....	
a.	Patógenos fúngicos primarios	
b.	Patógenos fúngicos oportunistas	
2.7.2.	ALERGIAS	
a.	Rinitis.....	
b.	Asma	
c.	Dermatitis alérgica.....	
d.	Neumonitis por hipersensibilidad.....	
e.	Sinusitis fúngica alérgica	
2.7.3.	ENFERMEDADES OCUPACIONALES CAUSADAS POR HO AMBIENTALES	
2.7.4.	PREVALENCIA DE ALGUNAS ENFERMEDADES RELACIONAL LOS HONGOS AMBIENTALES	
III.	METODOLOGÍA	
3.1.	LUGAR.....	
3.2.	MATERIALES.....	
3.3.	EQUIPOS	
3.4.	REACTIVOS.....	
3.5.	MEDIO DE CULTIVO	
3.6.	MÉTODOS	
3.6.1.	DESCRIPCIÓN DEL AMBIENTE DEL ÁREA DE ENVASADO ENTORNO DE AJEPER S.A. PLANTA HUACHIPA.....	
3.6.2.	EVALUACIÓN DE LA CARGA FÚNGICA AMBIENTAL.....	
a.	Preparación del medio de cultivo	
b.	Muestreo ambiental	
c.	Contaminación fúngica presente en el aire	
3.6.3.	IDENTIFICACIÓN DE COLONIAS DE HONGOS AMBIENTALES ..	

3.6.4.	MEDICIÓN DE LA HUMEDAD Y TEMPERATURA.....
3.6.5.	APLICACIÓN DE ENCUESTA A LOS TRABAJADORES.....
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....
V.	CONCLUSIONES.....
VI.	RECOMENDACIONES
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
VIII.	ANEXOS.....

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Algunos efectores que estimulan <i>in vitro</i> el dimorfismo de distintos hongos.	
Tabla 2: Criterios de contaminación fúngica en UFC/m ³ en el aire de los ambientes interiores.	
Tabla 3: Criterios de valoración y método de análisis para hongos y bacterias en suspensión.	
Tabla 4: Resumen de estándares y lineamientos para hongos en el aire por organizaciones privadas y gubernamentales.	
Tabla 5: Clasificación ISO de la limpieza del aire por la concentración de partículas (ISO 14644-1:1999).	
Tabla 6: Clasificación ISO de la limpieza del aire mediante la concentración de partículas (ISO 14644-1:2015).	
Tabla 7: Ejemplos de operaciones que pueden realizarse según el grado de limpieza del aire en las áreas limpias (OMS).	
Tabla 8: Límites de concentración microbiana según el grado de limpieza del aire en las áreas limpias ^(a) (OMS).	
Tabla 9: Niveles de acción recomendados según la rigurosidad de las áreas limpias (NF).	
Tabla 10: Clasificación del ambiente en función de los recuentos microbiológicos de bacterias mesófilas (UNE 171340:2012).	
Tabla 11: Valores microbiológicos objetivos según la zona en un establecimiento de farmacia (NF S90-351).	
Tabla 12: Requerimientos e interpretación de resultados para muestreos pasivos y activos en áreas limpias farmacéuticas (Public Health England).	
Tabla 13: Requerimientos e interpretación de resultados para la calidad del aire en un laboratorio de operaciones (Public Health England).	
Tabla 14: Límites de las partículas biológicas totales en el aire ambiental según la clasificación (ANVISA).	
Tabla 15: Ejemplos de zonas en las que se podrían realizar las operaciones en un laboratorio de microbiología farmacéutica (OMS).	
Tabla 16: Enfermedades fúngicas transmitidas por el aire.	
Tabla 17: Ejemplos de tipos de hongos en el aire interior que pueden causar rinitis o sinusitis.	
Tabla 18: Principales antígenos o agentes fúngicos en los aerosoles provenientes de materiales asociados a neumonitis por hipersensibilidad.	
Tabla 19: Comparación entre las Fases ISAAC por país en el grupo de 13-14 años de edad sobre la prevalencia de síntomas de asma, rinoconjuntivitis alérgica y eczema.	
Tabla 20: Componentes para la preparación del agar DRBC.	

Tabla 21: Concentración de esporas fúngicas por punto y fecha de muestreo expresadas en UFC/m³.....

Tabla 22: Recuento de esporas fúngicas por género y punto de muestreo.

Tabla 23: Recuento de esporas fúngicas por género y punto de muestreo expresadas en UFC/m³.....

Tabla 24: Frecuencias relativas de las esporas fúngicas por género y por punto de muestreo, expresadas en porcentaje (%).

Tabla 25: Frecuencias totales de los géneros fúngicos al interior y al exterior del estudio, expresadas en porcentaje (%).

Tabla 26: Recuento de las esporas fúngicas por género y la abundancia de cada género en cada fecha de muestreo expresada en porcentaje (%).

Tabla 27: Desviaciones estándares de los datos del recuento de esporas fúngicas por punto de muestreo durante los 12 días de muestreo.

Tabla 28: Correlación de la temperatura ambiental (T_{amb}) y el porcentaje de humedad relativa (%HR) con la concentración de esporas fúngicas (UFC/m³) en cada punto de muestreo.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de la formación de una colonia por hifas vegetativas.	
Figura 2: Tipos de hifas.....	
Figura 3: Esquema de la reproducción sexuada en Zygomycotina.	
Figura 4: Esporas asexuales en los hongos filamentosos.....	
Figura 5: Fotografías de <i>Mucor plumbeus</i> Bon.....	
Figura 6: Fotografías de <i>Fusarium culmorum</i> (W.G.Smith) Sacc.....	
Figura 7: Fotografías de <i>Paecilomyces variotti</i> Bain.....	
Figura 8: Fotografías de <i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link.....	
Figura 9: Fotografías de <i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx.....	
Figura 10: Fotografías de <i>Alternaria alternata</i> (Fries) von Keissler = <i>Alternaria</i> Nees.....	
Figura 11: Fotografías de <i>Aspergillus candidus</i> Link.....	
Figura 12: Mecanismos de muestreo utilizados en la obtención de muestras de hongo	
Figura 13: Impactador por hendidura o rendija.	
Figura 14: Muestreador SAS (Surface Air System).	
Figura 15: Esquema del impactador de cascada Andersen de 6 niveles.....	
Figura 16: Muestreador MAS–100 Eco®.	
Figura 17: Ubicación de los puntos de muestreo en el área de estudio.	
Figura 18: Ubicación y localización de AJEPER S.A. Planta Huachipa.....	
Figura 19: Esquema de la empresa AJEPER S.A. Planta Huachipa.....	
Figura 20: Concentración de esporas fúngicas por punto y fecha de muestreo en UJ	
.....	
Figura 21: Muestra representativa de las colonias fúngicas en agar DRBC (punto de muestreo repetición 1, del 15 de diciembre del 2014).	
Figura 22: Muestra representativa de las colonias fúngicas en agar DRBC (punto de muestreo repetición 1, del 14 de enero del 2015).	
Figura 23: Representación gráfica de la rosa de vientos (19/12/2014 – 20/12/2014). ..	
Figura 24: Frecuencias relativas de las esporas fúngicas totales por género, expresadas en porcentaje (%).	
Figura 25: Frecuencias relativas de las esporas fúngicas por género y por punto de muestreo, expresadas en porcentaje (%).	
Figura 26: Frecuencias totales de los géneros fúngicos al interior y al exterior del área de estudio, expresadas en porcentaje (%).	
Figura 27: Frecuencia de los síntomas presentados en los últimos 30 días por los trabajadores encuestados.....	
Figura 28: Detalle de los síntomas presentados por los trabajadores encuestados.....	

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Instrucciones del proveedor para la toma de muestras ambientales.....	
ANEXO 2: Tabla estadística de corrección de Feller.....	
ANEXO 3: Cuestionario sobre la calidad del aire en espacios interiores.....	
ANEXO 4: Datos de concentración de esporas fúngicas, temperatura ambiente y porcentaje de humedad relativa por día en cada punto de muestreo.	
ANEXO 5: Análisis de regresión UFC vs. Temperatura ambiente (T_{amb}) y porcentaje de humedad relativa (%HR).....	
ANEXO 6: Registro fotográfico.....	

LISTA DE ABREVIATURAS

a_w : Actividad de Agua

ABPA: Aspergilosis Broncopulmonar Alérgica

ACGIH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists

AIHA: American Industrial Hygiene Association

ANVISA: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria

API: Aspergilosis Pulmonar Invasiva

CAI: Calidad del Aire Interior

CEC: Commission of the European Communities

CMHC: Canada Mortgage and Housing Corporation

COV: Compuestos Orgánicos Volátiles

DGIEM: Dirección General de Infraestructura, Equipamiento y Mantenimiento

DRBC: Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol

EPA: Environmental Protection Agency

FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo

HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Points

HR: Humedad Relativa

%HR: Porcentaje de Humedad Relativa

HVAC: Heating, Ventilation and Air Conditioning

IAQ: Indoor Air Quality

Ig: Inmunoglobulina

ISAAC: International Study of Asthma and Allergies in Childhood

ISO: International Organization for Standardization

NH: Neumonitis por Hipersensibilidad

NIOSH: National Institute for Occupational Safety and Health

NTP: Notas Técnicas de Prevención

OMS: Organización Mundial de la Salud

OSHA: Occupational Safety and Health Administration

PCA: Plate Count Agar

PHE: Public Health England

PRONIEM: Programa Nacional de Infraestructura, Equipamiento y Mantenimiento

SAS: Surface Air System

SEE: Síndrome del Edificio Enfermo

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

SFA: Sinusitis Alérgica Fúngica

UFC: Unidad Formadora de Colonias

UNE: Una Norma Española

VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana

VMR: Valor Máximo Recomendable

WHO: World Health Organization

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo por objetivo analizar los hongos ambientales existentes en el área de envasado de bebidas de la empresa AJEPER S.A. Planta Huachipa, situada en la Av. La Paz 131 Santa María de Huachipa, San Juan de Lurigancho, Lima - Perú, durante los meses de diciembre del 2014 y enero del 2015. Conocer la diversidad fúngica y su concentración en un ambiente interior es muy importante para evaluar la calidad del aire interno, ya que las esporas fúngicas tienen la capacidad de afectar negativamente a la salud humana y podrían producir alergias, infecciones o toxicidad en las personas que laboran en él. Se evaluó la calidad del aire al interior del área de envasado, con el fin de conocer la concentración y la variedad de géneros fúngicos mediante el método volumétrico por impactación, y simultáneamente se midió la temperatura ambiental y el porcentaje de humedad relativa con un termohigrómetro. Se tomaron un total de 264 muestras en 11 puntos, de los cuales 10 puntos se ubicaron al interior del área de envasado y un punto al exterior de ésta. El muestreo se realizó durante el turno día por el transcurso de 12 días. Se obtuvo una concentración total de 12220 UFC/m³ colonias fúngicas identificadas durante todos los días de muestreo, siendo los géneros encontrados con mayor frecuencia *Penicillium* (65.70 por ciento), *Cladosporium* (20.64 por ciento), *Paecilomyces* (5.57 por ciento) y levaduras (2.12 por ciento). El ambiente exterior presentó valores de concentración fúngica superiores a los obtenidos en todos los puntos del ambiente interior. Se concluyó que el interior del área de envasado de bebidas presenta condiciones ambientales de temperatura y humedad relativa que favorecen el desarrollo fúngico y que los niveles de concentración fúngica encontrados en él califican entre “intermedio” y “alto” en las referencias para ambientes interiores no industriales.

Palabras clave: Hongos ambientales, calidad del aire interior industrial, humedad relativa, temperatura ambiente, método volumétrico por impactación, *Penicillium*, *Cladosporium*.

ABSTRACT

The aim of the present study was to analyze the airborne fungi existing in the bottling room of AJEPER S.A. Planta Huachipa, located at Av. La Paz 131 Santa María de Huachipa, San Juan de Lurigancho, Lima – Peru, during the months of December 2014 and January 2015. Knowing the airborne fungal diversity and its concentration in indoor environments is very important in order to evaluate indoor air quality, as fungal spores may negatively affect human health and could cause allergies, infections or toxicity in workers. To evaluate indoor air quality inside the bottling room, airborne fungal concentration levels and fungal genera were determined through air quality sampling using a volumetric impaction method. Also, ambient temperature and percent relative humidity were measured simultaneously with a thermo hygrometer. Over the course of 12 days during the day shift, a total of 264 samples were taken in 11 points, of which 10 points were located inside the bottling room and one point was located outside that room. A total of 12220 UFC/m³ fungal colonies were identified during those days, where the genera most frequently found in the 11 sampling points were *Penicillium* (65.70 percent), *Cladosporium* (20.64 percent), *Paecilomyces* (5.57 percent) and yeasts (2.12 percent). Airborne fungal concentration values obtained outside the bottling room were higher than those obtained in all sampling points inside that room. We concluded that the indoor air of the bottling room presents temperature and relative humidity conditions that favor fungal development, and the levels of airborne fungal concentration found in it qualify as "intermediate" and "high" in some references for non-industrial indoor air quality.

Keywords: Airborne fungi, industrial indoor air quality, relative humidity, ambient temperature, volumetric impaction method, *Penicillium*, *Cladosporium*.

I. INTRODUCCIÓN

La industria peruana de bebidas no alcohólicas viene incrementado su oferta en los últimos años y ésta no se detiene. Tradicionalmente está conformada por cuatro líneas de negocio principales: bebidas gaseosas, aguas embotelladas, refrescos y bebidas hidratantes o isotónicas. En el año 2014, la producción nacional de bebidas gaseosas, la línea más importante, ascendió a 1699.3 millones de litros, representando un crecimiento al 1 por ciento respecto al año anterior (RPP, 2014). El Country Manager de Coca-Cola en el Perú precisó que al cierre de ese año el consumo per cápita anual en el país fue de 100 litros (Diario Correo, 2015). El Ministerio de la Producción, en el año 2015, indicó que la producción de las bebidas no alcohólicas registró un crecimiento del 9.3 por ciento, superando el de los dos años previos (1.7 por ciento en el 2014 y 4.6 por ciento en el 2013). Según el banco Scotiabank, en el año 2016, la producción registró un crecimiento del 8 por ciento, debido al dinamismo del consumo privado y la mayor demanda en provincias; donde la expansión estuvo liderada por la línea de aguas embotelladas, cuya producción creció un 14 por ciento (Diario Gestión, 2016).

En general, la productividad en las empresas está relacionada también con la productividad de sus trabajadores, y esto a su vez está ligado con su salud y por lo tanto a su confort en el ambiente de trabajo. Estos trabajadores, como la mayoría de las personas, pasan gran parte de su tiempo diario en ambientes interiores. Según OSHA, los estadounidenses permanecen un 90 por ciento del tiempo en esos ambientes (OSHA, 2011).

Una mala calidad en el aire de los ambientes interiores tiene un impacto directo en la salud de los trabajadores. En España, la mala calidad de aire interior incrementa el ausentismo hasta un 5 por ciento, lo que disminuye la productividad de las empresas hasta un 15 por ciento. Para un edificio de 500 trabajadores, esto puede llegar a suponer pérdidas de aproximadamente 2 millones de euros anuales (Europa Press, 2016). Efectivamente, la

Organización Mundial de la Salud estima en un 37 por ciento el ausentismo producido por los sistemas de climatización deficientes. A pesar de todo esto, en el Perú no existe una normativa para la calidad del aire interior.

Uno de los factores que determinan la calidad del aire interior son los contaminantes aerotransportados, entre ellos los biológicos. El término bioaerosol es generalmente utilizado para referirse a las partículas biológicas suspendidas en el aire como las células bacterianas, esporas fúngicas, virus, o granos de polen y sus fragmentos o sub productos (Buttner *et al.*, 1997), las cuales están siempre presentes en los ambientes interiores. Específicamente, las partículas fúngicas consisten en esporas fúngicas, fragmentos de hifas o de células levaduriformes (Reponen, 1995). Estos bioaerosoles pueden ser transportados por el hombre, provenir del aire exterior, polvo, madera, pintura, papel, humidificadores y otros. El grado de contaminación microbiana en estos ambientes está influenciado por factores tales como la frecuencia de ventilación, el número de personas presentes en la sala y la naturaleza y grado de las actividades que realizan los individuos dentro de los locales (De La Rosa *et al.*, 2000), estos han creado ambientes con exposiciones elevadas a los bioaerosoles, principalmente hongos filamentosos (Douwes *et al.*, 2003).

En las últimas décadas, ha crecido el interés por la exposición a los bioaerosoles, debido a que han surgido muchas actividades industriales nuevas en donde son muy frecuentes las exposiciones a éstos y además se ha reconocido que la exposición a estos agentes biológicos en los ambientes interiores tanto en el campo ocupacional y residencial están asociados con un amplio rango de efectos adversos a la salud, pueden actuar como agentes sensibilizantes en personas susceptibles y también causar enfermedades infecciosas, efectos tóxicos agudos y crónicos, alergias y cáncer (Burge, 1990; Douwes *et al.*, 2003).

A pesar de la importancia del efecto de los hongos en la salud humana, se conoce poco sobre el rol preciso de estos agentes biológicos en el desarrollo y el agravamiento de los síntomas y las enfermedades. En muchos casos, aun no se tiene claro cuáles componentes específicos son causantes principales de estos efectos en la salud (Guardino, 1998; Douwes *et al.*, 2003). Tampoco se han establecido valores umbrales de exposición a estos bioaerosoles debido a la falta de datos de exposición e información en las relaciones dosis

– respuesta, haciendo imposible el establecimiento de estándares regulatorios (Buttner *et al.*, 1997; Douwes *et al.*, 2003, AIHA, 2011).

Existe una amplia variedad de métodos para el muestreo y análisis de los hongos ambientales y se vienen desarrollando algunos nuevos. Sin embargo, aún ningún método por si solo es adecuado para la colecta y el análisis de todos los tipos de hongos. Esto evita que los datos recolectados de diferentes estudios puedan ser comparados adecuadamente debido a las diferencias en el diseño del equipo de muestreo, el tiempo de colecta, la velocidad de flujo de aire y el método de análisis utilizados. Cabe mencionar que actualmente existen normas dadas por algunas organizaciones como ISO (International Organization for Standardization, en sus siglas en inglés) (ISO, 2003a), que sirven como guía y en donde se dan lineamientos para el muestreo del aire en salas limpias, pero de la cual se derivan diferentes manuales para el control de microorganismos en el aire de las áreas de diversos sectores como el de la industria y la salud.

Por las razones anteriormente descritas, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal determinar la calidad microbiológica del aire en el área de envasado de una industria de bebidas (AJEPER S.A. Planta Huachipa) en la temporada de verano 2015 a partir de los hongos ambientales, donde se describió el ambiente del área de envasado y el entorno de la planta, se evaluó la carga microbiana del área de envasado a partir de los hongos ambientales, se identificaron hasta género los hongos ambientales encontrados, además se relacionó la concentración de los hongos con la humedad relativa y la temperatura presentes en el ambiente de estudio y finalmente se realizó una encuesta a los trabajadores para evidenciar la presencia de afecciones causadas por esos hongos ambientales.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CALIDAD DEL AIRE EN INTERIORES

Según OSHA (Occupational Safety & Health Administration) (2015), la calidad de aire interior (CAI), también llamada calidad ambiental interior, describe en qué forma el aire al interior de un ambiente puede afectar la salud, el confort y la habilidad de trabajar de una persona. Puede incluir factores como temperatura, humedad, ventilación deficiente, moho causado por filtraciones de agua o exposición a otros químicos.

NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) (2015) establece que la CAI refiere a la calidad del ambiente dentro de un edificio en relación a la salud y el bienestar de sus ocupantes, la cual está determinada por varios factores, incluyendo iluminación, calidad del aire y condiciones de humedad. Junto con EPA (Environmental Protection Agency), coinciden en que una buena calidad de aire es un componente importante de un ambiente interior saludable ya que optimiza la salud, el confort y la productividad de sus ocupantes, además mencionan que la definición de una buena calidad de aire interior incluye: la introducción y distribución adecuada de la ventilación, el control de contaminantes aerotransportados y el mantenimiento de niveles de temperatura y humedad relativa aceptables (EPA/NIOSH, 1991).

La WHO (Organización Mundial de la Salud, en español) reconoce que disfrutar de un aire interior saludable es un derecho básico de toda persona, debido a que éstas pasan la mayor parte de su tiempo diario en ambientes interiores. La calidad del aire que respiran dentro de esos ambientes es un factor determinante en su salud y bienestar, y que un control inadecuado de la CAI representa una carga significativa a la salud (Heseltine y Rosen, 2009).

Guardino (1998) aplica el término aire interior a los ambientes de interior no industriales como edificios de oficinas, edificios públicos (colegios, hospitales, teatros, restaurantes, etc.) y viviendas particulares, donde las concentraciones de contaminantes en el aire interior de estas estructuras suelen ser de la misma magnitud que las encontradas habitualmente al aire exterior, y mucho menores que las existentes en el medio ambiente industrial.

2.2. AGENTES BIOLÓGICOS QUE AFECTAN LA CALIDAD DEL AIRE

Los bioaerosoles son partículas suspendidas en el aire o compuestos orgánicos volátiles, que están vivos o que proceden de un organismo vivo. En los bioaerosoles se pueden encontrar microorganismos de todo tipo, cultivables, contables y muertos, así como fragmentos, toxinas y partículas producto de los desechos de todo tipo cuyo origen es la materia viva. El tamaño promedio de estas partículas suspendidas en el aire es variable ya que se encuentran desde 0.5 hasta 30 μm (Matthias-Maser *et al.*, 2000).

Las partículas biológicas incluidas en estos bioaerosoles son las bacterias, esporas fúngicas, algas, virus, protozoos, granos de polen, ácaros, fragmentos de algas y de plantas; siendo constituidas en su mayor parte por las esporas fúngicas, que representan el grupo más numeroso. Los bioaerosoles dependen en gran medida de las condiciones de su entorno para la supervivencia y reproducción. Aunque el aire no constituye un hábitat para los microorganismos, éstos utilizan el aire como un medio de dispersión y transporte. Factores tales como la temperatura, la humedad relativa, el movimiento del aire, la luz, las fuentes de alimento y, por descontado, su presencia, van a determinar la abundancia de los contaminantes biológicos en un determinado ambiente (INSHT, 1989).

Los bioaerosoles, pueden formarse por muchas causas como la lluvia, movimiento del agua en los ríos y mar, mal tratamiento de aguas residuales, aspersores de riego, aire acondicionado o secreciones respiratorias del hombre y de los animales. Los microorganismos también pueden encontrarse en el aire sobre partículas de polvo o en el

suelo. En lo que se refiere a su dispersión, estudios han demostrado que la mayoría de los microorganismos soportan un corto desplazamiento de pocos milímetros, exceptuando las especies de bacterias y hongos que forman esporas, las cuales les permiten resistir condiciones hostiles y a su vez ser transportadas a través de largas distancias. Se sabe que las esporas fúngicas elevan sus concentraciones conforme a las condiciones ambientales predominantes en cada estación (Atlas y Bartha, 2002).

2.3. HONGOS

2.3.1. HONGOS FILAMENTOSOS

Los hongos son organismos pertenecientes al reino Fungi. Típicamente son quimiorganótrofos y tienen pocos requerimientos nutricionales. Necesitan carbohidratos complejos como fuente de energía ya que no tienen la capacidad de realizar fotosíntesis ni de fijar carbono, por lo tanto, son heterótrofos que toman los nutrientes por absorción, obteniéndolos mediante la síntesis de enzimas intra y extracelulares, las cuales tienen capacidad para degradar y transformar prácticamente cualquier tipo de sustrato orgánico y además permiten la oxidación de algunos compuestos inorgánicos (Castro, 2009; Cepero *et al.*, 2012). Debido a estas características, estos organismos intervienen de forma activa en los ciclos del carbono y del nitrógeno (Cepero *et al.*, 2012).

Los mohos son hongos filamentosos. Están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Cada filamento, denominado hifa (**Figura 1**), crece fundamentalmente en el extremo por un mecanismo de extensión celular. Estas hifas crecen en masa, produciendo lo que se denomina micelio, el cual posteriormente dará origen a la colonia (Madigan, 2004).

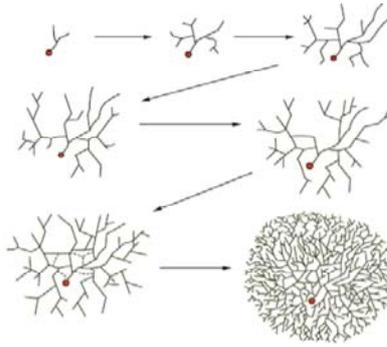


Figura 1: Esquema de la formación de una colonia por hifas vegetativas.

FUENTE: Arenas (2011).

Las hifas están constituidas por dos partes, la primera denominada hifa vegetativa que asegura el desarrollo, la nutrición, la fijación y la edificación de la parte reproductora, y la segunda parte es la hifa reproductora, lugar donde se forman los órganos de reproducción (**Figura 2**).

Si las hifas son filamentosas, se generarán colonias de mohos de crecimiento centrífugo, con filamentos aéreos entremezclados, más o menos largos, o agrupados de forma compacta, con superficies glabras recubiertas de vello fino; cuyo crecimiento será lento, salvo en los hongos oportunistas (Arenas, 2011).

Los hongos filamentosos son pluricelulares y de células alargadas. Estos crecen por extensión apical, tabicándose para formar nuevas células que no se desprenden. Pueden clasificarse en hongos superiores e inferiores. En los superiores, las hifas son delgadas (2-5 μm) y las células fúngicas que las conforman están separadas entre sí por tabiques o también llamadas hifas septadas (**Figura 2b**), provistos de un poro que permite el intercambio de material citoplasmático entre células contiguas. Forman esporas (conidios) directamente en las hifas o en estructuras específicas llamadas conidióforos, constituyendo esporas externas. En los hongos inferiores, las hifas son más anchas (10-15 μm) y no están tabicadas o septadas (**Figura 2a**), por lo que las células forman un conjunto cenocítico con múltiples núcleos y un citoplasma único. Sus esporas, denominadas esporangiosporas, se forman en el interior de estructuras saculares, llamadas esporangios (esporas internas). Cuando los hongos filamentosos crecen en un medio de cultivo sólido, una parte del

micelio penetra en el medio para absorber nutrientes (micelio vegetativo), mientras que el micelio aéreo se proyecta hacia el exterior, dando lugar a matas de apariencia tenaz, algodonosa o pulverulenta, características de las colonias de los hongos filamentosos, fácilmente diferenciables de las colonias de las levaduras (Prats, 2007).

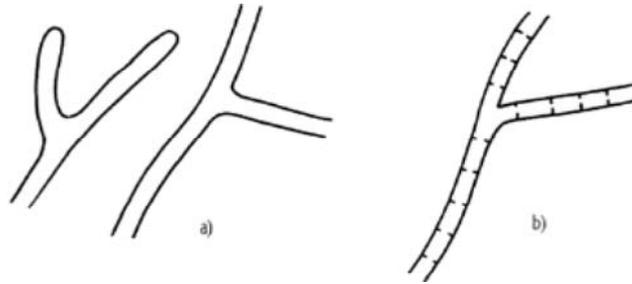


Figura 2: Tipos de hifas.

a) Hifas no septadas. b) Hifas septadas.

FUENTE: Arenas (2011).

a. Reproducción de hongos filamentosos

Los hongos se reproducen fácilmente. Las hifas se desarrollan a partir de una espora por emisión de un tubo germinativo; la forma más simple ocurre por crecimiento apical de las hifas; no hay crecimiento intercalar, pero las células no terminales pueden emitir ramificaciones (Arenas, 2011).

En un grupo importante de hongos solamente se conoce la reproducción asexual, bien porque no se conocen las condiciones adecuadas para que se desarrolle la forma sexual o porque ésta se ha perdido a lo largo de la evolución. Aunque la reproducción asexual puede lograrse por fragmentación de las hifas, ya que cada fragmento puede producir una nueva colonia, normalmente los hongos se reproducen, tanto sexual como asexualmente, por medio de esporas. Las esporas o elementos celulares que sirven para la dispersión se denominan propágulos. Los hongos producen millones de esporas, cada una con la capacidad para desarrollar una nueva colonia (Pontón *et al.*, 2002).

Reproducción sexual

Consta de una serie de fenómenos como la producción de órganos sexuales y gametos; la fusión del protoplasma de estos (plasmogamia) y fusión nuclear; la meiosis en hongos haploides; la aparición de factores genéticos; así como el desarrollo de cuerpos fructíferos y esporas sexuales.

En ocasiones, la plasmogamia se acompaña de la formación de hifas protectoras alrededor del huevo y evoluciona de manera diferente según se trate de hongos inferiores o superiores. En los superiores (Ascomicetos o Basidiomicetos), la fusión nuclear da lugar a células binucleadas o dicariones, y en los inferiores (Zygomycetos) se observan heterocariones (Arenas, 2011).

El apareamiento puede producirse de la hifa proveniente de una sola espora y se llama homotálico; si los gametos son iguales, la reproducción es isogámica, donde el elemento de la fusión se denomina cigoto, y la espora, cigospora; esta es la reproducción sexual en Zygomycotina (ver **Figura 3**).



Figura 3: Esquema de la reproducción sexual en Zygomycotina.

FUENTE: Arenas (2011).

Reproducción asexual

La reproducción mitospórica (antes imperfecta) es la mejor conocida y, por lo general, sirve para identificar al hongo; suele llevarse a cabo por medio de esporas generadas por

células especializadas o conidiógenas, las cuales son externas y se llaman conidios; mientras que en los Zygomycotas estas células son internas y se llaman endosporas o esporangiosporas.

Las endosporas son esporas internas que caracterizan a los hongos inferiores. Se dividen en esporas móviles o zoosporas que no se observan en hongos patógenos para seres humanos, y en esporas inmóviles o esporangiosporas (aplanosporas), contenidas en una vesícula o esporangio. Este último, a su vez, se encuentra sostenido por un filamento portador o esporangióforo, que tiene un tabique de forma especial o columela. Dichas esporas se liberan por roturas de las vesículas; los fragmentos de esta última que permanecen unidos a la columela constituyen el collarete.

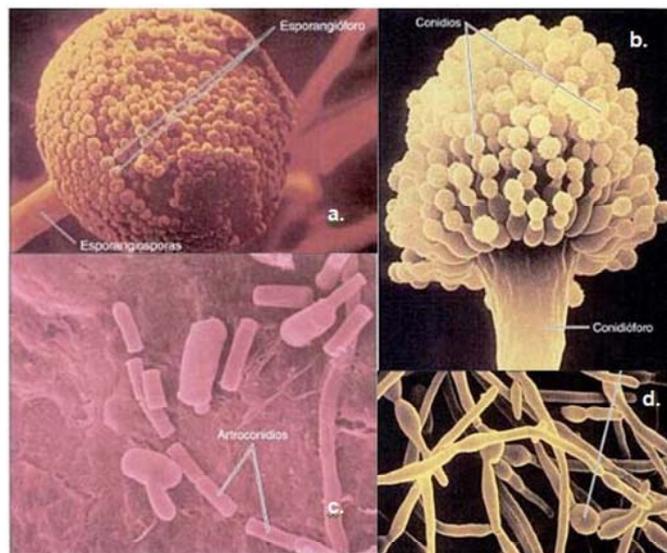


Figura 4: Esporas asexuales en los hongos filamentosos.

a) Esporangiosporas; b) Conidiosporas; c) Artrosporas; d) Clamidosporas.

FUENTE: Tortora *et al.* (2012).

El mecanismo de la esporangiosporogénesis da lugar a la formación de esporangiosporas por fragmentación del citoplasma del esporangio, sin que su pared esté involucrada, y difiere por completo de la producción de conidios. La ontogenia de la esporangiospora incluye un sistema de fragmentación, y la separación eventual de los primordios de vesículas es iniciada por su coalescencia. Esta separación coincide con la aparición de

vesículas fragmentadas formando un complejo de citomembranas a partir del núcleo y del retículo endoplasmático, que converge para separar los primordios en esporas independientes (las membranas fragmentadas se convierten en plasmalema), y cuando están maduras son liberadas al romperse la pared esporangial, o permanecen dentro de la pared. De los varios tipos de esporas asexuales existentes en los hongos, las siguientes son los principales: esporangiosporas (**Figura 4a**), conidiosporas (**Figura 4b**), artrosporas (**Figura 4c**) y clamidosporas (**Figura 4d**) (García, 2004).

b. Germinación de las esporas

Las esporas descritas anteriormente, tanto asexuales como sexuales, germinan cuando se encuentran en un medio apropiado, lo que implica que exista humedad disponible.

La germinación consiste en la activación del metabolismo, seguido por un abultamiento de la espora de la cual se origina un pequeño tubo germinativo. El tubo se alarga hasta convertirse en una hifa que ramifica y continúa desarrollándose hasta dar lugar al micelio y la colonia.

Cuando estas esporas germinan, en el caso de las esporas asexuales, éstas se convierten en organismos genéticamente idénticos al parental. Los organismos que crecen a partir de esporas sexuales tendrán características genéticas de ambas cepas parentales (García, 2004).

2.3.2. LEVADURAS

Son microorganismos importantes desde el punto de vista industrial, ya que muchas especies convierten los azúcares en alcohol etílico y dióxido de carbono que participan en la producción de cerveza, vino, glicerol y vinagre (Hernández, 2003).

Las levaduras pertenecen a los Ascomycota. Su tamaño es muy variable y suelen ser esféricas u ovoides, pero son de mayor tamaño que las bacterias y pueden distinguirse por poseer sistemas membranosos intracitoplasmáticos así como núcleos. (Prescott *et al.*, 2002). Las levaduras crecen típicamente en hábitats con azúcares, tales como frutos, flores y cortezas de los árboles. Un buen número vive simbiote con los animales, especialmente insectos y algunas son patógenas para los animales incluyendo al hombre.

Las levaduras son hongos unicelulares, que constan de un único núcleo, las cuales crecen como poblaciones de células aisladas. Éstas se multiplican generalmente por el proceso llamado gemación que es una reproducción asexual, donde la nueva célula que se origina como un pequeño bulto en la célula madre, crece y se desarrolla como una pequeña protuberancia hasta separarse de ella (Ruiz, 2013). Algunas levaduras pueden reproducirse sexualmente por conjugación (Madigan, 2004). En el caso de *Saccharomyces cerevisiae* la reproducción sexual sólo puede ocurrir entre células haploides de distinto sexo. Se definen por tanto dos tipos sexuales de levaduras, las células a y las células alfa. En este caso, la determinación sexual no se debe a un cromosoma distinto entre sexos sino más bien a una diferencia en un único locus. Dicho locus se conoce con el nombre de *MAT* y gobierna el comportamiento sexual entre células haploides y células diploides (Cordell *et al.*, 2013). Posterior a esto se da la plasmogamia (fusión del citoplasma) seguida de la cariogamia (fusión de núcleos), después la célula diploide (2n) se convierte en asca y finalmente, luego de sufrir meiosis se forman cuatro ascosporas (Prescott *et al.*, 2002). En las levaduras también puede ocurrir la fisión binaria, siendo la especie *Schizosaccharomyces pombe* el único ejemplo de este tipo de reproducción.

El dimorfismo es un fenómeno de especial interés en la micología médica y en la agricultura, debido a que muchos hongos patógenos humanos y de plantas lo presentan. En la actualidad se conocen diversas definiciones del dimorfismo, de las cuales se destacan las siguientes:

1. Capacidad que tienen algunos hongos de presentar una dualidad fenotípica de forma.
2. Condición en la que hay una fase parasitaria de levaduras y una saprótrofa de mohos.

- Interconversión de crecimiento de levaduras a micelio y viceversa, de carácter reversible, controlada a factores ambientales.

El fenómeno de dimorfismo está presente en algunos hongos patógenos, los cuales tienen la capacidad de transición de una morfología levaduriforme a una filamentosa que depende de los patrones de síntesis de la pared fúngica, ya que esta última determina la morfología de la célula del hongo y representa el aumento de la polarización del crecimiento celular mediado por la redistribución polar de la vesícula secretoria que contienen los factores para la síntesis de pared. Estudios moleculares demuestran la existencia de promotores de este fenómeno como es el caso de la proteína de control de la división celular. Esta proteína está regulada por la temperatura (**Tabla 1**) (Cepero *et al.*, 2012).

Tabla 1: Algunos efectores que estimulan *in vitro* el dimorfismo de distintos hongos.

Hongo	Micelio	Levadura
<i>Mucor sp.</i>	Bajo azúcar	Alto azúcar
	Aerobiosis	Anaerobiosis
	Bajo CO ₂	Alto CO ₂
<i>Candida albicans</i>	Alta Temperatura	Baja Temperatura
	pH neutro	pH ácido
	N-acetil glucosamina	
	Suero	
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Baja Temperatura	Alta Temperatura
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Baja Temperatura	Alta Temperatura
<i>Yarrowia lipolytica</i>	pH neutro	pH ácido
	Citrato	
	Suero	
<i>Ustilago maydis</i>	pH ácido	pH neutro

FUENTE: Ruiz (2008).

2.3.3. NECESIDADES FISIOLÓGICAS

Los hongos deben encontrar en los medios de cultivo lo necesario para su crecimiento y desarrollo: materias nitrogenadas como peptona; azúcares como glucosa o maltosa, que son indispensables; un soporte sólido, como el agar que permite a los hongos filamentosos desarrollar micelio aéreo con órganos de fructificación, y un pH ácido, ya que es más conveniente (5 a 6.5).

Flannigan y Miller (2002) los clasifican en diferentes clases dependiendo del rango de temperaturas en el que se desarrollan, donde los hongos psicrófilos son los que pueden desarrollarse a temperaturas menores o iguales a 0°C, con una temperatura óptima de crecimiento igual o menor a 15°C y una óptima máxima alrededor de los 20°C. Sin embargo, son muy pocas las especies fúngicas conocidas adaptadas a estas condiciones. Algunos ejemplos documentados de hongos psicrófilos son *Thelebolus microsporus*, *Mucor strictus*, *Phoma herbarum*, *Humicola marvinii*, *Pseudogymnoascus destructans* y algunos mohos de nieve como *Sclerotinia borealis*, *Microdochium nivale* y *Coprinus psychromorbidus* (Wang *et al.*, 2015).

Los organismos mesófilos son aquellos que no son ni psicrófilos ni termófilos. Algunos de estos mesófilos pueden crecer a 0°C, pero su temperatura óptima de crecimiento es mayor que la de los psicrófilos (en el rango de 20-30°C) y su máxima de crecimiento es cercana a los 35°C. La mayoría de los hongos encontrados dentro de los ambientes interiores están en esta categoría. A los organismos heterótrofos con estas características se les conoce como mesófilos psicotolerantes o simplemente psicotolerantes. Tanto los psicotolerantes como los psicrófilos son capaces de crecer en ambientes refrigerados, como algunas especies de *Cladosporium* y *Penicillium*, los cuales son causantes de la descomposición de alimentos refrigerados. Algunos mesófilos pueden desarrollarse a temperaturas de 50-55°C, pero no pertenecen a los termófilos porque su temperatura mínima de crecimiento es menor a 20°C, a los cuales se les conoce como mesófilos termotolerantes. Un ejemplo de hongo termotolerante es el patógeno *Aspergillus fumigatus*, cuyo rango de temperaturas de crecimiento mínimas, óptimas y máximas son 10-12°, 37-40° y 53-57°C, respectivamente (Flannigan y Miller, 2002).

Los organismos termófilos son capaces de crecer a temperaturas de 50°C-55°C o mayores, sin embargo en el caso de los hongos este término se aplica a aquellos que no pueden crecer a temperaturas menores a 20°C. Por ejemplo, el moho *Rhizomucor pusillus* puede desarrollarse desde 21-23°C, tiene una temperatura óptima de crecimiento de 45-50°C y una máxima de crecimiento de 50-58°C (Flannigan y Miller, 2002).

La principal fuente de oxígeno para los hongos aerobios es la atmósfera. Sin embargo, todos los hongos pueden obtener tanto el oxígeno como el hidrógeno a partir del agua resultante del metabolismo de compuestos orgánicos y de la que se encuentra presente en el medio.

2.3.4. CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS

En el esquema taxonómico tradicional se clasifica a los hongos en cuatro divisiones, basándose principalmente en las características estructurales, formación de las esporas, de las estructuras y de los cuerpos fructíferos sexuales durante su ciclo biológico.

a. División Zygomycota

Es la división de hongos que incluye alrededor de 1000 especies. Los hongos pertenecientes al filo Zygomycota se caracterizan por formar cigosporas con paredes gruesas, de origen sexual y esporangiosporas no nadadoras, de origen asexual. El moho negro del pan (*Rhizopus nigricans*), un representante bien conocido de este grupo del orden Mucorales, produce masas de hifas sobre pan, fruta y otros alimentos deteriorados. El cuerpo de este hongo, compuesto de hifas no septadas (cenocíticas), muestra que : de una pequeña diferenciación celular entre los hongos, las hifas pueden especializarse para varios propósitos. Este tipo de hongos producen esporas asexuales dentro de los esporangios, y durante la reproducción sexual, se forma una cigospora con pared gruesa y resistencia, en la que ocurrirá la meiosis. La mayoría de los hongos conocidos como mohos, como los del pan o la fruta, pertenecen a esta división (Mader, 2008).

Otro Zygomyceto es *Mucor spp.*, el cual se emplea en el Oriente con soja para producir un queso llamado sufu, que se obtiene del desarrollo de estos mohos en el tofu. También es utilizado en la preparación comercial de algunos anestésicos, alcoholes industriales, ablandadores de carne, y como colorantes amarillos que se emplean en la margarina (Prescott *et al.*, 2002).

Género *Mucor*

Las especies de este género son cosmopolitas, se encuentran en el suelo y son de crecimiento rápido en temperaturas entre los 10 y 40°C con óptimos entre los 20 y 35°C. Las colonias presentan un aspecto algodonoso de color plomizo a escasos días de su siembra; así como un esporangio esférico y una columela marcada (Aira *et al.*, 2005).

Los hongos del género *Mucor* se caracterizan por presentar hifas hialinas a marrón claro; esporangios globosos sin apófisis y con columela, que crecen de esporangióforos a menudo ramificados; las esporangiosporas que tienen formas variables son de pared lisa o ligeramente ornamentada. Algunas especies forman clamidosporas. Este género se diferencia de *Rhizopus* por la ausencia de rizoides y estolones y por presentar columela de forma elongada y cilíndrica. La reproducción sexual es por formación de cigosporas, que se forman en el micelio aéreo y son de color oscuro con las paredes rugosas y células suspensoras iguales por ser especies heterotálicas.



Figura 5: Fotografías de *Mucor plumbeus* Bon.

A) Colonias en Agar Extracto de Malta después de una semana. B) Esporangióforos, ×920. C) Esporangio conteniendo esporangiosporas, ×920. D) Esporangiospora con columela, ×920.

FUENTE: Flannigan (2012).

b. División Ascomycota

El filo Ascomycota es el de mayor número de especies dentro del reino, reuniendo aproximadamente 64163, que corresponden al 75 por ciento de las especies de hongos descritas (Kirk *et al.*, 2008). Se describen tres subfilos, Taphinomycotina, Saccharomycotina y Pezizomycotina (Cepero *et al.*, 2012).

La ocurrencia de estos hongos es muy amplia, pueden encontrarse en diferentes hábitats terrestres y acuáticos en todas las latitudes. En este grupo hay una gran diversidad de formas de vida. Pueden ser saprótrofos, si se encuentran sobre troncos, hojas y corteza de plantas muertas o enterrados en el suelo; parásitos biotróficos de plantas y animales como son los mildes polvosos y algunos ectoparásitos de insectos. Hay importantes simbioses

mutualistas como los líquenes, que corresponden el 40 por ciento de los Ascomycota, formando este tipo de asociación con algas y cianobacterias (Alexopoulos *et al.*, 1996; Deacon, 2006).

Los Ascomycota filamentosos se caracterizan por presentar un micelio compuesto de hifas delgadas (de 5 a 7 μm de diámetro) y septadas. Los septos, que dividen las hifas en segmentos (células), tienen un número variable de núcleos y son simples. Presentan un poro en el centro por el cual circula el contenido citoplasmático y los núcleos (Webster y Weber, 2007). La pared de las levaduras de este grupo presenta principalmente manano y glucano, y un porcentaje muy pequeño de quitina que está presente únicamente en el septo primario de las levaduras que geman (Alexopoulos *et al.*, 1996).

En la reproducción sexual de numerosos hongos de este grupo se presentan órganos sexuales denominados ascogonio y anteridio. La plasmogamia puede ocurrir mediante diferentes formas: contacto gamentagial, copulación gamentangial, espermatización o somatogamia (Webster y Weber, 2007; Alexopoulos *et al.*, 1996).

Los ascos se producen en diferentes tipos de cuerpos fructíferos (cleistotecio, gimnotecio, peritecio, apotecio, acostroma y casmotecio); y estos cuerpos están formados por diferentes tejidos de plecténquima (seudoparénquima). Los ascos que no se producen en cuerpos fructíferos se denominan ascos desnudos, como ocurre en las levaduras y en algunos Ascomycotas filamentosos (Kendrick, 2000; Deacon, 2006).

La reproducción asexual de los Ascomycota filamentosos se realiza por medio de conidios formados en los conidióforos que nacen directamente del micelio o dentro de cuerpos fructíferos o conidiomas.

Algunas fases asexuales de Ascomycota y Basidiomycota que no se les conocía su forma de reproducción sexual eran incluidas en el grupo conocido como Deuteromycota. Estas fases asexuales se les denominan hongos anamorfos, conidiales o mitospóricos, los cuales son microorganismos heterogéneos agrupados por características morfológicas similares

sin relación filogenética entre ellos, por lo que esta asociación no tiene implicancia taxonómica (Castañeda, 2001).

Las levaduras como los Sacaromicetáceos se encargan de algunas fermentaciones determinadas especies viven de forma anaerobia, como *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces ellipsoideus*, convirtiendo los azúcares en alcohol etílico y dióxido de carbono. La reproducción es asexual por gemación, durante la formación de yemas el núcleo sufre división y uno de los núcleos hijos pasa a la nueva yema. En el caso de *Saccharomyces cerevisiae* la reproducción sexual se realiza mediante la conjugación de cepas compatibles (positivas y negativas), posteriormente se da la plasmogamia (fusión del citoplasma) seguida de la cariogamia (fusión de núcleos), después la célula diploide (2n) se convierte en asca y finalmente, luego de sufrir meiosis se forman cuatro ascosporas (Prescott *et al.*, 2002).

Género *Fusarium*

Las colonias de este género se caracterizan porque generalmente son de crecimiento rápido y de textura algodonosa y aterciopelada. Los colores son variados, desde blanco hasta rojo carmín y violeta, pasando por diferentes tonalidades de amarillo quemado. Muchas especies forman esporodocios de diferentes colores. Pueden producir pigmentos que se observan en el reverso de las colonias o en algunas ocasiones son difusibles al medio. El micelio es hialino, septado y delgado. Las células conidiógenas son filídes delgadas, algunas veces alargadas y otras cortas. Pueden tener uno o más puntos fértiles y de acuerdo con ello se denominan monofilíales o polifilídes, respectivamente. Los conidios pueden ser más de un tipo, macroconidios, mesaconidios y microconidios (Cepero *et al.*, 2012).



Figura 6: Fotografías de *Fusarium culmorum* (W.G.Smith) Sacc.

A) Colonia en Agar Extracto de Malta después de una semana. B)-F) Conidióforos y macroconidios; B) en placa Petri, ×230, C)-F) ×920.

FUENTE: Flannigan (2012).

Género *Paecilomyces*

Morfológicamente, este género es muy similar al *Penicillium*. Macroscópicamente, *Paecilomyces* se diferencia del *Penicillium* por la ausencia de colonias verdes, y microscópicamente por la forma de las fiálides que se presentan forma de botella con bases anchas o cilíndricas y un cuello largo distintivo. Las colonias crecen moderadamente bien en medios de cultivos y varían en colores amarillos a marrón claro a púrpuras o rosado. Las hifas son hialinas o amarillentas, septadas y de pared lisa. Los conidióforos se ramifican en verticilos o irregularmente. Las fiálides producen conidios unicelulares en cadenas basípetas, son hialinos o ligeramente pigmentados y de pared lisa o equinulada. La mayoría de especies producen clamidosporas. Este género es polifilético ya que diferentes géneros teleomorfos distribuidos en diferentes órdenes y subclases de Ascomycota presentan este anamorfo; como ocurre con la mayoría de especies termofilicas como *Paecilomyces brunneolus*.

Los hongos de este género se caracterizan por encontrarse en ambientes ácidos y tolerar condiciones microaerofílicas, producen una serie de metabolitos tóxicos y algunos con posibilidad de usarse en medicina (Cepero *et al.*, 2012).



Figura 7: Fotografías de *Paecilomyces variotti* Bain.

A) Colonias en Agar Extracto de Malta después de una semana. B)-D) Conidióforos con conidios, ×920.

FUENTE: Flannigan (2012).

Género *Cladosporium*

Los miembros de este género, algunos cosmopolitas, se distribuyen en un gran número de especies. Se encuentran en el suelo, desechos vegetales, en el filoplano o como endófitos y frecuentemente sus conidios se aíslan del aire sobre todo en épocas de mayor humedad.

Las especies de *Cladosporium* presentan colonias con superficies aterciopeladas, de color oliva-grisáceos, marrón-oliváceo hasta marrón a negro y crecimiento lento. El micelio vegetativo es septado, delgado y hialino, tornándose marrón claro. Los conidióforos son

simples o ramificados, en donde se originan conidios en cadenas acrópetas; los conidios que se ubican en la base de la cadena son más grandes y a veces poseen un septo, mientras que los conidios de la parte superior de las cadenas pueden ser elipsoides, subglobosos, fusiformes, ovoides, frecuentemente con cicatrices, de pared lisa, rugosa o equinulada. Los miembros del género están ampliamente distribuidos y dentro de ellos hay especies fitopatógenas y saprótrofas (Cepero *et al.*, 2012).

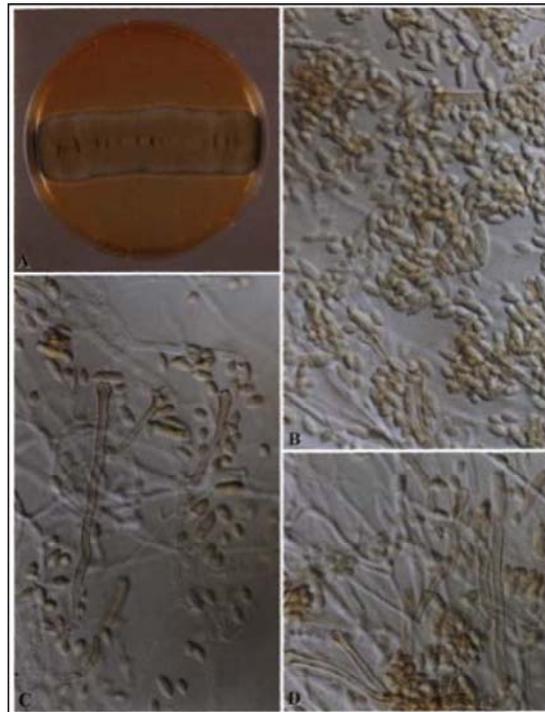


Figura 8: Fotografías de *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link.

Teleomorfo: *Mycosphaerella tassiana* (de Not.) Johanson. A) Colonias en Agar Extracto de Malta después de una semana. B)-D) Conidiofóros con conidios, ×920.

FUENTE: Flannigan (2012).

Género *Penicillium*

El género *Penicillium* (anamorfo) comprende un gran número de especies. Su presencia en el suelo es ubicua, mientras que en el aire y en la vegetación en descomposición su presencia es menor, sin embargo son capaces de colonizar prácticamente todos los hábitats terrestres. Morfológicamente, las especies de *Penicillium* se caracterizan por presentar conidiofóros peniciliados que se describen como monoverciliados (si las fiálides nacen

directamente del estípite), biverticilados (cuando tienen una ramificación), terverticilados (cuando tienen dos ramificaciones) y cuaterverticilados (si tienen tres ramificaciones). En ellos se reconoce el estípite que puede ser liso o rugoso, las ramas, la ramulitas, las métulas y las fiálides que pueden tener forma de botellas o ser lanceoladas; las ramificaciones pueden ser simétricas o asimétricas y los conidios que forman cadenas basípetas son unicelulares, hialinos o verdosos, globosos, elipsoides a cilíndricos de paredes lisas o rugosas.

La importancia de este género para los humanos aumentó dramáticamente cuando en 1928 se descubrió la penicilina, introducida como agente terapéutico en los años cuarenta. *P. notatum* Westling fue el primer productor de penicilina seguido por *P. chrysogenum* Thom, el cual producía mayor cantidad de penicilina, dándose con este último el paso más importante para el desarrollo de esa droga. Otras especies son utilizadas en la producción de ácidos orgánicos tales como el ácido fumárico, oxálico, glucónico y gálico o en la producción de enzimas. En el humano, recientemente se registró que *Penicillium marneffei*, originario del sudeste asiático, produce una micosis de tipo sistémico en personas inmunodeprimidas. Este organismo presenta la característica de ser dimórfico siendo un mohó en su hábitat natural y una levadura, que se reproduce por fisión, en las lesiones en el hombre (Cepero *et al.*, 2012).

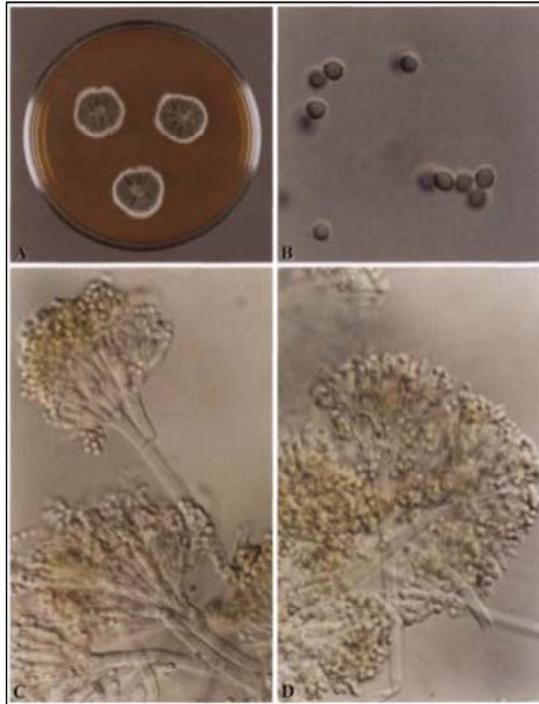


Figura 9: Fotografías de *Penicillium brevicompactum* Dierckx.

A) Colonias en Agar Extracto de Malta después de una semana. B) Conidios, ×2330. C)-D) Conidióforos, ×920.

FUENTE: Flannigan (2012).

Género *Alternaria*

La mayoría de las especies de *Alternaria* son patógenas en plantas y unas pocas son saprótrofas o crecen en el suelo. Morfológicamente, las colonias presentan textura aterciopelada a lanosa; su superficie es de color gris a marrón-oliváceo y el reverso es marrón a negro. El micelio vegetativo es septado y de color marrón. Los conidióforos son de color marrón, ramificados, simpodiales y porógenos. Los dictioconidios maduros son de color marrón, arreglados en cadenas acrópetas, obclavados, subesféricos a elipsoides, con una célula apical más o menos elongada; algunas especies pueden presentar conidios con ápices redondeados. Los teleomorfos de *Alternaria* pertenecen al género *Lewia* (Ascomycota) (Cepero *et al.*, 2012).



Figura 10: Fotografías de *Alternaria alternata* (Fries) von Keissler = *Alternaria tenuis* Nees.

A) Colonias en Agar Extracto de Malta después de una semana. B)-E) Conidiofóros con conidios, ×920.

FUENTE: Flannigan (2012).

Género *Aspergillus*

Las especies del género *Aspergillus* (anamorfo) son muy abundantes y están distribuidas en todo el mundo ya que se han adaptado a una gran variedad de nichos. Morfológicamente, las especies de *Aspergillus* se caracterizan por presentar conidióforos no ramificados, sin septos, lisos o rugosos, hialinos o pigmentados, con una célula pie en la base y un estípote de longitud variable que termina en un ensanchamiento de diferentes formas llamado vesícula. De la vesícula se originan las fiálides, en el grupo de los uniseriados, o las métulas y de éstas las fiálides en el de los biseriados.

El género tiene gran importancia por los beneficios y por los problemas de diversa índole que afectan al hombre. Algunos metabolitos producidos por estos hongos han sido patentados para su uso en medicina, como en el caso de la lovastatina producida por *A.*

terreus que es utilizada comercialmente como droga para bajar el colesterol (Cepero *et al.*, 2012).

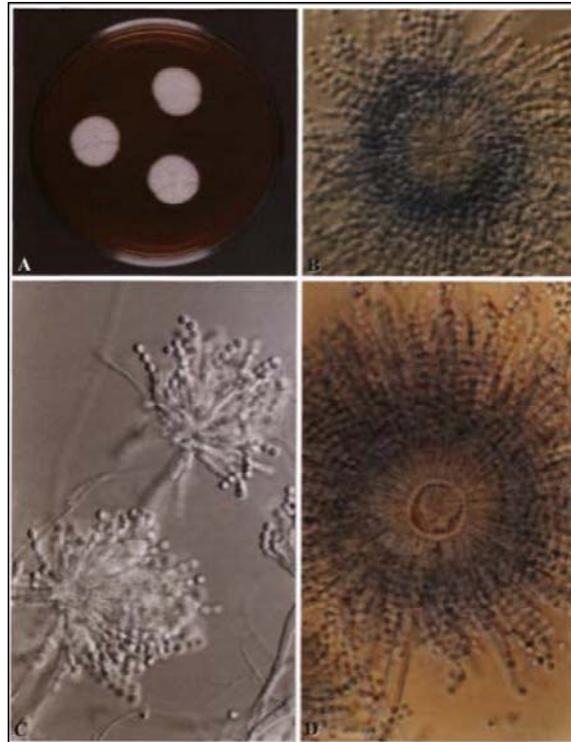


Figura 11: Fotografías de *Aspergillus candidus* Link.

A) Colonia en Agar Extracto de Malta después de una semana. B) Cabeza conidial, ×920. C) Cabeza conidial atípicamente reducida, ×920. D) Cabeza conidial, ×920.

FUENTE: Flannigan (2012).

2.4. HONGOS EN LOS AMBIENTES INTERIORES

2.4.1. FACTORES QUE CONTRIBUYEN A LA CONTAMINACIÓN FÚNGICA DEL AIRE INTERIOR

El desarrollo fúngico está influenciado por factores físicos como temperatura, humedad y luz, pero principalmente por la cantidad de agua disponible (Miller, 1992; Manzano y Mancha, 2003), la cual está relacionada a la actividad de agua de su sustrato. En los países

tropicales, la alta humedad y la temperatura, resultan sumamente idóneas (Burge *et al.*, 1977).

a. Actividad de agua

Los microorganismos necesitan la presencia de agua, en una forma disponible, para crecer y llevar a cabo sus funciones metabólicas. La mejor forma de medir la disponibilidad de agua es mediante la actividad de agua (a_w), que describe la concentración efectiva de agua en un sustrato (Miller, 1992). Para Nielsen (2003) es el factor más importante que determina si un hongo inicia o no su crecimiento en los materiales de construcción. Los hongos tienen la capacidad para crecer a bajos niveles de a_w , dentro del intervalo de 0.65 a 0.90 y en algunos casos en niveles superiores (Jarvis *et al.*, 1983). Pasanen *et al.* (1991), reportaron que el crecimiento de hongos es probable si el valor de a_w excede 0.76–0.96, dependiendo de la especie fúngica, temperatura, tiempo y composición del material de sustrato.

Aquellos hongos que crecen en un valor de a_w superior a 0.90 son denominados hidrófilos, debido a que necesitan condiciones de alta disponibilidad de agua. Los hongos denominados xerófilos son los que suelen ser tolerantes o capaces de crecer en condiciones de valores de a_w reducidos (Flannigan y Miller, 2002).

Los hongos asociados a la construcción, comprenden un grupo reducido de especies que pueden crecer en los nutrientes presentes en los materiales de construcción, que se adaptan a cantidades particulares de agua disponible (Jarvis y Miller, 2005). Los hongos que crecen en estos materiales pueden dividirse en tres grupos (colonizadores primarios, secundarios y terciarios), basándose en sus requerimientos de a_w , requerimientos en medios de cultivo en el laboratorio y respuestas a los cambios de a_w (Nielsen, 2003).

Los colonizadores primarios son capaces de crecer a un a_w menor a 0.8 (muchos con tasas óptimas de crecimiento a a_w cercanas a 1), siendo *Penicillium chrysogenum* y *Aspergillus versicolor* las especies más comunes, seguidas por otras como *A. fumigatus*, *A. niger*, *A.*

sydowii, *A. ustus*, varias especies de *Eurotium*, *P. brevicompactum*, *P. commune*, *P. corylophilum*, *P. palitans*, *Paecilomyces variotii* y *Wallemia sebi*.

Los colonizadores secundarios requieren un a_w mínimo entre 0.8 y 0.9. A este grupo pertenecen especies de *Alternaria*, *Cladosporium*, *Phoma* y *Ulocladium*. Éstos son capaces de desarrollarse bajo condiciones donde ocurran cambios bruscos de humedad durante el día.

Los colonizadores terciarios son los que necesitan un a_w mayor a 0.9 e incluyen muchas de las especies tóxicas de hongos como *Chaetomium globosum*, *Memnoniella echinata*, *Stachybotrys chartarum*, y especies de *Trichoderma* como *T. atroviride*, *T. citrinoviride*, *T. harzianum* y *T. longibrachiatum*. Varias de estas especies son consideradas hongos tropicales, lo que es consistente con la prevalencia de su desarrollo en construcciones húmedas o dañadas por el agua.

Los materiales de construcción y equipamiento pueden ser considerados lugares adecuados para la colonización ya que proveen nutrientes, temperatura, alcalinidad, porosidad y disponibilidad de agua para el crecimiento de mohos (Frisón *et al.*, 2012). Además, los edificios proporcionan numerosos hábitats o rincones que contienen el material orgánico que sirve como nutriente a la mayoría de los hongos para su crecimiento y producción de esporas. Los nutrientes están presentes en materiales como los siguientes: madera, papel, pintura y otros revestimientos de superficies; mobiliario como alfombras y muebles tapizados; tierra de macetas; polvo; escamas de piel y secreciones de seres humanos y de otros animales; y en alimentos cocinados y sus ingredientes crudos. El hecho de que tenga lugar o no el crecimiento de estos microorganismos depende del nivel de humedad (Flannigan, 1998).

Por otro lado, Pasanen *et al.* (1991) notaron que el crecimiento fúngico no es directamente controlado por la humedad del aire mientras hayan niveles de humedad sobre el sustrato (a_w) que lo permitan, lo que explica que es posible el crecimiento de hongos en materiales de construcción húmedos a pesar que la humedad del aire sea baja. Nielsen (2003) indicó

que es esencial entender que cuando hay diferencias en la ventilación y en la temperatura de las superficies dentro de un ambiente interior, se pueden generar microclimas con muy alta a_w a pesar de existir una humedad relativa baja, y que por esa razón la medición de la humedad relativa por sí sola no es un buen indicador de que puedan presentarse o no problemas por hongos.

Estos microclimas con alta a_w pueden aparecer en los ambientes interiores a causa de un mal mantenimiento de los conductos de aire acondicionado, especialmente de las unidades de acondicionamiento y humidificación, en las que hay una alta a_w de forma habitual, así como también debido a condensaciones en las paredes, goteras, filtraciones, roturas de tuberías, inundaciones, etc. (Manzano y Mancha, 2007).

La incidencia de mohos como *Penicillium* y *Aspergillus*, en los edificios que presentan estos problemas de humedad, es comúnmente mayor a la encontrada en los espacios abiertos (Cooley *et al.*, 1998). No obstante, la exposición a las esporas fúngicas en los ambientes cerrados, es inevitable, excepto cuando se emplean rigurosos sistemas de filtración de aire u otras medidas de higienización (Singh, 2005).

b. Humedad relativa y temperatura

La humedad relativa (HR) es la presión de vapor de agua existente del aire, expresada como un porcentaje de la presión de vapor de agua saturado a la misma temperatura, denominándose porcentaje de humedad relativa (%HR). La HR refleja tanto la cantidad de vapor en el aire como la temperatura del aire.

La medición de la humedad y la temperatura resultan útiles debido a que pueden ser utilizadas para identificar microclimas que soportan el crecimiento fúngico (IOM, 2004). La temperatura del ambiente también tiene una gran importancia en el crecimiento fúngico. En general, los hongos tienen la capacidad de crecer en un amplio rango de temperaturas, desde menores a 0°C hasta mayores a 40°C (Jarvis *et al.*, 1983).

Las condiciones de HR y temperatura favorables determinan la liberación de las esporas fúngicas al ambiente, ya que los hongos nunca lo realizan de forma continua. El incremento de la HR dificulta su liberación y en épocas de lluvia, las esporas sufren un lavado de la atmósfera, pudiendo disminuir su concentración a comparación de épocas más secas (Rosas *et al.*, 1997). Mediavilla *et al.* (1998) sostienen que la liberación de conidios de *Cladosporium* a la atmósfera requiere de un grado de sequedad ambiental, el cual toma lugar con el incremento de la temperatura.

Se ha demostrado que la temperatura tiene un efecto importante en el nivel de a_w mínimo que requieren los hongos para su desarrollo. Ayerst (1969) observó en los hongos que estudió que la tolerancia más alta a niveles bajos de a_w , ocurría a temperaturas cercanas a la temperatura óptima registrada cuando el nivel de a_w era óptimo. Para la mayoría de esos hongos, el nivel óptimo de a_w más bajo se identificó cuando la temperatura se acercaba a la temperatura máxima de crecimiento para esa especie. Magan y Lacey (1984) mencionaron que en un grupo que contenía tanto especies de hongos hidrófilos como xerófilos, a medida que la temperatura se alejaba más de la óptima, menor era la tolerancia que mostraban esos hongos a niveles menores de a_w .

La diferencia entre la temperatura externa con la presente al interior de un ambiente, dependiendo de las condiciones de HR, puede causar condensación en las superficies de los ambientes internos, promoviendo el crecimiento fúngico en dichos ambientes. En climas templados, particularmente en invierno, el primer signo de un problema de condensación en ambientes ventilados naturalmente es, con frecuencia, la aparición de crecimiento fúngico en la parte superior de la superficie interior de las paredes externas de un edificio. Esta condensación ocurre debido a que el aire cálido y húmedo del interior de un ambiente, al contacto con la superficie de la pared que da al exterior, se enfría a (o por debajo de) la temperatura del punto de rocío, a la cual el aire interior se satura de vapor de agua o de gotas de rocío (Flannigan y Miller, 2002).

Debido a lo anteriormente descrito, también se ha presenciado crecimiento fúngico en ambientes interiores en lugares donde la HR del aire es muy baja, como en Finlandia

durante el invierno. Pasanen (1991) indicó que esto ocurre a pesar que en las casas se suele calentar el aire entre 20–50°C, lo que reduce su HR por debajo de 10–20 por ciento.

La condensación también es un problema frecuente en climas tropicales y subtropicales, con la diferencia que ocurre por la infiltración desde el exterior del aire húmedo hacia las superficies de las paredes al interior del edificio. En edificios con aire acondicionado, el aire más frío que choca en las superficies internas de las paredes de drywall puede disminuir la temperatura del aire más cálido que se infiltra desde el exterior hasta o por debajo del punto de rocío, lo que puede promover el crecimiento fúngico (Flannigan y Miller, 2002).

c. Ventilación

La mayoría de edificios, sean industriales, comerciales y de oficinas, poseen sistemas de ventilación mecánica, donde el aire puede ser filtrado, calentado, enfriado o incluso humidificado. Los sistemas de ventilación poseen dos funciones primordiales, suministrar aire fresco en cantidad y calidad suficientes para mantener la calidad del aire en los espacios interiores, y modificar las condiciones termo higrométricas del aire exterior que se introduce en un edificio para conseguir un clima confortable en el interior (Basílico *et al.*, 2002). Adicionalmente inciden en el estado de conservación de los objetos dentro de los ambientes interiores, evaporan la HR y reducen la temperatura superficial, dos factores de los que depende el crecimiento fúngico (Valentín, 1993).

Los valores de concentraciones de hongos encontrados en ambientes interiores y exteriores dependen, fundamentalmente, del sistema de ventilación disponible (Burge *et al.*, 2000). Esta relación es prácticamente idéntica cuando el edificio está ventilado de forma natural, mientras que, en edificios ventilados de forma mecánica mediante extractores o inyectores de aire, la concentración de hongos encontrados en el interior es inferior a la del exterior (ACGIH, 1989). Reponen *et al.* (1995) señalaron que concentraciones elevadas de esporas fúngicas en el ambiente interior puede ser consecuencia de una insuficiente ventilación en oficinas y residencias.

El aire estancado favorece considerablemente la propagación de las esporas de los hongos, mientras que el aire circulante influye directamente en la dispersión y evita la deposición y germinación de esporas, ayudando a lograr una baja actividad biológica en el ambiente interno. Según Michalski (1985), a través de la ventilación se logra:

- Significativo descenso de la HR.
- Descenso del contenido de humedad en los objetos.
- Aumento del movimiento de las esporas, las cuales pueden ser transportadas por las corrientes de aire, evitándose así su germinación y el comienzo de su desarrollo.
- Disminución del riesgo de los procesos de condensación producidos en las superficies frías.

d. Polvo

El polvo, que tiene componentes biológicos como huevos de insectos y esporas de microorganismos, siendo mayormente de especies fúngicas (Matthias-Maser *et al.*, 2000), se deposita sobre los materiales por diferentes vías, representando una vía infecciosa cuando las condiciones atmosféricas favorecen el desarrollo de microorganismos e insectos.

El polvo puede ser un lugar de depósito y de cultivo para los hongos en caso tenga un nivel óptimo de humedad. Presenta un mínimo de requerimiento de sales inorgánicas y trazas de las sustancias volátiles orgánicas que llegan con las evaporaciones acuosas a un sustrato adecuado y crean las condiciones favorables, permitiendo el desarrollo de microorganismos. Por consiguiente, una cantidad importante de esporas entran en suspensión en el aire cuando se mueve el polvo (Flannigan, 1998).

2.4.2. PRINCIPALES FUENTES DE CONTAMINACIÓN EN AMBIENTES INTERIORES

- **Aire exterior:** Este transporta material biológico como granos de polen, bacterias y hongos tanto sus formas vegetativas como sus formas resistentes (esporas). La

mayoría son inocuos para el hombre pero algunos de ellos pueden ser patógenos (INSHT, 1993b). El aire exterior es una de las fuentes principales de hongos en los ambientes interiores, debido a que éste ingresa al ambiente por infiltración, a través de ventanas y puertas abiertas (Sterling y Lewis, 1998).

- **Sistemas de climatización o ventilación:** En especial aquellos que cuentan con materiales porosos, en donde puede haber deposición de esporas, así como los que poseen deshumificadores, en los que el agua es reciclada, ya que pueden convertirse en reservorios para el desarrollo de microorganismos, donde se dan condiciones de humedad y temperatura en un margen óptimo. En estos es importante que se de mantenimiento continuo y adecuado por parte del proveedor (INSHT, 1993b).
- **Personal:** Una de las fuentes más importantes de contaminación del aire al interior de un ambiente son las mismas personas que lo ocupan, ya que ellas pueden ser portadores sintomáticos o asintomáticos de agentes biológicos provenientes del exterior (INSHT, 1993b; Sterling y Lewis, 1998).

2.4.3. GÉNEROS FÚNGICOS MÁS FRECUENTES EN AMBIENTES INTERIORES

La variedad de especies fúngicas y concentración de esporas en el aire de los ambientes internos dependerán de factores del ambiente exterior como la localización geográfica, las condiciones climáticas, el sustrato orgánico, la estación del año, la hora del día, fuentes cercanas de generación de esporas, el grado de urbanización, entre otras variables (Lacey, 1981; Burge, 1990; Lacey y Dutkiewicz, 1994; Sterling y Lewis, 1998; Matthias-Maser *et al.*, 2000; Aira *et al.*, 2002; La-Serna *et al.*, 2002; Bartra, 2003; Frisón *et al.*, 2012). La dispersión de las esporas fúngicas en el ambiente exterior está directamente relacionada con la velocidad y la dirección del viento, y consecuentemente, sus concentraciones en la atmósfera son resultado de la acción conjunta de factores biológicos intrínsecos y parámetros ambientales (Mediavilla *et al.*, 1998).

Los ambientes exteriores cuentan con microclimas que influyen en el ecosistema presente en estos ambientes, lo que hace que junto con la actividad humana, el desarrollo de ciertos géneros fúngicos y la consecuente formación de esporas y dispersión de las mismas varíe de un lugar a otro, habiendo diferencias en cuanto a concentración y género fúngico en zonas urbanas con respecto a zonas rurales (De La Rosa *et al.*, 2002). Basílico *et al.* (2007) encontraron en zonas rurales mayores concentraciones y diversidad fúngica debido a las actividades agrícolas y ganaderas. El número de microorganismos es mayor en las zonas pobladas y después en el mar, cerca de las costas, mientras que en las zonas desérticas no hay más que lo que aportan los vientos de las zonas habitables próximas (De La Rosa *et al.*, 2002).

Debido a lo anteriormente mencionado, los hongos que se encuentran en el ambiente interior son aquellos que han ingresado desde el exterior sorteando las barreras físicas que se interponen entre ambos ambientes. Por tanto, los diferentes tipos de hongos encontrados en el interior deberían corresponder a las especies del exterior propias de la estación climática (ACGIH, 1989; Comtois y Marcoux, 1999). Sin embargo, las esporas de los géneros encontrados en el aire interior no son un simple reflejo de la presencia de los mismos en el aire exterior (Wanner y Gravesen, 1993). Concentraciones relativamente altas en el ambiente interior y el hallazgo de tipos de hongos diferentes al ambiente exterior son evidencias, mas no pruebas, de la ocurrencia de crecimiento microbiano en interiores (ACGIH, 1999). El crecimiento de hongos dentro de un ambiente contribuye tanto en número como en especies a la flora de los hongos presentes en el aire interior, ya que en el caso de no producirse, la concentración y la flora en el aire interior serían iguales a las del exterior (Flannigan, 1998).

Los géneros fúngicos predominantes en el ambiente interior pertenecen a los Ascomicetos, entre los que se encuentran, *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium* (Flannigan y Miller, 1994; Lacey y Dutkiewicz, 1994; Aira *et al.*, 2002; Rojas *et al.*, 2002; Labarrere *et al.*, 2003), los cuales son considerados como agentes biodeteriorantes o saprófitos, ya que obtienen los nutrientes que necesitan para su metabolismo de materia muerta, materia orgánica húmeda o de sustratos como madera, papel, pintura, suelo, polvo, piel y alimentos (Bueno *et al.*, 2003).

Según el INSHT (1996), los hongos más abundantes que pueden desarrollarse en superficies donde se acumula polvo y en los sistemas HVAC (calefacción, ventilación, y aire acondicionado, en español) son *Cladosporium* y *Penicillium*.

En cuanto a las estaciones del año, hay variaciones en la concentración y en los géneros de hongos encontrados, siendo típicamente más abundantes en verano que en el resto del año debido a factores como la temperatura, humedad relativa del aire, exposición a la luz solar, etc. (Bovallius *et al.*, 1978). Wanner y Gravesen (1993) indicaron que para la mayoría de los géneros, los conteos más altos en el aire exterior se daban durante el verano y el otoño y que, además, durante esas épocas el aire exterior representaba la fuente principal de hongos encontrados en el aire interior.

Miller *et al.* (1988), en un estudio que involucraba 50 casas canadienses durante el invierno de 1986, aseguraron que *Penicillium* fue el género más frecuente en el aire interior, seguido por *Cladosporium*, *Alternaria* (encontrada sólo en una vivienda) y *Aspergillus*.

En 1994, Kuo y Li, al analizar ambientes interiores y exteriores en Taipei, de clima subtropical, mencionaron que *Penicillium* era el género aislado con mayor frecuencia, encontrándose en el 70 por ciento del total de las muestras tomadas durante todo el año de estudio tanto en el interior como en el exterior, seguido por las levaduras (60 por ciento). Los porcentajes de frecuencia de los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Paecilomyces*, *Alternaria*, *Fusarium* y *Curvularia* fueron de 33, 24, 12, 10, 8 y 7 por ciento respectivamente.

Con relación a la frecuencia de aparición de los géneros fúngicos según las variaciones estacionales, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cladosporium* fueron mayormente aislados tanto de las muestras del exterior como las del interior en Taipei, siendo *Penicillium* el hongo aislado con mayor frecuencia a lo largo de todo el año, presentando una menor aparición en otoño. En el caso de *Cladosporium*, fue aislado con mayor frecuencia durante el verano y estuvo ausente en el invierno. Adicionalmente, *Aspergillus* apareció con mayor frecuencia en el verano (Kuo y Li, 1994).

Rosas *et al.* (1997) encontraron que los géneros fúngicos prevalentes aislados en 30 casas de adultos asmáticos en la Ciudad de México fueron *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Alternaria*, los cuales han sido reportados como los hongos de interior más comunes en estudios previos. El hongo aislado con mayor frecuencia en las muestras del aire interior fue *Cladosporium spp.*, cuyos micelios no esporulativos fueron encontrados en un 69 por ciento de las muestras; seguido por *Alternaria spp.* (67 por ciento) y *Eurotium herbariorum* (52 por ciento); mientras que *Aspergillus spp.*, *Aureobasidium pullulans* y *Helminthosporium spp.* estuvieron presentes en alrededor del 30 por ciento de las muestras.

A pesar que las conidiosporas pueden estar presentes en el aire todo el año en las regiones tropicales, Rosas *et al.* (1997) evidenciaron una variabilidad en las temporadas. En la Ciudad de México, observaron grandes concentraciones de conidiosporas al final de la temporada húmeda (octubre) y durante la temporada seca y fría (noviembre y diciembre). Sin embargo, durante la temporada húmeda, las concentraciones de *Cladosporium* y *Penicillium* en el aire exterior disminuyeron casi a la mitad de las encontradas en la época seca. Durante la temporada seca, *Cladosporium* representa el 50 por ciento de los hongos totales tanto en ambientes interiores como en el exterior, con concentraciones desde 17 a 1493 UFC/m³ en el interior, seguido por *Penicillium* que constituye cerca del 20 por ciento del total de hongos en el interior, con concentraciones que van desde 7 hasta 2549 UFC/m³. *Alternaria* y *Aspergillus* solamente fueron aislados en pequeñas concentraciones.

También se han hallado variaciones en las concentraciones fúngicas y en los géneros predominantes según las temporadas en el clima subártico. Según Reponen *et al.* (1989), se registraron los menores conteos de esporas fúngicas en invierno, tanto en el interior como en el exterior, debido a que el suelo está congelado y cubierto de nieve. Sin embargo, en el caso de los géneros fúngicos, se encontraron las mismas proporciones tanto al exterior como en el interior. En el verano, las esporas fúngicas provenientes de fuentes del exterior son las que dominan los niveles al interior (Reponen *et al.*, 1992).

2.4.4. NIVELES DE ESPORAS FÚNGICAS EN EL AIRE INTERIOR

Debido a que se ha reconocido que los hongos tienen un impacto en la salud humana, que gran cantidad de personas están expuestas diariamente a ellos tanto en ambientes interiores como exteriores y que además corren el riesgo de desarrollar enfermedades alérgicas, hay una necesidad de elaborar guías para niveles aceptables de exposición a estos bioaerosoles. Lo ideal es que estas guías estén basadas en relaciones dosis – respuesta entre la exposición al hongo y la enfermedad que causa; sin embargo, no se disponen de datos de dosis – respuesta para estos agentes fúngicos. Por ello, diversos autores han propuesto guías de niveles aceptables de exposición a partir de encuestas diseñadas para caracterizar los niveles normales de hongos en ambientes interiores (Verhoeff y Burge, 1997).

Wanner y Gravesen (1993), en su estudio “Biological Particles in Indoor Environments. Indoor Air Quality and Its Impact On Man” publicado por la Organización Mundial de la Salud, establecieron una tabla de criterios para concentración de esporas fúngicas suspendidas en el aire (**Tabla 2**). Reynolds *et al.* (1990) advirtieron que concentraciones mayores de 500 UFC/m³ de esporas fúngicas suspendidas en el aire se consideran como una condición anormal en el ambiente interior. Klanova (2000), señaló que concentraciones de esporas fúngicas suspendidas en aire interior mayores a 2000 UFC/m³ puede ser considerada como un factor de riesgo sobre la salud de los ocupantes de un ambiente debido a que en su estudio, realizado en República Checa, todos los ocupantes de los ambientes donde la concentración promedio fue de 2476 UFC/m³ reportaron molestias como tos, dolores de cabeza, rinitis y dolor de garganta.

Tabla 2: Criterios de contaminación fúngica en UFC/m³ en el aire de los ambientes interiores.

Categoría de contaminación	UFC/m³ de aire
Muy baja	<25
Baja	25-100
Intermedia	100-500
Alta	500-2000
Muy alta	>2000

FUENTE: Wanner y Gravesen (1993).

La ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) en 1989, sugirió que los niveles de hongos en un ambiente interior deben ser interpretados tomando como base un ambiente control, como es el caso del ambiente exterior o un ambiente interior libre de síntomas o molestias a la salud. Consideraron que niveles de hasta 100 UFC/m³ de hongos saprófitos en un ambiente interior son normales, siempre y cuando no exista población con deficiencias o enfermedades del sistema inmunitario.

Además indicaron que los hongos saprófitos en el aire interior normalmente deben presentar niveles más bajos que en el aire exterior. En el ambiente interior, la multiplicación de estos microorganismos es mínima, por lo que su cantidad será inferior a la encontrada en el exterior (Comtois y Marcoux, 1999).

El grado de diferencia de la concentración de los hongos de ambos ambientes también varía con el modo de ventilación. En el caso de ambientes interiores ventilados de forma natural, éstos deben presentar más parecido en género y concentración fúngica al aire exterior que aquellos interiores con ventilación mecánica. Mientras que en el caso de interiores ventilados mecánicamente, siempre con un mínimo de filtración, éstos deberán tener un nivel de hongos menor que la mitad del nivel en el exterior. Incluso con un sistema de filtración deficiente, la concentración de hongos encontrados en el aire interior debería ser inferior a la presente en el aire exterior (ACGIH, 1989).

Adicionalmente, Reponen *et al.* (1992) propusieron un nivel normal límite para climas fríos de hasta 500 UFC/m³ de esporas fúngicas suspendidas en aire, y señalaron que esta concentración en invierno podría ser aplicable al aire del ambiente interior de locales con climatizadores o sistemas de ventilación después de encontrar que no existían diferencias entre ambos ambientes.

Basílico *et al.* (2007) indicaron que cada ambiente interior debe ser tomado como un caso particular, debido a que las concentraciones de hongos en el aire difieren de un sitio a otro por las actividades humanas que se realicen dentro de dicho ambiente y sus condiciones ambientales.

2.5. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AIRE INTERIOR Y EXTERIOR

El objetivo del muestreo de bioaerosoles es remover y coleccionar de manera efectiva una fracción representativa de las partículas biológicas del aire de tal forma que no afecte en la habilidad de detectar a los organismos (por ejemplo, alterando su culturabilidad o su integridad biológica) (Buttner *et al.*, 1997).

No existe un método de muestreo de aire ideal para todas las necesidades, por lo que para elegir uno se debe considerar qué es lo que se quiere investigar y qué información será necesaria, definiendo con antelación si se desea conocer el número total de microorganismos o sólo el de viables, si se necesita identificarlos y cultivarlos o sólo observar su morfología microscópicamente, si se quiere detectar todos los presentes o sólo los patógenos, etc. (De La Rosa *et al.*, 2002).

2.5.1. MÉTODOS DE MUESTREO DE HONGOS AMBIENTALES

Actualmente, existen una gran cantidad de métodos e instrumentos para detectar los microorganismos del aire. Entre las técnicas más importantes se encuentran la sedimentación, filtración, el impacto sobre distintas superficies sólidas y el borboteo en medios líquidos (Buttner *et al.*, 1997).

a. Sedimentación

El método de sedimentación, también conocido como método de gravedad o muestreo por deposición, es un método no cuantitativo en el cual se exponen abiertas en el ambiente placas de Petri que contienen un medio de cultivo adecuado para el crecimiento de hongos durante un periodo de tiempo, los cuales son colectados por gravedad. Es un procedimiento muy utilizado debido a su bajo costo y fácil manejo. Sin embargo, este método está afectado por el tamaño y forma de los microorganismos, la velocidad y la turbulencia del aire, por lo tanto no es cualitativa ni cuantitativamente exacto, favoreciendo la deposición de las partículas más grandes y llevando a una interpretación errónea de la prevalencia de los microorganismos en el ambiente, al excluir a las más pequeñas. Además, no nos permite hallar la concentración de estos en el ambiente debido a que no se conoce el volumen de aire muestreado (Buttner *et al.*, 1997; Pitt y Hocking, 2009).

b. Filtración

La filtración está basada en la captación de las partículas suspendidas en el aire al quedar retenidas en un material poroso, generalmente un filtro de membrana, cuando el aire lo atraviesa. La captación de una partícula depende de su diámetro aerodinámico, del tamaño del poro del filtro y del caudal de aire que atraviesa el filtro. Las fuerzas inerciales y otros mecanismos como la interceptación, difusión y atracción electrostática dan como resultado la colección de partículas en la superficie del filtro. La acción simultánea de todas estas fuerzas logra remover partículas menores al tamaño de poro del filtro (Buttner *et al.*, 1997; INSHT, 2001a). Los filtros de membrana utilizados son de policarbonato, ésteres de

celulosa o cloruro de polivinilo, con un diámetro de poro desde 0.01 a 10 μm , según la naturaleza de los hongos filamentosos (De La Rosa *et al.*, 2002).

En estos muestreadores el aire penetra a través de una o cuatro rendijas con flujos de aire de 30 L/min y 700 L/min, según el modelo, y es impulsado sobre la superficie de impactación que consiste en una placa con medio de cultivo, un portaobjetos o una cinta adherente. La placa de cultivo permite la incubación, recuento de colonias e identificación de las especies microbianas; los portaobjetos y las cintas, permiten la observación directa al microscopio de las partículas captadas. Estos soportes de captación pueden estar estáticos o colocados sobre un soporte giratorio dotado de distintas velocidades. Sin embargo, se presentan algunos problemas con este método de muestreo, ya que al disponer de un único nivel de captación no se obtiene información sobre la distribución por tamaño de partícula. (INSHT, 2001a). Además que puede ocurrir la pérdida de viabilidad de las células vegetativas debido a la desecación durante el muestreo (De La Rosa *et al.*, 2002).

c. Impactación sobre superficies sólidas

Este método permite la separación de partículas del torrente de aire utilizando la inercia de las mismas para forzar su deposición en una superficie sólida o semisólida la cual consiste generalmente un medio de cultivo agarizado o un portaobjetos de vidrio cubierto de una sustancia adhesiva que puede ser analizado microscópicamente. El proceso de impactación depende de las propiedades de inercia de la partícula (tamaño, densidad y velocidad) y de las propiedades físicas del equipo impactador tales como las dimensiones de la boquilla y el recorrido del flujo de aire (Buttner *et al.*, 1997). En la zona de captación, la corriente de aire, que penetra a través del dispositivo de entrada del equipo, es obligada a cambiar de dirección y las partículas contenidas en ella, con suficiente inercia, son separadas del flujo de aire impactando sobre la superficie de colecta (INSHT, 2001a).

d. Borboteo en líquidos

El fundamento de este método es similar al de impactación en que la fuerza inercial de las partículas es esencial para separar los microorganismos del aire, sin embargo el medio en el que se colectarán será líquido (Buttner *et al.*, 1997). Las partículas son transferidas al líquido debido a esta fuerza inercial ayudada por la dispersión de las partículas en las burbujas formadas en la zona de impactación. Como líquido de captación puede utilizarse cualquiera que sea compatible con el ensayo analítico y el agente biológico objeto de estudio. Los líquidos más frecuentemente utilizados son: agua destilada, soluciones salinas tamponadas o medios de cultivo diluidos (INSHT, 2001a).

Los frascos borboteadores o *impingers* funcionan conduciendo una corriente de aire al interior de un frasco que contiene un medio líquido de captación. El volumen de líquido con el que habitualmente trabajan estos equipos oscila entre 15 mL y 20 mL. Este volumen puede verse reducido por la evaporación, lo que tiene como consecuencia una modificación de la concentración de sales que podría afectar la supervivencia de los microorganismos captados. La cantidad de líquido evaporado depende del grado de humedad del aire aspirado y de la duración del muestreo (INSHT, 2001a).

La captación en medio líquido presenta ciertas ventajas sobre otros tipos de equipos y es que a partir de una muestra se pueden realizar diferentes ensayos o determinar diferentes componentes del bioaerosol (INSHT, 2001b).

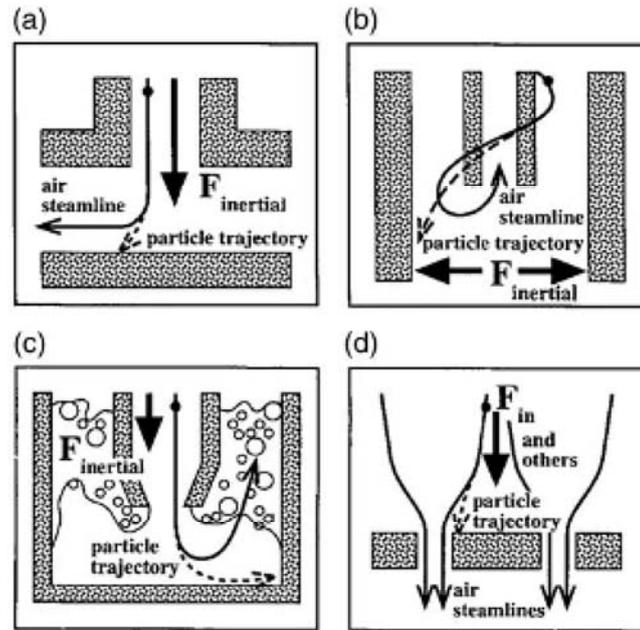


Figura 12: Mecanismos de muestreo utilizados en la obtención de muestras de hongos.

a) Impactación sobre superficie sólida; b) Sedimentación; c) Borboteo en líquido; d) Filtración.

FUENTE: Buttner *et al.* (1997).

2.5.2. MUESTREADORES DE IMPACTACIÓN SOBRE SUPERFICIES SÓLIDAS

La elección de un muestreador de bioaerosoles depende del agente biológico objeto de interés (en este caso, los hongos), de la información que se desee obtener, de la concentración previsible del hongo en el ambiente y del diámetro aerodinámico de sus partículas. Entre otros aspectos a considerar están las condiciones ambientales y determinados factores ligados al equipo (INSHT, 2001b).

En general, un muestreador de bioaerosoles ideal debe tener las siguientes características:

- Conducir el aire hacia el equipo a una velocidad uniforme y provocar las mínimas pérdidas posibles en el dispositivo de entrada del aire.

- Mantener el caudal de aire dentro de unos márgenes razonables teniendo en cuenta las posibles variaciones en el suministro eléctrico, carga de las baterías o las pérdidas de carga en el equipo.
- Permitir el uso de diversos soportes de captación (placas de cultivos de tamaño estándar, portaobjetos, filtros de distintos tipos, diámetros y tamaño de poro, etc.).
- Permitir la colocación y extracción de los soportes de captación de forma sencilla.
- Proteger el soporte de captación de posibles contaminaciones.
- Minimizar las fugas de aire que pueden causar errores en la medición o permitir que el aire no pase sobre el medio de captación.
- Expulsar el aire aspirado a suficiente distancias de la entrada para evitar el posible reingreso del aire ya muestreado.
- Captar un amplio rango de tamaños de partículas con una eficacia consistente; o tener una elevada eficacia de captación para tamaño de partícula deseado, mientras que excluye otras fracciones o las capta con menor eficacia.
- Captar las distintas fracciones de tamaño de partícula con eficacias similares a las existentes en el tracto respiratorio humano.
- Mantener la integridad física, química y biológica del material captado.
- Permitir el análisis de las muestras mediante el uso de diferentes técnicas analíticas.

- Ser resistente y fácil de limpiar y desinfectar.
- Ser de fácil manejo, portátil, fiable y económico (INSHT, 2001b).

Asimismo, hay aspectos que determinarán las características de la captación como el diseño del equipo, la forma y dimensiones del dispositivo de entrada del aire y la distancia que debe recorrer el aire dentro del equipo hasta la superficie de impactación. Entre ellos se pueden destacar:

- La zona de impactación, o zona en la que la partícula puede ser desviada significativamente de su trayectoria original. La predicción de esa zona se basa en la forma, en la anchura del orificio de entrada del aire en el equipo y en la distancia que hay hasta la superficie de impactación.
- La distancia de frenado determina la desaceleración y captación de una partícula en la zona de impactación. Para cada línea de flujo sobre una zona de impactación hay una distancia de frenado para la cual todas las partículas mayores que un cierto diámetro serán captadas, mientras que las de tamaño inferior pueden atravesar el equipo sin ser retenidas.
- Otros aspectos que determinan la captación son la posibilidad de que la partícula rebote o se escape de la superficie de captación. En ambos casos, la energía acumulada por la partícula durante el impacto o las fuerzas de arrastre son superiores a las fuerzas de adhesión del medio (INSHT, 2001a).

Hay muchos tipos de impactadores disponibles comercialmente, los cuales difieren por el número y tamaño de las boquillas, así como por el número de pasos o etapas por las que pasa el aire. El impactador por hendidura o rendija (tipo Burkard) (ver **Figura 13**), cuenta con una única entrada rectangular de aire, el tipo criba (Surface Air System (SAS) (ver **Figura 14**), emplea varios orificios para la colección de aire, y el de tipo cascada (tipo

Andersen, de tres y seis niveles), cuenta con varias etapas con orificios sucesivos pequeños, donde en cada etapa se mide la concentración de hongos cultivables según rangos de tamaño de partícula específicos (ver **Figura 15**). El flujo de aire varía en los distintos aparatos, desde 10 hasta 700 litros por minuto. Actualmente existen en el mercado impactadores fácilmente transportables que se alimentan con baterías para tomar muestras de campo y que no requieren una bomba de vacío externa, como el sistema SAS. Sin embargo, estos sistemas portátiles son de una sola etapa (Buttner *et al.*, 1997).



Figura 13: Impactador por hendidura o rendija.

FUENTE: INSHT (2001a).

En el muestreador SAS (Surface Air System), la captación de las partículas tiene lugar en una placa RODAC con medio de cultivo. Existen dos modelos calibrados a dos caudales de aire (90 L/min y 180 L/min). El equipo dispone de un cabezal con 219 orificios, un ventilador y un programador del tiempo de muestreo (a intervalos de 20 segundos), permitiendo un mínimo de 20 segundos y un máximo de cinco minutos. El diámetro de corte teórico es de 2.0 μm . Un ejemplo de este tipo de muestreador es el MAS-100 (Merck) (INSHT, 2001a).



Figura 14: Muestreador SAS (Surface Air System).

FUENTE: Nirco (2016).

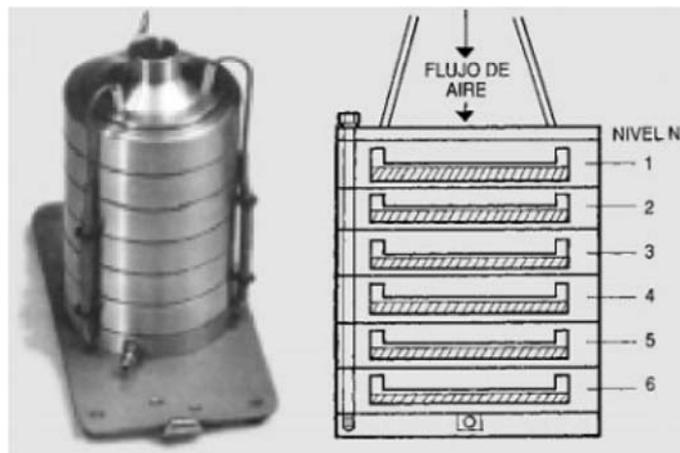


Figura 15: Esquema del impactador de cascada Andersen de 6 niveles.

FUENTE: INSHT (2001a).



Figura 16: Muestreador MAS-100 Eco®.

FUENTE: MBV AG (2011).

2.5.3. MEDIOS DE CULTIVO PARA LA RECUPERACIÓN DE HONGOS

Según Jarvis *et al.* (1983), un medio de cultivo debe ofrecer una buena recuperación de los hongos, inhibir la rápida expansión de las colonias y ayudar a su identificación.

Por estas razones, varios antibióticos como el cloranfenicol, clortetraciclina, oxytetraciclina, gentamicina, kanamicina o estreptomicina pueden ser añadidos al medio de cultivo para inhibir el crecimiento bacteriano, en concentraciones hasta los 100 µg/mL (Beuchat y Deak, 2012). Por lo general, se prefiere el cloranfenicol debido a que se mantiene estable en el medio luego de ser autoclavado (Tournas *et al.*, 1998). La NTP 299 (INSHT, 1993a) recomienda utilizar el Agar Sabouraud con cloranfenicol para efectuar el conteo de hongos.

Jarvis (1973) demostró que el uso de un medio que contenía agentes antibacterianos era superior a un medio acidificado para aislar mohos de los alimentos. Beuchat (1992) encontró que el agar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC), el Oxitetraciclina Glucosa Extracto de Levadura y el Rosa de Bengala Cloranfenicol eran superiores al agar Papa Dextrosa acidificado para el conteo de hongos y levaduras.

El agar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) es útil principalmente para analizar muestras que contienen mohos que se expanden muy rápidamente (por ejemplo *Mucor* o *Rhizopus*), debido a que el dicloran y el rosa de bengala disminuyen la velocidad de crecimiento de esos hongos, restringiendo el diámetro de las colonias, y permitiendo la detección de otros mohos de crecimiento lento (Jarvis, 1973; King *et al.*, 1979; Merker, 1998).

2.6. REGLAMENTOS Y LINEAMIENTOS

El muestreo y análisis de los bioaerosoles son de gran importancia para la salud pública y tienen aplicación en lugares residenciales, públicos e incluso industriales. Algunos de los ejemplos en los que se esperan altas concentraciones de microorganismos en el aire son en el control de infecciones aéreas en hospitales, la liberación de microorganismos potencialmente peligrosos en plantas procesadoras de carne y aves y en el control de la contaminación biológica del aire en la industria alimentaria (Zorman y Jersek, 2008).

Sin embargo, para los ambientes industriales que procesan alimentos hay escasa información acerca de estándares o guías para la calidad del aire microbiológico. Los pocos estándares y lineamientos de calidad alimentaria que están disponibles no suelen mencionar cómo controlar o monitorear los niveles de microorganismos en el aire (la frecuencia, ni el método) y mucho menos sugieren los niveles adecuados que deben existir en las áreas críticas.

Las guías o estándares que sí hacen referencia a límites o requerimientos microbiológicos en el aire son aquellas sobre los sistemas de ventilación en ambientes industriales y que son las que suelen tomarse como referencia en los casos donde no están disponibles los requerimientos para un tipo de industria en particular.

Por ejemplo, en el International Recommended Code of Practice – General Principles of Food Hygiene (Código Internacional Recomendado Revisado de Prácticas – Principios Generales de Higiene de los Alimentos) del Codex Alimentarius (Codex Alimentarius Commission, 2003), en su apartado 4.4.6. sobre Calidad de Aire y Ventilación, solamente se indica que deben mantenerse niveles adecuados de ventilación natural o mecánica con el fin de minimizar la contaminación aérea de los alimentos y controlarse la temperatura del ambiente, los olores y la humedad para asegurar la inocuidad y la aptitud de los alimentos; además señala que el requisito para diseñar y construir los sistemas de ventilación es que el aire no fluya desde las áreas contaminadas hacia las áreas limpias y que éstos puedan ser limpiados y mantenidos adecuadamente.

En el Perú, la única referencia para la industria alimentaria es el Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, aprobado mediante Decreto Supremo N° 007-98-SA (MINSA, 1998), el cual fue modificado por Decreto Supremo N° 004-2014-SA. En el Título IV sobre la fabricación de alimentos y bebidas, en el Capítulo I, Artículo 35, se explica sobre la ventilación de las fábricas, tomando como referencia el apartado 4.4.6. del Codex Alimentarius.

A su vez, el Capítulo VI del mismo Reglamento, sobre el control de calidad sanitaria e inocuidad, en su Artículo 58, exige que toda fábrica de alimentos y bebidas deba efectuar el control de calidad sanitaria e inocuidad de los productos que elabora, el cual es sustentado mediante el Sistema de Análisis de Riesgos y de Puntos de Control Críticos (HACCP en sus siglas en inglés), patrón de referencia para la vigilancia sanitaria; y además el Artículo 60 menciona que las fábricas están obligadas a diseñar y mantener toda la documentación relacionada con el registro de la información que sustente la aplicación del Plan HACCP. Esto quiere decir que a pesar que no se especifique la exigencia de un monitoreo microbiológico del aire, éste debe ser realizado implícitamente y adicionalmente debe mantenerse un registro de aquello para el aseguramiento de la calidad sanitaria e inocuidad de los productos y así cumplir con el Reglamento del Ministerio de Salud.

En el Reino Unido, un ejemplo de una organización privada que ha brindado algunos lineamientos para la calidad del aire en la industria alimentaria es Campden & Chorleywood Research Association Group, grupo que realiza investigaciones en seguridad alimentaria, quienes en el año 2005 publicaron la segunda edición de “Guidelines on Air Quality Standards for the Food Industry” (“Lineamientos en Estándares de Calidad de Aire para la Industria Alimentaria”), en el cual se incluyen algunos límites para microorganismos en el aire. Se indica que para las áreas de producción controlada de alimentos deben hacerse mediciones en dos situaciones; cuando el área está en reposo y sin la presencia del personal y cuando el área se encuentra en condiciones operativas normales y con la presencia de trabajadores. Para la primera situación, se aceptan niveles de hasta 25 UFC/m³ de microorganismos, mientras que para la segunda, son aceptables niveles de hasta 100 UFC/m³ de microorganismos (Zorman y Jersek, 2008).

La American Public Health Association (APHA), recomendó los siguientes estándares para el recuento de aerobios en placa (bacterias) en el aire de las áreas donde se procesan alimentos; 90 UFC/m³ cuando se evalúa utilizando un muestreador volumétrico y 30 UFC/cm² × semana cuando se utiliza la técnica de sedimentación en placa con agar PCA (Plate Count Agar) como medio de cultivo (Seum *et al.*, 1992).

La empresa AJEPER S.A., con el objetivo de establecer los límites microbiológicos en el aire de sus áreas críticas, realiza sucesivos muestreos de aire en un periodo de tiempo determinado, según la metodología del proveedor del equipo de muestreo y simultáneamente muestrea el producto terminado, para crear una línea base de un determinado ambiente. Se analiza la tendencia de los datos obtenidos y se establece una concentración promedio para un área específica, asegurándose que la calidad microbiológica del producto no se vea afectada negativamente. Se elabora un informe de validación, que contienen los registros primarios, las fechas de ejecución y el personal involucrado y donde se discuten y explican los resultados para finalmente establecer un parámetro para el control de calidad de aire, que permita establecer niveles de alerta y acción y tomar medidas apropiadas cuando sea necesario.

Debido a la falta de desarrollo de reglamentos y lineamientos orientados a la calidad del aire microbiológico industrial en el Perú, en los siguientes subcapítulos se han recopilado y revisado normas, estándares y lineamientos para áreas similares que requieren de un control microbiológico del aire, como es el caso de los ambientes interiores no industriales, áreas limpias como los laboratorios, áreas de elaboración de medicamentos y áreas de hospitales; y que han sido elaborados y/o aplicados en países alrededor del mundo.

2.6.1. CALIDAD DEL AIRE INTERIOR

En España, existe la norma UNE 171330-2:2014 “Calidad ambiental en interiores. Parte 2: Procedimientos de inspección de calidad ambiental interior” (AENOR, 2014), la cual reemplaza a la versión anterior UNE 171330-2:2009 que fue incluida en la modificación del RITE (Reglamento de Instalaciones Térmicas en los Edificios) en el año 2013 y

aprobada por Real Decreto 238/2013. Esta norma es de obligado cumplimiento, y detalla el mantenimiento que debe realizarse anualmente a las instalaciones con una potencia útil mayor de 70 kW. Su campo de aplicación son los ambientes interiores de todo tipo de recintos, instalaciones y edificaciones, exceptuando aquellas destinadas exclusivamente a la actividad industrial y/o agrícola.

Entre los parámetros mínimos a medir en una inspección de calidad ambiental en interiores se encuentran las bacterias y hongos en suspensión. Los puntos de medición deben ubicarse en zonas ocupadas y en algunas no ocupadas como las zonas de tránsito, zonas próximas a puertas de uso frecuente, próximas a unidades de impulsión de aire, próximas a generadores de calor y zonas singulares como las que están juntas a focos de emisión de contaminantes.

Se establecen dos criterios de valoración, el criterio confort y el criterio valor límite. El primero es un valor muy restrictivo cuyo objetivo es asegurar que el ambiente interior no resulte molesto para la mayoría de las personas que lo ocupen; mientras que el segundo representa una concentración o valor absoluto que no debe sobrepasarse nunca, teniendo como objetivo proteger la salud de los ocupantes y suelen ser indicadores basados en los valores límite oficiales de prevención de riesgos laborales. Bajo esta norma, se considera un edificio conforme cuando el resultado de al menos el 75 por ciento de los puntos de muestreo analizados se encuentre por debajo del valor de confort y no se sobrepasa en ningún punto el valor límite. En la **Tabla 3** se muestran los valores para hongos y bacterias en suspensión, así como el método de muestreo a emplear.

Tabla 3: Criterios de valoración y método de análisis para hongos y bacterias en suspensión.

Parámetro	Método	Criterio confort	Criterio valor límite*
Bacterias en suspensión	Impactador SAS	<600 UFC/m ³	Exterior: 1 Interior: <1.75
Hongos en suspensión	Impactador SAS	<200 UFC/m ³	Exterior: 1 Interior: <0.75
* Se utiliza en caso se supere el criterio de confort.			

FUENTE: AENOR (2014).

Como puede observarse en la tabla anterior, para el criterio valor límite tanto en el caso de bacterias y hongos se da una relación interior/exterior; esto se debe a que muchas veces no es fácil trabajar con valores absolutos en microbiología y por esa razón la norma acepta que cuando se supera el criterio límite, se pueda tener en cuenta esa relación.

Entre otros estándares sobre hongos en el aire expedidos por agencias gubernamentales, los cuales son de carácter obligatorio, se encuentra también el documento “Maximum Allowable Concentrations (MAC) of Harmful Substances” (“Concentraciones máximas permitidas o sustancias perjudiciales”, en español), emitido por el Comité del Estado para la Vigilancia Sanitaria y Epidemiológica de la Federación Rusa en 1993, donde se enumeran estándares químicos y biológicos para instalaciones industriales. Considerando las especies de bacterias, levaduras y de hongos especificados, la regulación está enfocada principalmente a las industrias procesadoras de alimentos y farmacéuticas. Los límites máximos se encuentran entre 10² células/m³ y 10⁴ células/m³, dependiendo de la especie y están basadas en la alergenicidad en modelos animales, el grado de peligro o en algunos casos no se especifican. Para algunos agentes, los límites están basados en concentraciones de metabolitos o proteínas en vez de unidades cultivables (Rao *et al.*, 1996; Górný *et al.*, 2011).

Entre los lineamientos sobre CAI emitidas por agencias gubernamentales, las cuales suelen ser recomendaciones, se tiene la "Determination of Fungal Propagules in Indoor Air"

(“Determinación de Propágulos Fúngicos en el Aire Interior”), que contiene lineamientos para los hongos en aire, publicada en 1988 por la Canada Mortgage and Housing Corporation (CMHC), una agencia inmobiliaria federal al servicio de los propietarios de bienes inmuebles, la comunidad médica y las empresas constructoras.

Un estudio hecho por la Dutch Occupational Health Association (Asociación de Salud Ocupacional Holandesa) en 1989, “Research Methods in Biological Air Pollution” (“Métodos de Investigación en la Contaminación Biológica del Aire”), reportó niveles fúngicos que deben ser considerados un riesgo a la salud del trabajador, que requieren acciones de prevención.

El Nordic Council (Consejo Nórdico) elaboró “Criteria Documents from the Expert Group 1991” (“Documentos de Requisitos del Grupo de Expertos 1991”), para su uso por las autoridades regulatorias en Dinamarca, Finlandia, Islandia, Noruega y Suecia como una base científica para el establecimiento de los límites de exposición ocupacionales nacionales. La sección sobre microorganismos es una revisión de literatura de las relaciones dosis/respuesta. Las concentraciones fúngicas citadas describen ambientes interiores “normales” o “de edificio enfermo”.

También en 1991, la empresa Bowser Technical Inc., patrocinada por Canada Mortgage and Housing Corporation (CMHC) publicó “Testing of Older Houses for Microbiological Pollutants” (“Evaluación de Hogares Antiguos para Contaminantes Microbiológicos”), donde la relación fúngica interior/exterior es sugerida como un mejor indicador de la actividad microbiana en casas con densidades fúngicas por debajo de las concentraciones recomendadas debido a la variabilidad de las densidades fúngicas del exterior. Se incluye un protocolo de muestreo, sin embargo no es recomendada explícitamente.

En EE.UU., la Occupational Safety and Health Administration (OSHA) en el año 1992, publica un Manual Técnico, que es un documento público que contiene planes y estrategias de muestreo para las inspecciones en el lugar de trabajo de la agencia. Incluye un capítulo sobre la CAI donde se recomienda el muestreo solamente después de que los reportes

clínicos o médicos indiquen la existencia de enfermedades relacionadas al lugar de trabajo que puedan deberse a los bioaerosoles. Se sugiere la identificación de los géneros predominantes junto con los conteos fúngicos totales. En el mismo país, el Departamento de Salud de Nueva York desarrolló lineamientos para la evaluación y remediación de *Strachybotrys atra* en ambientes interiores basados en un panel de discusión del año 1993.

En el año 1993, la Comisión de las Comunidades Europeas (CEC en sus siglas en inglés), publicó el “Report #12: Biological particles in Indoor Environments” (“Reporte #12: Partículas Biológicas en Ambientes Interiores”) que revisa las estrategias y metodologías para investigar ácaros del polvo, caspa, hongos, bacterias y *Legionella* en el aire interior de los hogares, lugares de trabajo no industriales y edificios públicos (excluyendo hospitales).

El Departamento de Salud y Bienestar Nacional de Canadá, también en 1993, elaboró el documento “Indoor Air Quality in Office Buildings: A Technical Guide” (“Calidad del Aire Interior en Oficinas: Una Guía Técnica”), donde se abordan los efectos en la salud generales debido a la exposición a los hongos, protocolos de inspección y de remediación. Se incluyen la clasificación según su importancia, límites para hongos y comparaciones interior/exterior.

Entre las organizaciones profesionales preocupadas con la salud pública que han puesto su interés en los microorganismos presentes en el aire de los ambientes interiores se encuentran la American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), que ha publicado "Guidelines for the Assessment of Bioaerosols in the Indoor Environment" (“Lineamientos Para la Evaluación de Bioaerosoles en el Ambiente Interior”) en 1989, donde se dan recomendaciones generales en caso de presencia de hongos en el aire interior. En el año 1995, publica la octava edición de “Air Sampling Instruments for Evaluation of Atmospheric Contaminants” (“Instrumentos de Muestreo de Aire para la Evaluación de Contaminantes Atmosféricos”), la cual es una guía completa acerca de la toma de muestras de contaminantes en el aire con fines ocupacionales y ambientales.

Otra organización profesional importante es la American Industrial Hygiene Association (AIHA), que también ha hecho varias publicaciones sobre la CAI. En el año 1989, el Comité Técnico publicó “The Practitioner’s Approach to Indoor Air Quality Investigations” (“El Enfoque Médico en las Investigaciones Sobre la Calidad del Aire Interior”), donde se incluyeron la clasificación según su importancia, las relaciones interior/exterior y los niveles fúngicos indicadores de contaminación.

Asimismo, la Organización Mundial de la Salud (OMS), basada en una reunión con expertos internacionales en 1988, publicó "Indoor Air Quality: Biological Contaminants" (“Calidad del Aire Interior: Contaminantes Biológicos”), que se enfoca en la evaluación de riesgos y el mantenimiento preventivo y para el caso de niveles fúngicos en aire hace referencia a la Guía Residencial Canadiense (Rao *et al.*, 1996).

Entre algunas organizaciones privadas que han publicado lineamientos sobre CAI con niveles fúngicos, pueden mencionarse a Healthy Buildings International, Inc., una firma consultora, que posee un estándar para el uso al interior de la compañía para niveles de microorganismos en el aire interior basados en datos de 5000–6000 muestras de aire de edificios comerciales alrededor del mundo.

En 1994, Cutter Information Corporation publicó “Indoor Air Quality Update: Biocontaminants in Indoor Environments” (“Actualización en la Calidad del Aire Interior: Biocontaminantes en los Ambientes Interiores”), que consiste en una revisión de las prácticas existentes sobre la contaminación biológica, donde se critican y discuten los lineamientos para hongos en el aire que son utilizadas por la mayoría de investigadores y expertos en higiene ambiental; y donde además se mencionan efectos a la salud, remediación y mantenimiento preventivo. Indoor Air Quality Association, Inc, otra organización con profesionales interesados en problemas con la CAI (como micólogos, abogados y especialistas en calefacción, ventilación y aire acondicionado), publicó "Indoor Air Quality Standard #95-1 Recommended for Florida" (“Estándar de Calidad de Aire Interior #95-1 Recomendado para Florida” en el año 1995 (Rao *et al.*, 1996).

En la **Tabla 4**, se presenta un resumen de lineamientos y estándares, incluyendo los anteriormente mencionados, que comprenden límites y recomendaciones de niveles fúngicos en aire.

Tabla 4: Resumen de estándares y lineamientos para hongos en el aire por organizaciones privadas y gubernamentales.

Organización	Documento	Año	Límites/Recomendaciones
ACGIH	Guidelines for the Assessment of Bioaerosols	1989	<ul style="list-style-type: none"> • $<100 \text{ UFC/m}^3$ = nivel aceptable. • Interior/Exterior <1 = nivel aceptable si hongos son del mismo género. • Área con reclamos/Área sin reclamos >10 = nivel inusual.
ACGIH	Air Sampling Instruments for Evaluation of Atmospheric Contaminants	1995	<ul style="list-style-type: none"> • $<100 \text{ UFC/m}^3$ = nivel bajo: ej. áreas limpias y hospitales. • $100\text{-}1000 \text{ UFC/m}^3$ = nivel intermedio: ej. concentraciones generales al interior y exterior. • $>1000 \text{ UFC/m}^3$ = nivel alto: ej. área de manipulación de animales.
AIHA	The Practioner's Approach to IAQ Investigations	1989	<ul style="list-style-type: none"> • Clasificación según importancia. • $\geq 1000 \text{ UFC/m}^3$ = indica situación atípica. • Relación Interior/Exterior alta = indica presencia de contaminante al interior.
CEC	Report #12: Biological Particles in Indoor Environment	1993	<ul style="list-style-type: none"> • Para hogares: <ul style="list-style-type: none"> • $>10^4 \text{ UFC/m}^3$ = nivel muy alto. • $<10^4 \text{ UFC/m}^3$ = nivel alto. • $<10^3 \text{ UFC/m}^3$ = nivel intermedio. • $<200 \text{ UFC/m}^3$ = nivel bajo ($<500 \text{ UFC/m}^3$ en medio DG18). • $<50 \text{ UFC/m}^3$ = nivel muy bajo. • Para ambientes interiores no industriales: <ul style="list-style-type: none"> • $>2000 \text{ UFC/m}^3$ = nivel muy alto. • $<2000 \text{ UFC/m}^3$ = nivel alto. • $<500 \text{ UFC/m}^3$ = nivel intermedio. • $<100 \text{ UFC/m}^3$ = nivel bajo. • $<25 \text{ UFC/m}^3$ = nivel muy bajo.

Continúa...

... continuación.

CMHC	Determination of Fungal Propagules in Indoor Air	1988	<ul style="list-style-type: none"> • 0 UFC/m³ = no tomar acción a menos que la inspección lo indique. • ≥50 UFC/m³ en una sola especie = identificar la fuente para determinar acciones posteriores. • ≤150-200 UFC/m³ en varias especies = no tomar acción a menos que la inspección lo indique. • ≥200 UFC/m³ en varias especies = por prudencia se requieren más inspecciones. • ≤400-500 UFC/m³ principalmente <i>Cladosporium</i> y <i>Alternaria</i> = no tomar acción a menos que la inspección lo indique. • ≥500 UFC/m³ principalmente <i>Cladosporium</i> y <i>Alternaria</i> = determinar la razón.
CMHC	(Descargo) Testing of older houses for microbiological pollutants	1991	<ul style="list-style-type: none"> • >200 UFC/m³ para varias especies excepto <i>Alternaria</i> y <i>Cladosporium</i> = investigar. • >500 UFC/m³ incluyendo <i>Alternaria</i> y <i>Cladosporium</i> = investigar. • Se recomienda el uso de relación Interior/Exterior cuando la concentración sea ≤200 UFC/m³.
Cutter Information Corp.	IAQ Update: Biocontaminants in Indoor Environments	1994	<ul style="list-style-type: none"> • Relación Interior/Exterior entre <0.1 a <1 = nivel aceptable. • Límites superiores para: <ul style="list-style-type: none"> • Hongos comunes (ej. <i>Cladosporium</i>) = 300 UFC/m³. • Varias especies no patógenas o toxigénicas = 150 UFC/m³. • Hongos totales = 200 UFC/m³. • 100 UFC/m³ a menos que haya población inmunocomprometida.
Dutch Occupational Health Association	Research Methods in Biological Indoor Air Pollution	1989	<ul style="list-style-type: none"> • >10⁴ UFC/m³ de hongos totales = riesgo a la salud. • >500 UFC/m³ de alguna especie potencialmente patógena = riesgo a la salud.
Finnish Institute of Occupational Health ^a	Technical Report	1997	<ul style="list-style-type: none"> • <1.0×10² UFC/m³ = nivel de contaminación aceptable. • 1.0×10² a 5.0×10² UFC/m³ = nivel de contaminación que requiere análisis. • >5.0×10² UFC/m³ = nivel de contaminación inaceptable. • <2.0×10² UFC/m³ = sin anomalía. • 2.0×10² a 5.0×10² UFC/m³ = anomalía débil. • 5.0×10² a 1.0×10³ UFC/m³ = anomalía fuerte. • >1.0×10³ UFC/m³ = anomalía extrema.

Continúa...

... continuación.

Healthy Buildings International		1994	<ul style="list-style-type: none"> • ≤ 750 UFC/m³ bacterias y hongos totales en aire = nivel aceptable si las especies no son infecciosas o alérgicas.
IAQ Association Inc.	IAQ Standard #95-1 Recommended for Florida	1995	<ul style="list-style-type: none"> • < 300 UFC/m³ hongos comunes = nivel aceptable. • < 150 UFC/m³ hongos mixtos no patógenos o toxigénicos = nivel aceptable.
Institut für Baubiologie & Ökologie, Alemania ^b	Standard SBM-2003	2003	<ul style="list-style-type: none"> • $< 2.0 \times 10^2$ UFC/m³ = sin anomalía. • 2.0×10^2 a 5.0×10^2 UFC/m³ = anomalía débil. • 5.0×10^2 a 1.0×10^3 UFC/m³ = anomalía fuerte. • $> 1.0 \times 10^3$ UFC/m³ = anomalía extrema.
National Health and Welfare, Canadá ^c	(Descargo) IAQ in Office Buildings: A Technical Guide	1993	<ul style="list-style-type: none"> • Los hongos patógenos o toxigénicos no son aceptables en el aire interior. • > 50 UFC/m³ en una sola especie = investigar. • < 150 UFC/m³ en varias especies = nivel aceptable. • < 500 UFC/m³ en hongos comunes de árboles u hojas = nivel aceptable en verano.
New York City Department of Health	Guidelines on Assessment and Remediation of <i>S. atra</i> in Indoor Environments	1995	<ul style="list-style-type: none"> • Interior/Exterior > 1 = indicador de contaminación. • 10^3-10^4 UFC/m³ = evacuación inmediata.
Nordic Council	Criteria Documents from the Expert Group	1991	<ul style="list-style-type: none"> • 10-10^4 UFC/m³ = nivel típico en “edificios enfermos” y aire ambiental.
OMS	IAQ: Biological Contaminants	1988	<ul style="list-style-type: none"> • Los hongos patógenos o toxigénicos no son aceptables en el aire interior. • ≥ 50 UFC/m³ en una sola especie = investigar. • ≤ 150 UFC/m³ = nivel aceptable en varias especies. • ≤ 500 UFC/m³ = nivel aceptable en <i>Cladosporium</i> u otro hongo común del follaje.
OSHA	Technical Manual	1992	<ul style="list-style-type: none"> • ≥ 1000 UFC/m³ = indicador de contaminación. • $\geq 10^6$ hongos/gramo de polvo = indicador de contaminación. • $\geq 10^5$ bacterias u hongos/mL de agua estancada o cieno = indicador de contaminación.

a. Instituto Finlandés de Salud Ocupacional; b. Instituto Para la Bioconstrucción y Ecología, Alemania; c. Higiene y Bienestar Nacional, Canada.

FUENTE: Rao *et al.* (1996); Górnny *et al.* (2011).

2.6.2. SISTEMAS DE CLIMATIZACIÓN

En España, existe la norma UNE 100012:2005 sobre Higienización de sistemas de climatización (AENOR, 2005), la cual está dentro del RITE (Reglamento de Instalaciones Térmicas en los Edificios), y fue aprobada según Real Decreto 1027/2007. Esta norma es de aplicación a sistemas de ventilación y acondicionamiento de aire, además se aplican a todas las clasificaciones de edificios exceptuando los que tengan consideración especial, por cuestiones de la actividad que en ellas se desarrollen. Entre los usos del edificio considerados en la norma están:

- Industrial
- Residencial
- Oficinas
- Comercial
- Restauración
- Sanitarios
- Áreas de uso especializado; se incluyen las relacionadas con salas blancas, laboratorios y/u otras áreas con requisitos ambientales especiales.
- Multiuso; realización de actividades mixtas.

Se consideran como valores mínimos recomendados en aire del ambiente interior los recuentos de menos de 800 UFC/m³ de flora aerobia mesófila total, por encima de los cuales se recomienda tomar medidas correctoras e identificar los microorganismos. Sin embargo, no se menciona un límite para hongos.

En Brasil, mediante la resolución RE nº 9/2003 “Orientação Técnica elaborada por Grupo Técnico Assessor sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo” (ANVISA, 2003a) se dan valores referenciales para la CAI en ambientes climatizados artificialmente que tengan uso público o colectivo, exceptuando los de uso restringido que requieren filtros absolutos o

instalaciones especiales, como el de los procesos productivos, instalaciones de salud u otros que cuentan con reglamentos específicos. Se indica que el Valor Máximo Recomendable (VMR) para contaminación microbiológica debe ser ≤ 750 UFC/m³ en hongos, para una relación I/E ≤ 1.5 , donde “I” es la cantidad de hongos en el ambiente interior y “E” es la cantidad de hongos en el ambiente exterior. Ésta relación I/E es requerida como una forma de evaluación frente al concepto de normalidad representado por el ambiente exterior y la tendencia epidemiológica de amplificación de los contaminantes en los ambientes cerrados. Cuando se sobrepasa el VMR o la relación I/E es mayor a 1.5, es necesario realizar un diagnóstico de las fuentes contaminantes para tomar acciones correctivas. Sin embargo, es inaceptable la presencia de hongos patógenos y toxigénicos.

2.6.3. ÁREAS LIMPIAS

La norma ISO 14644-1:1999(E) titulada Cleanrooms and associated controlled environments — Part 1: Classification of air cleanliness (Salas limpias y locales anexos – Parte 1: Clasificación de la limpieza del aire, en español) (ISO, 1999), tal como lo indica su nombre, clasifica la limpieza del aire en las salas limpias y sus locales anexos exclusivamente en términos de concentración de partículas del aire, y solamente son considerados los tamaños de partícula que van desde las 0.1 μm hasta los 5 μm . Sin embargo, esta norma no caracteriza la naturaleza de las partículas (si son químicas, radiológicas o viables, por ejemplo). Las salas limpias son clasificadas en nueve clases (ISO 1 – ISO 9), siendo la Clase ISO 1 la más exigente en cuanto a la concentración y tamaño de partículas permitidas (**Tabla 5**).

Además, describe tres estados de ocupación de estas áreas. “Tal y como está construido”, es una condición donde la instalación está completa con todos los servicios conectados y funcionando, pero sin equipos de producción, materiales o personal presente. “En reposo”, es la condición donde la instalación está completa con el equipo instalado y operando sin personal presente. La condición “operacional” es cuando la instalación está funcionando con el personal presente y realizando su trabajo.

Para la clasificación de la limpieza según las partículas del aire para las salas limpias y sus zonas anexas, se deben considerar el número de clasificación, expresado como “Clase ISO N”; el estado de ocupación al que aplica; y el tamaño de partícula considerada y su concentración relacionada, donde el tamaño de partícula se encuentra entre 0.1 μm hasta 5 μm . Como se verá luego, muchos estándares y lineamientos utilizan esta norma para la clasificación de sus salas limpias, especialmente los que están relacionados a procesos donde se requieren niveles altos de asepsia.

Tabla 5: Clasificación ISO de la limpieza del aire por la concentración de partículas (ISO 14644-1:1999).

Número de clasificación ISO (N)	Concentración máxima de partículas (partículas/m ³ de aire) para partículas iguales o mayores que los tamaños considerados que se muestran a continuación					
	0.1 μm	0.2 μm	0.3 μm	0.5 μm	1 μm	5 μm
Clase ISO 1	10	2				
Clase ISO 2	100	24	10	4		
Clase ISO 3	1000	237	102	35	8	
Clase ISO 4	10000	2370	1020	352	83	
Clase ISO 5	100000	23700	10200	3520	832	29
Clase ISO 6				35200	8320	293
Clase ISO 7				352000	83200	2930
Clase ISO 8				3520000	832000	29300
Clase ISO 9				35200000	8320000	293000

NOTA: Incertidumbres relacionadas con el proceso de medición requieren que los datos de concentración sean utilizados con no más de tres cifras significativas para la determinación del nivel de clasificación.

FUENTE: ISO (1999).

Esta norma fue actualizada a la ISO 14644–1:2015(E), ahora titulada Cleanrooms and associated controlled environments - Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration (Salas limpias y locales anexas controlados. Parte 1: Clasificación de la limpieza del aire mediante la concentración de partículas) (ISO, 2015). Entre los cambios,

se eliminó el tamaño de partícula 0.2 µm de la Clase ISO 1, el tamaño 0,5 µm para la Clase ISO 2, el tamaño 1 µm en la Clase ISO 3 y en la Clase ISO 5 se elimina el tamaño de 5 µm (Tabla 6).

Tabla 6: Clasificación ISO de la limpieza del aire mediante la concentración de partículas (ISO 14644-1:2015).

Número de clasificación ISO (N)	Concentración máxima permitida (partículas/m ³) para partículas iguales o mayores que los tamaños considerados mostrados a continuación ^a					
	0.1 µm	0.2 µm	0.3 µm	0.5 µm	1 µm	5 µm
Clase ISO 1	10 ^b	d	d	d	d	e
Clase ISO 2	100	24 ^b	10 ^b	d	d	e
Clase ISO 3	1000	237	102	35	d	e
Clase ISO 4	10000	2370	1020	352	83 ^b	e
Clase ISO 5	100000	23700	10200	3520	832	d, e, f
Clase ISO 6	c	c	c	35200	8320	293
Clase ISO 7	c	c	c	352000	83200	2930
Clase ISO 8	c	c	c	3520000	832000	29300
Clase ISO 9 ^g	c	c	c	35200000	8320000	293000

a. Todas las concentraciones en la tabla son acumulativas, ej. para ISO 5, las 10200 partículas mostradas en 0.3 µm incluyen todas las partículas iguales o mayores a este tamaño.

b. Estas concentraciones resultarán en volúmenes mayores de aire para su clasificación. Puede aplicarse un procedimiento de muestreo secuencial.

c. Los límites de concentración no son aplicables en esta región de la tabla debido a la concentración muy alta de partículas.

d. las limitaciones de muestreo y estadísticas para partículas en bajas concentraciones hacen inapropiada su clasificación.

e. Las limitaciones para la colecta de muestras para las partículas en bajas concentraciones y tamaños mayores a 1 µm hacen inapropiada la clasificación en este tamaño de partícula debido a pérdidas potenciales de partículas por el sistema de muestreo.

f. Con el motivo de especificar este tamaño de partícula en asociación con la Clase ISO 5, el descriptor de macropartículas M puede ser adaptada y utilizada en conjunto con al menos otro tamaño de partícula.

g. Esta clase es sólo aplicable para el estado operativo.

FUENTE: ISO (2015).

2.6.4. ELABORACIÓN DE MEDICAMENTOS

La OMS, en el Informe 45, Anexo 6 titulado “Buenas Prácticas de Manufactura para Productos Farmacéuticos Estériles” (WHO, 2011b), establece límites para el monitoreo microbiológico ambiental mediante aire volumétrico, placas de sedimentación y muestreo de superficies según el tipo de área limpia en estado de funcionamiento. Las áreas limpias se clasifican de acuerdo con la norma ISO 14644-1:1999 (ISO, 1999) por el número máximo de partículas suspendidas en el aire y a su vez en grados A, B, C y D. El grado A es el más estricto, caracteriza la zona donde se realizan operaciones de alto riesgo que impliquen la manipulación de productos estériles, como el llenado y la realización de conexiones asépticas. El grado B suele caracterizar el entorno que rodea la zona de grado A en el caso de preparación y llenado asépticos; mientras que los grados C y D son zonas limpias donde se realizan fases menos críticas de la fabricación de productos estériles, o se llevan actividades durante las cuales el producto no se encuentre directamente expuesto. En la **Tabla 7** se dan algunos ejemplos de operaciones y el grado del área donde se llevan a cabo. Los límites microbiológicos para cada grado y método de muestreo están en la **Tabla 8**.

Tabla 7: Ejemplos de operaciones que pueden realizarse según el grado de limpieza del aire en las áreas limpias (OMS).

Grado	Ejemplos de operaciones para productos estériles.
A	Llenado de productos, cuando exista riesgo inusual.
C	Preparación de soluciones, cuando exista riesgo inusual. Llenado de productos.
D	Preparación de soluciones y componentes para su llenado posterior.
Grado	Ejemplos de operaciones para preparaciones asépticas.
A	Preparación y llenado aséptico.
C	Preparación de soluciones para filtrar.
D	Manipulación de componentes tras su lavado.

FUENTE: WHO (2011).

Tabla 8: Límites de concentración microbiana según el grado de limpieza del aire en las áreas limpias^(a) (OMS).

Grado	Muestra de aire (UFC/m ³)	Placas de sedimentación (90 mm diámetro) (UFC/4 horas) ^(b)	Placas de contacto (55 mm diámetro) (UFC/placa)	Impresión de guantes (5 dedos) (UFC/guante)
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	- ^(c)
D	200	100	50	-

Notas:

(a) Se tratan de valores promedio.

(b) Las placas de sedimentación individuales pueden exponerse por menos de 4 horas.

(c) La impresión de guantes no se aplica en estos ambientes.

FUENTE: WHO (2011b).

Entre los países que aplican estos límites podemos citar como ejemplo a Brasil (Resolução-RDC nº17/2010 “Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos” (ANVISA, 2010)); Canadá (“Good Manufacturing Practices (GMP) Guidelines - 2009 Edition, Version 2, GUI-0001” (Health Canada, 2011)), Colombia (Resolución 5402 de 2015 “Manual de buenas prácticas de manufactura para la fabricación de medicamentos biológicos” (MINSALUD, 2015)); Cuba (Resolución No. 48 / 2011 “Anexo No. 04. Buenas Prácticas para la Fabricación de Productos Estériles” (MINSAP, 2011)); México (NOM-164-SSA1-2013 “Buenas prácticas de fabricación para fármacos” (SSA, 2013)) y Bolivia (“Norma Nacional de Buenas Prácticas de Manufactura (Productos Farmacéuticos)” (MINSALUD, 1997)), siendo este último caso especial, ya que los límites microbiológicos en aire que se indican para la fabricación de productos estériles están basados en el Informe 32 de la OMS (WHO, 1995), los cuales son: <1 UFC/m³ (grado A), 5 UFC/m³ (grado B), 100 UFC/m³ (grado C) y 500 UFC/m³ (grado D).

En el caso de la Unión Europea, en el EudraLex, el cual comprende las leyes y regulaciones del sector farmacéutico, en el Volumen 4 “Guía de la UE para las Buenas

Prácticas de Manufactura de Productos Medicinales para Uso Humano y Veterinario”, Anexo 1 “Manufactura de Productos Medicinales Estériles (versión corregida)” (European Commision, 2008), recomienda los mismos límites para el monitoreo microbiológico del aire que el Informe 45 de la OMS, basándose también en la clasificación de las áreas limpias según la ISO 14644-1:1999 y en los cuatro grados antes mencionados (A, B, C y D). Entre los países donde se aplican estos límites podemos mencionar como ejemplo a España (“Guía de Normas de Correcta Fabricación de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario”, Anexo 1 “Fabricación de medicamentos estériles” (MSPS, 2008); “Guía de buenas prácticas de preparación de medicamentos en servicios de farmacia hospitalaria” (MSSSI, 2014)).

En el caso de EE.UU., se han establecido límites microbiológicos en aire en su Farmacopea (USP-NF). En el capítulo general 797 “Preparación magistral – Preparaciones Estériles” de la USP 35 – NF 30 (USP, 2011), se clasifican la rigurosidad de las áreas según la ISO 14644-1:1999 y se establecen los niveles límites de acción para la contaminación microbiana (**Tabla 9**). Esta misma clasificación aparece en el documento “Guidance for Industry – Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice” (FDA, 2004).

Tabla 9: Niveles de acción recomendados según la rigurosidad de las áreas limpias (USP-NF).

Clasificación	Muestreo de aire (UFC/m ³)
ISO Clase 5	>1
ISO Clase 7	>10
ISO Clase 8 o inferior	>100

FUENTE: USP (2011).

Japón también ha sugerido límites microbiológicos en el Suplemento I de la edición 16 de la Farmacopea Japonesa (MHLW, 2012). En esta actualización, las áreas limpias también se clasifican según la ISO 14644-1:1999 y a su vez en los grados A, B, C y D. Los límites para cada grado son para las salas en estado de funcionamiento y similares a los expuestos

en el Informe 45 de la OMS. En resumen, hay una tendencia mundial a la armonización de los límites microbiológicos en aire para la elaboración de medicamentos estériles tomando como base la norma ISO 14644-1 y los límites proporcionados por la OMS.

2.6.5. VENTILACIÓN EN HOSPITALES

En España, la norma UNE 171340:2012 “Validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales” (AENOR, 2012) establece principios fundamentales de control para validar el correcto funcionamiento de las salas de ambiente controlado en centros sanitarios u hospitalarios. Entre sus criterios de valoración indica límites microbiológicos en el aire para aerobios mesófilos totales dependiendo de la clasificación de los ambientes (Clase A, B o C), la cual se basa en la ISO 14611-1. Estos límites sólo son aplicables en las salas en reposo y sin actividad alguna (**Tabla 10**). El método a utilizar para los muestreos microbiológicos es el de impactación.

Tabla 10: Clasificación del ambiente en función de los recuentos microbiológicos de flora mesófila (UNE 171340:2012).

Clasificación	Valor	Resultado
Quirófanos y zonas de Muy Alto Riesgo (ISO 5 e ISO 6, Clase A)	<10 UFC/m ³	Ambiente muy limpio
Quirófanos y zonas de Alto Riesgo (ISO 7, Clase B)	10–100 UFC/m ³	Ambiente limpio
Quirófanos y zonas de Riesgo Intermedio (ISO 8, Clase C)	100–200 UFC/m ³	Ambiente aceptable

FUENTE: AENOR (2012).

En el caso de los hongos, para todos los ambientes controlados, el valor en el aire admisible debe ser de 0 UFC/m³. Se deben tener en cuenta las especies *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* y *Scedosporium*, las cuales son oportunistas.

En la guía “Recomendaciones para la minimización de los riesgos microbiológicos asociados a las infraestructuras hospitalarias de Osakidetza” (Carrandi *et al.*, 2009), publicada con anterioridad a la UNE 171340:2012, mencionan como valores de bioseguridad admisibles los mismos valores que la norma tanto para el recuento total de bacterias (**Tabla 10**) y para hongos filamentosos (0 UFC/m³). Sin embargo, a diferencia de la norma anterior, los límites son aplicables tanto para una sala en reposo como en una sala en funcionamiento, ya que según la guía, el muestreo se realiza antes de iniciar la actividad quirúrgica y durante una cirugía, antes de finalizar la intervención. Adicionalmente menciona que en los quirófanos de cirugía especial se debe garantizar un ambiente muy limpio.

En Francia, la norma NF S90-351 de 2013 Établissements de santé - Zones à environnement maîtrisé - Exigences relatives à la maîtrise de la contamination aéroportée (“Establecimientos de salud – zonas de control ambiental – requerimientos para el control de la contaminación en el aire”) (AFNOR, 2013), clasifica los ambientes en cuatro clases, siendo la zona 1 la de menor riesgo, tomando como base la norma ISO 14644-1. La zona 4 corresponde a un ISO 5, la zona 3 a un ISO 7, la zona 2 a un ISO 6 y la zona 1 no tiene ningún requisito específico. A continuación se dan algunos ejemplos de áreas por cada tipo de zona:

- Zona 1 (riesgo mínimo): Vestíbulos, oficinas, servicios administrativos, servicios técnicos.
- Zona 2 (riesgo medio): Pasillos, ascensores, escaleras, salas de espera, áreas de consultas externas, áreas de reeducación funcional, maternidad, áreas de medio y largo plazo, áreas psiquiátricas, áreas de esterilización central (zona de lavado), farmacias, lavanderías, aseos.
- Zona 3 (riesgo alto): Unidades de cuidados intensivos, áreas de “pequeña cirugía”, salas de reanimación, salas de partos, guardería, pediatría, cirugía, hemodiálisis, radiología, áreas de esterilización central (zona de limpieza), laboratorios, salas de autopsias.
- Zona 4 (riesgo muy alto): Neonatología, quirófanos, urgencias, áreas de trasplantes, unidades de quemados.

Las áreas donde se obtienen imágenes para intervenciones médicas, oncología, hemato-oncología, hematología, hemodinámica, endoscopia, deben ser de clasificación 3 o 4.

La **Tabla 11** muestra los criterios microbiológicos que deben cumplir cada una de las zonas. Los niveles están clasificados en “clases microbiológicas” (M1, M10 y M100) que incluyen tanto bacterias y hongos y son aplicables sólo para las áreas en reposo y sin la presencia del personal.

Tabla 11: Valores microbiológicos objetivos según la zona en un establecimiento de salud (NF S90-351).

Clasificación	Clase microbiológica
Zona 4 (ISO 5)	M1: ≤ 1 UFC/m ³
Zona 3 (ISO 7)	M10: ≤ 10 UFC/m ³
Zona 2 (ISO 8)	M100: ≤ 100 UFC/m ³

FUENTE: AFNOR (2013).

En cuanto a la presencia de elementos fúngicos potencialmente patógenos, el valor objetivo debe ser <1 UFC/m³. Se recomienda identificar la eventual presencia de hongos filamentosos patógenos (por ejemplo, *Aspergillus sp.*).

En el Reino Unido, el documento “Examining food, water and environmental samples from healthcare environments – Microbiological guidelines” (PHE, 2013), resume la legislación disponible y sirve de guía para el control microbiológico de alimentos, agua y ambientes en los establecimientos de salud. Para el monitoreo microbiológico del aire, se presentan límites tanto para las áreas limpias farmacéuticas (**Tabla 12**), la cual se clasifica en grados A, B, C y D basándose en la ISO 14644-1, y para las salas de operaciones (**Tabla 13**). Para el caso de las áreas limpias farmacéuticas, el muestreo puede ser tanto pasivo (por sedimentación) o activo (por impactación), sin embargo, no especifica si se realiza en un área operativa o en reposo. En cambio, para las salas de operaciones, el muestreo debe ser activo y se realiza tanto en el área en reposo y en operación.

Tabla 12: Requerimientos e interpretación de resultados para muestreos pasivos y activos de áreas limpias farmacéuticas (Public Health England).

Indicador	Requerimientos de muestreo	Resultado	Interpretación	Acción
Recuento de colonias aerobias	Muestreo pasivo (placa de 90 mm para 4 h de exposición)	<100 UFC	Apropiado para Grado D	Área considerada limpia pero debe restringirse a actividades de riesgo mínimo y debe considerarse una investigación sobre la fuente de contaminación.
		<50 UFC	Apropiado para Grado C	
		<5 UFC	Apropiado para Grado B	Área puede usarse para preparación y llenado aséptico.
		<1 UFC	Apropiado para Grado A	Área puede usarse para operaciones de alto riesgo.
	Muestreo activo	<200 UFC/m ³	Apropiado para Grado D	Área considerada limpia pero debe restringirse a actividades de riesgo mínimo y debe considerarse una investigación sobre la fuente de contaminación.
		<100 UFC/m ³	Apropiado para Grado C	
		<10 UFC/m ³	Apropiado para Grado B	Área puede usarse para preparación y llenado aséptico.
		<1 UFC/m ³	Apropiado para Grado A	Área puede usarse para operaciones de alto riesgo.

FUENTE: PHE (2013).

En Brasil, se presentó la Consulta Pública N° 109 en 2003 “Orientação técnica referente a indicadores de qualidade do ar interior em ambientes de serviços de saúde” (ANVISA, 2003b), donde se establecen límites para el recuento total de bacterias y hongos (**Tabla 14**) utilizando el método por impactación según el nivel del área involucrada:

- Nivel 0: Área donde el riesgo no excede a aquel encontrado en ambientes de uso público o colectivo.

- Nivel 1: Área donde no se ha constatado el riesgo de eventos adversos relacionados con la calidad del aire, pero en el que algunas autoridades, organizaciones e investigadores sugieren que el riesgo debe ser considerado.
- Nivel 2: Área donde existen fuertes evidencias de riesgo de ocurrencia de eventos adversos en relación a la calidad del aire de sus ocupantes o de pacientes que utilizan los productos manipulados en estas áreas, basadas en estudios experimentales, clínicos o epidemiológicos bien delineados.
- Nivel 3: Área donde existen fuertes evidencias de alto riesgo de eventos adversos de sus ocupantes o de pacientes que utilizan los productos manipulados en estas áreas, basadas en estudios experimentales, clínicos o epidemiológicos bien delineados.

Tabla 13: Requerimientos e interpretación de resultados para la calidad del aire en una sala de operaciones (Public Health England).

Indicador	Requerimientos de muestreo	Resultado	Interpretación	Acción
Recuento de colonias aerobias	En la puesta en marcha o después de cualquier trabajo que pueda afectar a la naturaleza del suministro de aire o su distribución (no incluye cambios rutinarios de filtro); en sala vacía luego que el sistema de ventilación alcance el estado estacionario.	>10 UFC/m ³	No apropiado	No hacer uso de la sala. Verificar que la técnica de muestreo no sea la causa de los resultados erróneos. Asegurarse con el área de Mantenimiento que los flujos de aire y sus velocidades son las especificadas en las guías; asegurarse que la unidad de tratamiento de aire está construida de manera que cumpla con las especificaciones en los filtros y que éste aire no escape sin ser filtrado. Repetir el muestreo. Si se mantiene “no apropiado”, buscar asesoramiento externo.
		0 a <10 UFC/m ³	Apropiado	Si los recuentos cerca o por encima de los niveles aceptables contienen mayormente hongos, revisar que el último filtro sea de grado adecuado (F7 o mayor) o que el aire no escape sin ser filtrado.

Continúa...

... continuación.

Recuento de colonias aerobias	Durante una operación quirúrgica.	>180 UFC/m ³ (promedio en un periodo de 5 minutos).	No apropiado	Investigar y volver a muestrear.
		0 a <180 UFC/m ³	Apropiado	N/A

FUENTE: PHE (2013).

Tabla 14: Límites de las partículas biológicas totales en el aire ambiental según su clasificación (ANVISA).

Clasificación	Valor
Nivel 0	≤750 UFC/m ³
Nivel 1	=500 UFC/m ³
Nivel 2	=200 UFC/m ³
Nivel 3	=50 UFC/m ³

FUENTE: ANVISA (2003).

En el caso del Perú, el PRONIEM (Programa Nacional de Infraestructura, Equipamiento y Mantenimiento), ahora DGIEM (Dirección General de Infraestructura, Equipamiento y Mantenimiento) a cargo del Ministerio de Salud, tiene un documento que se titula “Sistemas de aire acondicionado en instalaciones de salud” (MINSa, 2013), en el cual se habla sobre el control microbiológico en los quirófanos tanto en la infraestructura de climatización y en la limpieza de sus instalaciones. Clasifica a los quirófanos en dos grupos según el tipo de cirugías que se realiza en ellos:

- Grupo I: Quirófanos de cirugía convencional.
- Grupo II: Quirófanos de cirugía especial (cirugía cardíaca, vascular, neurocirugía, trasplante de órganos, traumatología especial).

En los quirófanos del grupo II, donde se recomienda garantizar un ambiente muy limpio, se propone como valor límite bacteriano menor a 10 UFC/m³, mientras que para hongos oportunistas el valor límite es de 0.1 UFC/m³ como máximo. Sin embargo, no se establece

ningún límite microbiológico para los quirófanos del grupo I. Tampoco se menciona si los muestreos en el grupo II deben ser en la sala en reposo o en operación.

2.6.6. LABORATORIOS

La Organización Mundial de la Salud, en su Informe 45 sobre las especificaciones para preparaciones farmacéuticas, en el Anexo 2 titulado “Buenas Prácticas para Laboratorios de Microbiología Farmacéutica” (WHO, 2011a), indica que las áreas dentro del laboratorio deben ser diseñadas adecuadamente según las operaciones que se desarrollen, y que esa clasificación de su instalación debe basarse en la criticidad del producto y la operación. La clasificación de estas zonas, al ser consideradas áreas limpias, se basan en la ISO 14644-1:1999 (ISO, 1999) por el número máximo de partículas suspendidas en el aire. Las recomendaciones para esta clasificación se encuentran en la **Tabla 15**.

Tabla 15: Ejemplos de zonas en las que se podrían realizar las operaciones en un laboratorio de microbiología farmacéutica (OMS).

Zona	Grado de instalación	Recomendación
Recepción de muestra	Sin clasificar	Sin clasificar
Preparación de medios	Sin clasificar	Sin clasificar
Carga de autoclave	Sin clasificar	Sin clasificar
Descarga de autoclave dentro del área del ensayo de esterilidad	Grado B	ISO 5 (flujo turbulento) y <10 UFC/m ³
Ensayo de esterilidad – flujo de aire unidireccional (UDAF)	Grado A	ISO 5 (UDAF) y <1 UFC/m ³
Ensayo de esterilidad – entorno del UDAF	Grado B	ISO 5 (flujo turbulento) y <10 UFC/m ³
Ensayo de esterilidad – aislador	Grado A (únicamente NVP y microbiología)	ISO 5 (UDAF) y <1 UFC/m ³
Ensayo de esterilidad – entorno del aislador	Sin clasificar	Sin clasificar

Continúa...

... continuación.

Incubadora	Sin clasificar	Sin clasificar
Recuento	Sin clasificar ^a	Sin clasificar ^a
Descontaminación	Sin clasificar	Sin clasificar
a. Las etapas críticas deben realizarse bajo flujo laminar.		

FUENTE: WHO (2011a).

También recomienda que los ensayos de esterilidad deben realizarse en la misma clase de área usada para las operaciones de fabricación estéril/aséptica de productos, y que además cuando sea necesario y apropiado, se debe establecer un programa de monitoreo ambiental mediante el uso de sistemas de aire activo, placas de sedimentación o placas de contacto, diferenciales de presión y temperatura, deben definirse límites de alerta y de acción, y finalmente realizarse un análisis de tendencia de los resultados.

Uno de los países que toman como referencia el lineamiento anterior es Chile en su Norma Técnica N° 180 titulada “Buenas prácticas de laboratorio (BPL) para laboratorios de microbiología farmacéutica” (MINSAL, 2015).

Para el caso de los laboratorios de análisis de agua, la Asociación de Salud Pública Americana (APHA en sus siglas en inglés) (APHA, 2012) en sus lineamientos para el control de la calidad dentro del laboratorio recomienda el desarrollo de un programa de monitoreo ambiental para analizar la calidad del aire rutinariamente, al menos mensualmente o con mayor frecuencia dependiendo de si el área es muy utilizada o si el análisis de riesgo de biocontaminación recomienda la necesidad de un monitoreo más frecuente. Aconseja el uso de placas de sedimentación en los lugares donde se realicen trabajos que requieran de condiciones asépticas, el cual consiste en un método de muestreo pasivo donde las partículas se asientan sobre una superficie agarizada. En caso el análisis de riesgos indique una posible contaminación por aerosoles, es más adecuado el uso de muestreadores de aire activo. Indica también que el número de colonias en la placa de sedimentación no debe exceder 160/m²/15 min de exposición (15 colonias/placa/15 min, utilizando una placa estándar de 90 mm de diámetro).

2.7. IMPACTO DE LOS HONGOS AMBIENTALES EN LA SALUD

En los últimos años se ha incrementado el interés por los microorganismos que se transmiten por el aire, en diferentes ámbitos (sanitarios, urbanos, agrícolas, industriales). La causa se debe a la capacidad de estos microorganismos para producir efectos perjudiciales tanto en el medio ambiente como en la salud de las personas y de los animales, cuando se exponen a bioaerosoles (bacterias, virus, hongos, ácaros, polen, etc.) originados en el aire exterior o en recintos cerrados (De La Rosa *et al.*, 2002).

El término Síndrome del Edificio Enfermo (SEE) es comúnmente usado para los síntomas causados por deficiencias en la CAI, el cual fue reconocido como un problema importante en 1982 que afectaba a las personas dentro de algunos edificios (Cooley *et al.*, 1998). Estudios epidemiológicos han demostrado que la inhalación de las esporas de algunos hongos es la causa de los problemas respiratorios asociados al SEE y otras enfermedades ocupacionales bien conocidas de agricultores, vinateros, cerveceros y carpinteros (De La Rosa *et al.*, 2002).

Los hongos pueden afectar negativamente a la salud humana a través de tres procesos: alergias, infección y toxicidad (Jarvis, 2002; Fischer y Dott, 2003; Singh, 2005; Rey y Ceña, 2006). Al ser transportadas por el aire y debido a su pequeño tamaño, las esporas fúngicas pueden ser inhaladas e incluso, pueden depositarse en las superficies mucosas de las vías respiratorias superiores y en los ojos (Singh, 2005). En la **Tabla 16** se dan ejemplos de algunas afecciones causadas por hongos.

Tabla 16: Enfermedades fúngicas transmitidas por el aire.

Enfermedades	Hongos
Neumonías	<ul style="list-style-type: none">• <i>Pneumocystis carinii</i>
Micosis sistémicas	<ul style="list-style-type: none">• <i>Cryptococcus neoformans</i>• <i>Blastomyces dermatitidis</i>• <i>Histoplasma capsulatum</i>• <i>Coccidioides immitis</i>• <i>Aspergillus fumigatus</i>
Hipersensibilidad	<ul style="list-style-type: none">• <i>Alternaria</i>• <i>Aspergillus</i>• <i>Penicillium</i>• <i>Cladosporium</i>• <i>Botrytis</i>• <i>Puccinia</i>• <i>Serpula</i>• <i>Mucor</i>
Micotoxicosis	<ul style="list-style-type: none">• <i>Aspergillus</i>• <i>Fusarium</i>• <i>Stachybotrys</i>

FUENTE: De La Rosa et al. (2002).

Los metabolitos secundarios tóxicos están presentes en las esporas suspendidas en el aire, y por consiguiente también en el polvo en suspensión y en los bioaerosoles (Fischer y Dott, 2002). En la actualidad, aproximadamente entre 350–400 metabolitos fúngicos son considerados tóxicos y la mayoría de ellos son moléculas relativamente pequeñas mayores a 200 pero menores de 500 unidades de masa atómica (Sorenson, 2002). Entre los ejemplos de estos metabolitos secundarios se tienen las micotoxinas, los compuestos orgánicos volátiles (COV) y los (1→3)-β-D-glucanos.

Debido a que el organismo humano considera como exógenas a casi todas las proteínas y carbohidratos asociados a agentes infecciosos como los hongos ambientales, tanto las esporas fúngicas y los metabolitos secundarios de éstos pueden inducir la aparición de una respuesta inmunitaria. Estos inmunógenos pueden contener más de un antígeno, el cual es una molécula reconocida por anticuerpos específicos o por los linfocitos T en el organismo. Un tipo de anticuerpos son las inmunoglobulinas (Ig), que son proteínas estimuladas por antígenos dependientes de linfocitos T y provocan una respuesta inmunitaria de memoria o de refuerzo en el anfitrión (Murray et al., 2009).

Entre las principales formas de inmunoglobulinas se tiene IgM, IgD, IgG, IgE e IgA. La inmunoglobulina G actúa principalmente en el suero y los tejidos, además es el principal anticuerpo relacionado a la respuesta inmunitaria de memoria presentando una alta capacidad de unión de los antígenos. La inmunoglobulina A tiene como principal sitio de acción las secreciones corporales, ofreciendo principalmente protección de las mucosas. La inmunoglobulina E actúa en los mastocitos en la piel, las mucosas digestivas y en las vías aéreas como receptora de antígenos y alérgenos, estimulando la liberación de histamina, prostaglandina, factor de activación de plaquetas y diversas citocinas, siendo responsable de la hipersensibilidad anafiláctica o reacciones alérgicas de aparición rápida (Murray *et al.*, 2009).

Micotoxinas

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos de bajo peso molecular producidos por los hongos durante su crecimiento en plantas y en alimentos almacenados (Lacey y Dutkiewicz, 1994). Las esporas de algunas especies fúngicas tienen un gran contenido de micotoxinas, incluyendo tricotecenos, ocratoxinas, aflatoxinas y fumonisinas. Las especies micotoxigénicas más importantes pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Sorenson, 2002).

Entre las micotoxinas más importantes se encuentran las aflatoxinas, las cuales son carcinógenas, producidas por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. La ocratoxina A es producida por *Penicillium verrucosum* y *Aspergillus alutaceus* (*A. ochraceus*), mientras los tricotecenos son producidos por *Stachybotrys chartarum* (*S. atra*) y las fumonisinas por *Fusarium spp.* Entre otras especies productoras de micotoxinas se tiene a *Fusarium graminearum*, *F. sporotrichioides*, *F. moniliforme*, *Penicillium expansum*, *P. brevicompactum* y *Aspergillus versicolor* (Lacey y Dutckewitz, 1994). Muchas especies toxigénicas producen múltiples micotoxinas. Por ejemplo se ha visto que el complejo de hongos *P. verrucosum* (*P. verrucosum*, *P. aurantiogriseum*, *P. viridicatum*, *P. crustosum* y *P. solitum*) produce cerca de 20 diferentes micotoxinas (Sorenson, 2002).

Muchos de los hongos productores de micotoxinas se encuentran en el suelo, son contaminantes comunes de bienes agrícolas y se conoce que algunos hongos comunes encontrados en el polvo de los hogares también las producen, como por ejemplo algunas especies de *Alternaria*, *Paecilomyces*, *Rhizopus*, *Trichoderma* y *Trichothecium* (Sorenson, 2002). Las esporas de *A. flavus* y *A. parasiticus*, las cuales se dispersan en el aire cuando se manipulan cultivos afectados con estos hongos, pueden contener aflatoxinas en niveles de 84–200 µg/g. Hay evidencia fuerte que las aflatoxinas y otras micotoxinas (ej. ácido secalónico D) son aerotransportadas en grandes concentraciones en algunos ambientes de trabajo, como cuando se procesa el maní o el maíz y pueden ser suficientes para causar efectos tóxicos o carcinógenos (Verhoeff y Burge, 1997).

Varios estudios han vinculado la inhalación de micotoxinas a enfermedades en humanos (Sorenson, 2002). La gran mayoría de micotoxinas no son volátiles y por lo tanto es más probable que la exposición a ellas ocurra por la inhalación de las esporas fúngicas, teniendo un efecto en las vías respiratorias y produciendo síntomas (Verhoeff y Burge, 1997; Sorenson, 2002). También se ha observado que estas sustancias desregulan la función de los macrófagos *in vitro* e *in vivo*, así como también impide la función de los monocitos en la sangre (Day y Ellis, 2002).

La exposición respiratoria a las toxinas producidas por *Strachybotrys atra* (*S. chartarum*) ha sido un foco de atención con respecto a los síntomas no alérgicos. *S. atra* ha sido considerado como una causa de hem siderosis en infantes, el cual en algunos casos fue fatal. Se cree que los tricotecenos pueden tener un rol en el Síndrome del Edificio Enfermo, y que las ribotoxinas de *Aspergillus* tienen un rol en la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), debido a la detección de la inmunoglobulina E (IgE) específica en un 75 por ciento de los pacientes con esta afección (Verhoeff y Burge, 1997).

Compuestos orgánicos volátiles (COV)

Los hongos producen una variedad de sustancias volátiles como subproducto de su metabolismo durante su crecimiento y esporulación, las cuales son mezclas complejas de

alcoholes, aldehídos y cetonas, evidenciadas frecuentemente en el ambiente con el característico “olor a moho” (Wanner y Gravesen, 1993; Verhoeff y Burge, 1997; Day y Ellis, 2002). Existen variaciones considerables en la producción de COV, incluso entre géneros y especies relacionadas (Wanner y Gravesen, 1993). Entre los compuestos aislados se han identificado hexano, cloruro de metileno, benceno y acetona (Day y Ellis, 2002).

Se ha sugerido que estos compuestos pueden afectar a la salud humana, causando fatiga, dolor de cabeza e irritación de los ojos y las membranas mucosas de la nariz y la garganta (Wanner y Gravesen, 1993; Verhoeff y Burge, 1997; Fischer y Dott, 2002), e incluso llegar a ser toxinas sistémicas (Burge, 1990). Se ha demostrado experimentalmente que inducen la irritación de membranas mucosas y los síntomas asmáticos y además decrecen significativamente los valores FEVI (fracción de eyección del ventrículo izquierdo), lo que puede acarrear una insuficiencia cardiaca. Además han sido implicados en la etiología del SEE (Day y Ellis, 2002).

(1→3)-β-D-glucanos

Los (1→3)-β-D-glucanos son polímeros de glucosa compuesto principalmente de cadenas de aros de glucopiranosil unidas por enlaces β-(1→3) con cadenas laterales de β-(1→3) en varios grados. Se piensa que existen como estructuras triple hélice estables bajo condiciones fisiológicas, con tres polímeros de glucosa fijas muy próximas entre sí por enlaces intramoleculares de hidrógeno en una estructura similar a una varilla rígida helicoidal. Numerosos investigadores han demostrado las actividades inmunomoduladoras de los (1→3)-β-D-glucanos (Sorenson, 2002). Las paredes celulares de la mayoría de los hongos contienen este polímero, el cual se ha identificado como un agente inflamatorio que puede actuar como adyuvante. Se ha sugerido que los glucanos son un factor causante de la irritación de membranas mucosas, tos seca y comezón en la piel, que han sido reportados por ocupantes de edificios donde también se han presentado quejas sobre CAI (Verhoeff y Burge, 1997).

A pesar que se han reconocido a las esporas fúngicas presentes tanto al interior como al exterior como causantes de alergias respiratorias, hay pocos estudios que muestran cuáles hongos están asociados con los problemas de CAI (Cooley *et al.*, 1998). La presencia de los hongos en edificios enfermos ha sido frecuentemente asociada con la aparición de síntomas relacionados a la CAI. La contaminación fúngica en ambientes interiores ha producido alergias en sus ocupantes (Cooley *et al.*, 1998; Singh, 2005). Además, tampoco se conoce en qué medida los microorganismos o sus componentes están implicados en la aparición de enfermedades asociadas a los edificios (Flannigan, 1998).

2.7.1. INFECCIONES FÚNGICAS O MICOSIS

a. Patógenos fúngicos primarios

Los patógenos primarios, también conocidos como patógenos primarios sistémicos son capaces de iniciar una infección en un anfitrión normal aparentemente inmunocompetente (Singh, 2005; Murray *et al.*, 2009) y tienden a afectar las vísceras profundas del huésped tras la diseminación del hongo desde los pulmones debido a su inhalación a partir de un foco ambiental. La gran mayoría de ellos son patógenos micóticos dimórficos debido a que se desarrollan en forma filamentosa en la naturaleza o en el laboratorio a una temperatura comprendida entre 25°C y 30°C, y en forma de levadura o esférula en tejido o cuando crecen en un medio enriquecido en el laboratorio a 37°C (Murray *et al.*, 2009). Esta capacidad de desarrollarse en formas morfológicas alternativas (dimorfismo) representa una de las características especiales (factores de virulencia) que permiten a estos hongos superar las condiciones ambientales hostiles imperantes en el anfitrión.

Entre estos patógenos micóticos dimórficos se tiene como ejemplo a *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Coccidioides posadasii*, *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis* y *Penicillium marneffeii*. Estos microorganismos también se definen como patógenos endémicos, ya que su hábitat natural se restringe a ciertas regiones geográficas y la infección ocasionada por un hongo particular se adquiere por la inhalación de esporas pertenecientes a ese entorno y localización geográfica específicos (Murray *et*

al., 2009). Sin embargo, los patógenos fúngicos primarios rara vez se encuentran presentes de forma abundante en el aire interior (Flannigan, 1998).

Blastomycosis

La blastomycosis es una micosis sistémica producida por el patógeno dimórfico *Blastomyces dermatitidis*. Al ser una micosis endémica, casi todas las infecciones se originan en la cuenca del río Mississippi, alrededor de los Grandes Lagos, y en el sureste de EE.UU. Asimismo, se han diagnosticado algunos casos en otras regiones del mundo como África, Europa y Oriente Medio. Se estima que se producen entre uno y dos casos de blastomycosis sintomática por 100000 habitantes/año en las zonas endémicas (Murray *et al.*, 2009).

El nicho ecológico de *B. dermatitidis* parece localizarse en la materia orgánica en descomposición. Los estudios realizados en el ser humano y los animales indican que la infección se adquiere como consecuencia de la inhalación de conidios transportados por el aire, producidos por el hongo en fase de proliferación en el suelo y la materia en descomposición.

La vía habitual de infección de la blastomycosis es la inhalación de conidios. Como sucede en la mayoría de las micosis endémicas, la gravedad de los síntomas y la evolución de la enfermedad dependen del grado de exposición y el estado inmunitario de la persona expuesta. Tras la inhalación de conidios o fragmentos de hifas de *B. dermatitidis*, estos elementos de la fase saprófita del hongo pueden entrar en contacto con la capa epitelial del alveolo y adherirse a ella para después transformarse en la fase de levadura parásita mediante un proceso conocido como displasia térmica, convirtiendo los conidios (2-10 μm de diámetro) en una levadura de mayor tamaño (8-30 μm de diámetro).

De acuerdo con los datos procedentes de brotes de blastomycosis, la enfermedad sintomática parece darse en una proporción inferior al 50 por ciento de los sujetos infectados. La enfermedad clínica causada por *B. dermatitidis* puede cursar con una

enfermedad pulmonar o una forma diseminada extrapulmonar. Dos terceras partes de los pacientes afectados por la diseminación extrapulmonar presentan afectación cutánea y ósea. Otras localizaciones de diseminación hematógica son la próstata, el hígado, el bazo, el riñón y el sistema nervioso central (Murray *et al.*, 2009).

Coccidioidomicosis

La coccidioidomicosis es una micosis endémica de los estados desérticos del sureste de EE.UU., el norte de México y algunas áreas dispersas de América Central y del Sur. Es causada por una de dos especies indistinguibles, *Coccidioides immitis* y *Coccidioides posadasii*. Las dos especies se diferencian por su distribución geográfica y su genotipo. *C. immitis* se localiza en el estado de California (EE.UU.), mientras que *C. posadasii* es responsable de casi todos los casos registrados fuera de ese estado (Murray *et al.*, 2009).

C. immitis se encuentra en el suelo, y la presencia de excrementos de murciélago y roedores favorece su proliferación. La exposición a los artroconidios infecciosos es más intensa a finales del verano y durante el otoño, épocas en las que prevalecen condiciones de polvo. Los ciclos de sequía y precipitaciones potencian la dispersión del microorganismo, ya que la lluvia intensa facilita el desarrollo del hongo en el suelo rico en residuos de nitrógeno y la posterior sequía y vientos favorecen la formación de partículas portadoras de artroconidios.

La fase saprobia de *C. immitis* y *C. posadasii* se compone de hifas filamentosas tabicadas que en su madurez se fragmentan en artroconidios cilíndricos separados entre sí por células de separación vacías. Estos artroconidios son muy hidrofóbicos y originan partículas transportadas fácilmente transportadas por el aire. Su tamaño ($3-5 \times 2-4 \mu\text{m}$) es lo suficientemente pequeño para pasar a una porción profunda de las vías respiratorias, con frecuencia hasta los alveolos.

Las tasas de infección en las zonas de endemidad oscilan entre un 16 y un 42 por ciento hacia el comienzo de la edad adulta. La incidencia de la enfermedad se aproxima a 15

casos por 100000 habitantes/año en el área de endemicidad, afectando en mayor proporción a mayores de 65 años (aprox. 36 por cada 100000 hab./año) y a personas infectadas por el VIH (aprox. 20 por 100000 hab./año) (Murray *et al.*, 2009).

C. immitis quizás constituya el patógeno micótico más virulento en el ser humano. La inhalación de un pequeño número de artroconidios produce una coccidioidomicosis primaria, la cual puede consistir en una enfermedad pulmonar asintomática (alrededor de 60 por ciento de pacientes) o un proceso seudogripal de resolución espontánea que se caracteriza por la presencia de fiebre, tos, dolor torácico y adelgazamiento.

En los pacientes con sintomatología durante seis semanas o más, la enfermedad evoluciona hacia una coccidioidomicosis secundaria con nódulos, enfermedad cavitaria o enfermedad pulmonar progresiva (5 por ciento de los casos), la diseminación uni o multisistémica tiene lugar en un 1 por ciento de esta población. Como localizaciones extrapulmonares de la infección se han descrito la piel, los tejidos blandos, los huesos, las articulaciones y las meninges (Murray *et al.*, 2009).

Histoplasmosis

La histoplasmosis se debe a la infección por dos variedades de *Histoplasma capsulatum*: *H. capsulatum* var. *capsulatum* y *H. capsulatum* var. *duboisii*. La histoplasmosis producida por la variedad *capsulatum* se localiza en las extensas regiones de los valles de los ríos Ohio y Mississippi en EE.UU., en México y en América Central y del Sur. La histoplasmosis debida a la variedad *duboisii*, o histoplasmosis africana, se distribuye en las zonas tropicales de África (como Gabón, Uganda y Kenia).

El hábitat natural de la forma micelial de ambas variedades de *H. capsulatum* es el suelo con un elevado contenido en nitrógeno, como el existente en áreas contaminadas por excrementos de ave o murciélago. Los brotes de histoplasmosis se han asociado a la exposición a perchas de aves, cuevas, edificios deteriorados y proyectos de renovación urbana con actividades de excavación y demolición. Se cree que los brotes son

consecuencia de la formación de partículas aerosolizadas portadoras de macroconidios y fragmentos miceliales a partir del suelo alterado y de su posterior inhalación por parte de los sujetos expuestos.

La vía habitual de infección por ambas variedades de *Histoplasma* consiste en la inhalación de macroconidios, los cuales germinan para dar lugar a levaduras en el interior del pulmón, donde pueden permanecer localizadas o bien diseminarse por vía hematológica o linfática (Murray *et al.*, 2009).

La presentación clínica de la histoplasmosis producida por *H. capsulatum var. capsulatum* depende de la intensidad de la exposición y el estado inmunológico del organismo anfitrión. Un 90 por ciento de los sujetos sometidos a una exposición leve presenta una infección asintomática. Sin embargo, la mayor parte de las personas muestra síntomas tras su exposición a un inóculo de gran tamaño. La forma de resolución espontánea de la histoplasmosis pulmonar aguda se caracteriza por un proceso seudogripal con fiebre, escalofríos, cefalea, tos, mialgia y dolor torácico.

La histoplasmosis pulmonar progresiva puede seguir a la infección aguda en aproximadamente uno a 100000 casos/año. Los síntomas pulmonares crónicos se asocian a la presencia de cavidades apicales y fibrosis, y son más probables en los pacientes con una enfermedad pulmonar subyacente. Por lo general, estas lesiones no remiten de forma espontánea y la persistencia del microorganismo provoca un proceso progresivo de destrucción y fibrosis desencadenado por la respuesta inmunitaria del anfitrión.

La histoplasmosis diseminada sigue a la infección aguda en uno de 2000 adultos y es notablemente más frecuente en los niños y los inmunodeprimidos. La enfermedad diseminada puede adquirir una evolución crónica, subaguda o aguda. La histoplasmosis crónica diseminada y subaguda diseminada se caracterizan por el adelgazamiento y la fatiga, acompañada o no de fiebre. Es frecuente la presencia de úlceras bucales y hepatoesplenomegalia. Sin embargo en la subaguda diseminada, la afectación de la médula ósea puede producir anemia, leucopenia y trombocitopenia, además se ven afectadas las

glándulas adrenales, las válvulas cardíacas y el sistema nervioso central. En ausencia de tratamiento, la histoplasmosis subaguda provoca la muerte del paciente en un plazo de dos a veinticuatro meses.

La histoplasmosis diseminada aguda es un proceso fulminante que afecta con una frecuencia mayor a los sujetos con una acusada inmunodepresión, como los aquejados de SIDA, los receptores de un trasplante de órganos y los tratados con esteroides u otros fármacos inmunodepresores. Puede cursar con un cuadro semejante al del shock septicémico, con fiebre, hipotensión, infiltrados pulmonares y disnea aguda. El paciente puede presentar, igualmente úlceras y hemorragias bucales y gastrointestinales, insuficiencia adrenal, meningitis o endocarditis. En ausencia de tratamiento, la histoplasmosis diseminada aguda provoca la muerte en unos días o semanas (Murray *et al.*, 2009).

A diferencia de lo que se observa en la histoplasmosis clásica, las lesiones pulmonares son infrecuentes en la histoplasmosis africana, causada por *H. capsulatum var. duboisii*. La forma localizada de histoplasmosis por esta variedad representa un proceso crónico caracterizado por una linfadenopatía regional con lesiones cutáneas y óseas (Murray *et al.*, 2009).

Paracoccidioidomicosis

La paracoccidioidomicosis es una enfermedad endémica en Latinoamérica y representa la principal micosis producida por un hongo patógeno dimórfico en esta región, aunque es más prevalente en Sudamérica que en Centroamérica. Se le conoce también como blastomicosis sudamericana. La incidencia más alta corresponde a Brasil, seguida de Colombia, Venezuela, Ecuador y Argentina. La ecología de las zonas endémicas incluye una humedad elevada, una vegetación exuberante, temperaturas moderadas y suelo ácido, condiciones características alrededor de los ríos de la selva amazónica y en pequeños bosques autóctonos de Uruguay.

La infección es causada por *Paracoccidioides brasiliensis* mediante la inhalación de sus conidios al interior de los pulmones, después de lo cual el hongo puede diseminarse por vía hematológica o linfática a prácticamente cualquier área del organismo. Una característica exclusiva de la paracoccidioidomicosis en comparación con las otras micosis endémicas es que las infecciones pulmonares primarias que posteriormente se diseminan suelen cursar con lesiones mucosas de la boca, la nariz y, en algunos casos, el tubo digestivo.

La enfermedad sintomática es poco frecuente en niños y adolescentes. En los adultos, esta se observa más a menudo en hombres de edades comprendidas entre 30 y 50 años. La mayoría de los pacientes aquejados de enfermedad con manifestaciones clínicas reside en zonas rurales y tiene un contacto directo con el suelo (Murray *et al.*, 2009).

La paracoccidioidomicosis puede ser subclínica o progresiva con formas pulmonares agudas o crónicas o bien formas diseminadas agudas, subagudas o crónicas de la enfermedad. La mayor parte de las infecciones primarias remite espontáneamente; no obstante, el microorganismo puede persistir en estado de latencia durante periodos prolongados y reactivarse posteriormente para provocar la enfermedad con la alteración de las defensas inmunitarias.

En sujetos jóvenes y en inmunodeprimidos se observa una forma diseminada subaguda, donde el patógeno se disemina a través de la sangre y da lugar a abundantes lesiones cutáneas. Esta forma de la enfermedad no se asocia a lesiones pulmonares y mucosas.

La forma pulmonar crónica se caracteriza por la presencia de problemas respiratorios, los cuales constituyen con frecuencia la única manifestación de la infección. La enfermedad evoluciona lentamente a lo largo de meses o años con una tos persistente, esputo purulento, dolor torácico, adelgazamiento, disnea y fiebre. Las lesiones pulmonares son nodulares, infiltrantes, fibróticas y cavitarias.

A pesar de que un 25 por ciento de los afectados presenta solamente manifestaciones pulmonares de la enfermedad, la infección puede diseminarse a localizaciones

extrapulmonares en ausencia de diagnóstico y tratamiento, como la piel, las mucosas, los ganglios linfáticos, las glándulas adrenales, el hígado, el bazo, el sistema nervioso central y los huesos (Murray *et al.*, 2009).

Peniciliosis por *P. marneffe*

La peniciliosis es una micosis producida por el hongo dimórfico *Penicillium marneffe* y se registra principalmente en personas infectadas por el VIH en Tailandia y el sur de China, constituyendo actualmente un indicador precoz de la infección por VIH en esa zona geográfica. A pesar de que la infección se ha descrito también en sujetos inmunocompetentes, la gran mayoría de los casos referidos desde 1987 se ha dado en pacientes con SIDA u otros individuos inmunodeprimidos que residían, o habían visitado las zonas endémicas.

La peniciliosis por *P. marneffe* se debe a la inhalación de conidios de *P. marneffe* presentes en el medio ambiente por parte de un sujeto susceptible y el desarrollo de la infección diseminada. Esta infección afecta al sistema fagocítico mononuclear. La infección puede remedar la tuberculosis, la leishmaniasis, y otras infecciones oportunistas relacionadas con el SIDA, como la histoplasmosis y la criptococosis. Los pacientes presentan fiebre, tos, infiltrados pulmonares, linfadenopatía, organomegalia, anemia, leucopenia y trombocitopenia (Murray *et al.*, 2009).

b. Patógenos fúngicos oportunistas

En la mayoría de los casos, estos patógenos fúngicos pueden desarrollarse como colonizadores benignos o bien en forma de saprófitos ambientales que no suelen afectar a los individuos sanos inmunocompetentes, los cuales se ven expuestos constantemente a las formas infecciosas de varios de estos hongos presentes en la flora comensal normal (endógenos) o en su entorno natural (exógenos). Normalmente, las personas respiran entre 100-200 esporas por día, que potencialmente pueden colonizar individuos susceptibles como pacientes con inmunosupresión (Singh, 2005).

Los patógenos fúngicos oportunistas únicamente causan una infección grave en individuos con alteraciones en las barreras protectoras de la piel y las membranas mucosas o bien deficiencias del sistema inmunitario que les permiten atravesarlas y colonizar y reproducirse en el anfitrión (Fischer y Dott, 2003; Murray *et al.*, 2009). La diferencia en el potencial patógeno de estos microorganismos también puede deberse a ciertos factores asociados a ellos, considerados “factores de virulencia” que participan del proceso del desarrollo de las enfermedades (Murray *et al.*, 2009). Generalmente, los hongos de interés en el ambiente y la higiene ocupacional son en su mayoría especies no patógenas o patógenas oportunistas (Flannigan, 1998).

Los agentes mejor conocidos que son causantes de las micosis oportunistas son *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* y *Aspergillus fumigatus*. La incidencia anual estimada de micosis invasivas por estos tres patógenos en los EE.UU. comprende entre 72 y 290 infecciones por millón de personas en el caso de *Candida*, 30 a 66 por millón en el de *C. neoformans*, y 12 a 34 por millón en el de *Aspergillus*. Junto a estos hongos, el listado cada vez más amplio de otros hongos patógenos reviste una importancia en aumento, encontrándose otras especies de *Candida* y *Aspergillus*, cigomicetos u hongos filamentosos hialinos como *Fusarium*, *Acremonium*, *Scedosporium*, *Scopulariopsis*, *Paecilomyces* y *Trichoderma* y diversos hongos dematiáceos (Murray *et al.*, 2009). Anteriormente se creía que muchos de estos hongos no eran patógenos, pero en la actualidad se ha reconocido su capacidad de producir micosis invasivas en pacientes inmunodeprimidos.

Candidiasis

Las especies pertenecientes al género *Cándida* representan los patógenos fúngicos oportunistas más frecuentes. Las especies incluidas en este género constituyen la cuarta causa más frecuente de infecciones nosocomiales septicémicas (adquiridas en el hospital), superando a cualquier patógeno gramnegativo individual. Sólo un pequeño grupo se ha implicado en infecciones clínicas con mayor frecuencia: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*.

Las especies del género *Cándida* colonizan el ser humano y otros animales de sangre caliente, por lo que se encuentran tanto en las personas como en los ambientes naturales. El lugar primario de colonización es el tubo digestivo desde la cavidad bucal hasta el recto. También se desarrollan como comensales en la vagina y la uretra, la piel y bajo las uñas del pie y la mano. Se ha detectado la presencia de *C. albicans*, el principal agente etiológico de enfermedad en el ser humano, en el aire, el agua y el suelo, además del humano y los animales (Murray *et al.*, 2009).

Entre las características del microorganismo que podrían contribuir a su potencial patógeno se encuentran la capacidad de adhesión a tejidos, el dimorfismo levadura-micelio, la hidrofobicidad de su superficie celular, la secreción de proteinasas, y el cambio de fenotipo (Murray *et al.*, 2009).

La mayoría de los tipos de candidiasis representa una infección endógena en la que la microflora comensal aprovecha la oportunidad para producir una infección, para ello debe existir alguna deficiencia en las barreras del anfitrión. El espectro de infecciones abarca desde la enfermedad mucosa y cutánea superficial hasta la diseminación hematológica extensa con afectación de órganos diana como el hígado, el bazo, el riñón, el corazón y el cerebro. En este último caso, la mortalidad atribuible de forma directa al proceso infeccioso se acerca a un 50 por ciento (Murray *et al.*, 2009). En el caso de las infecciones cutáneas, éstas suelen localizarse en zonas en las que la superficie cutánea está obstruida y húmeda (ej. ingle, axilas, espacios interdigitales de los pies, pliegues mamarios).

Criptococosis

La criptococosis es una micosis sistémica causada por el Basidiomiceto levaduriforme encapsulado *Cryptococcus neoformans*. El hongo presenta una distribución mundial y se desarrolla como saprofito ubicuo del suelo, en especial de aquel enriquecido con excrementos de paloma. *C. neoformans* tiene capacidad patógena en las personas inmunocompetentes, aunque actúa más a menudo como un patógeno oportunista.

Constituye la causa más frecuente de meningitis micótica y tiende a afectar a pacientes con una inmunidad celular deficiente.

En general, la criptococosis se adquiere por inhalación de células de *C. neoformans* transportadas por el aire a partir de focos ambientales. La posterior diseminación desde los pulmones, habitualmente al sistema nervioso central, produce una enfermedad clínica en los sujetos susceptibles. La criptococosis cutánea primaria se debe a la inoculación transcutánea del patógeno, aunque es poco frecuente (Murray *et al.*, 2009).

Se distinguen cuatro serotipos (A, B, C y D) y tres variedades de *C. neoformans*: *C. neoformans* var. *grubii* (serotipo A), *C. neoformans* var. *neoformans* (serotipo D) y *C. neoformans* var. *gatii* (serotipos B y C). Las variedades *neoformans* y *grubii* tienen una distribución universal relacionada con suelo contaminado por excrementos de ave, mientras que *C. neoformans* var. *gatii* se encuentra en climas tropicales y subtropicales en asociación con árboles del género *Eucalyptus*. Las tres variedades causan una enfermedad semejante, aunque las infecciones por la variedad *gatii* tienden a afectar a sujetos inmunocompetentes y se asocian a una mortalidad más baja, si bien sus secuelas neurológicas son más graves debido a la formación de granulomas en el sistema nervioso central (Murray *et al.*, 2009).

Aspergilosis

Las especies del género *Aspergillus* son frecuentes en todo el mundo. Son saprobios ubicuos en la naturaleza y pueden subsistir en el suelo, las plantas en maceta, la vegetación en descomposición, y las obras de construcción (Murray *et al.*, 2009).

La aspergilosis engloba un amplio abanico de enfermedades causadas por especies pertenecientes al género *Aspergillus*. La inhalación de conidios de *Aspergillus* por el ser humano no suele producir manifestaciones clínicas, sin embargo puede provocar reacciones alérgicas en los sujetos hipersensibilizados, como la aspergilosis broncopulmonar alérgica, la rinitis alérgica, la sinusitis alérgica y la alveolitis alérgica

extrínseca (Pontón y Cabañes, 2000) o bien una destructiva enfermedad pulmonar invasiva o diseminada en personas muy inmunodeprimidas.

La vía primaria de infección en la aspergilosis es la inhalación de conidios transportados por el aire (2.3 a 3 μm) lo cual afecta principalmente a los senos paranasales y las vías respiratorias inferiores, siendo en los pulmones donde se asienta la enfermedad con mayor frecuencia, aunque, según Murray *et al.* (2009), el tubo digestivo también constituye la vía de entrada más frecuente y relevante. También pueden invadir el oído externo y la piel traumatizada. En las personas inmunocompetentes pueden actuar como un potente alérgeno o colonizar bronquios o cavidades preexistentes (aspergiloma), donde luego se desarrollan (Labarrere *et al.*, 2003; Murray *et al.*, 2009). Esto es particularmente preocupante en el ambiente hospitalario, donde los niveles altos de conidios asociados con obras de remodelación o con conducciones de aire contaminadas, se han asociado con la aparición de brotes de aspergilosis nosocomial (Pontón y Cabañes, 2000).

Se han descrito alrededor de 19 especies de *Aspergillus* capaces de producir infección en el ser humano, si bien la mayor parte de las infecciones se debe a *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus* (Murray *et al.*, 2009). *A. nidulans* (*Emericella nidulans*) también se ha considerado responsable de infecciones invasivas (Abarca, 2001; Pontón *et al.*, 2002; Labarrere *et al.*, 2003). De forma mucho más esporádica, se han citado también otras especies como *A. candidus*, *A. clavatus*, *A. restrictus*, *A. sydowii* y *A. ustus* entre otras (Abarca, 2001).

La gran mayoría de los asmáticos muestran evidencias de sensibilización a especies de *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*. El *A. niger* ha sido reportado como causante de infecciones en la piel y pulmonares, y es una causa común de infecciones fúngicas en los ojos y oídos. El *A. terreus* está asociado con aspergilosis en los pulmones y aspergilosis diseminada, y también ha sido encontrado en otomicosis, en infecciones en los ojos y en las uñas de los dedos (Labarrere *et al.*, 2003).

Las formas de aspergilosis invasiva cubren un espectro que comprende desde una enfermedad invasiva superficial en un paciente con inmunosupresión leve (ej. tratamiento con esteroides a dosis bajas, enfermedad vascular del colágeno o diabetes) a una forma destructiva de aspergilosis pulmonar con invasión local. La aspergilosis pulmonar invasiva (API) y la aspergilosis diseminada son dos infecciones devastadoras que afectan a pacientes neutropénicos (bajo número de neutrófilos) e inmunodeprimidos. Los pacientes presentan fiebre e infiltrados pulmonares que, con frecuencia, se acompañan de dolor torácico pleurítico y hemoptisis. A pesar de la administración de un tratamiento antifúngico específico, la mortalidad de esta infección es notablemente alta y suele superar el 70 por ciento (Pontón y Cabañes, 2000; Murray *et al.*, 2009, Labarrere *et al.*, 2003). La diseminación hematológica de la infección a localizaciones extrapulmonares es frecuente como consecuencia de la naturaleza angioinvasiva del hongo. Los lugares afectados con mayor frecuencia son el cerebro el corazón, los riñones, el tubo digestivo, el hígado y el bazo (Murray *et al.*, 2009).

La aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA) es una enfermedad pulmonar que es causada por *A. fumigatus* al colonizar las vías respiratorias inferiores. Las esporas son inhaladas y retenidas en el tracto respiratorio, donde se desarrollan. Posteriormente germinan para formar el micelio y producen la liberación continua de antígenos y micotoxinas al interior de las vías respiratorias, lo que puede derivar en el daño de las paredes bronquiales y en el tejido pulmonar circundante (Day y Ellis, 2002; Labarrere *et al.*, 2003).

Las manifestaciones alérgicas de la aspergilosis conforman un espectro de presentaciones basadas en el grado de hipersensibilidad a los antígenos de *Aspergillus*. En la forma broncopulmonar pueden aparecer asma, infiltrados pulmonares, eosinofilia periférica, elevación de las concentraciones séricas de inmunoglobulina E e indicios de hipersensibilidad a los antígenos de *Aspergillus* (prueba cutánea) (Day y Ellis, 2002; Murray *et al.*, 2009). En la sinusitis alérgica, los indicios analíticos de hipersensibilidad se acompañan de síntomas en las vías respiratorias superiores de obstrucción nasal, rinorrea, cefaleas y dolor facial (Murray *et al.*, 2009).

Cigomicosis

El término cigomicosis se refiere a un conjunto de entidades producidas por hongos pertenecientes a la clase de los Zygomycetos. Los principales patógenos humanos de esta clase se incluyen en dos órdenes: los Mucorales y los Entomophthorales. Dentro del orden Mucorales, se tienen géneros patógenos como *Rhizopus* y *Mucor*. Las infecciones por cigomicetos son infrecuentes y su incidencia es de 1.7 infecciones por millón de personas en EE.UU. Por desgracia, cuando se producen, las infecciones por estos patógenos suelen ser agudas y de progresión rápida, y las tasas de mortalidad oscilan entre un 70 y un 100 por ciento (Murray *et al.*, 2009).

La cigomicosis es una enfermedad esporádica de distribución universal. *Rhizopus arrhizus* es la causa más frecuente de cigomicosis en el ser humano y suele producirse en pacientes inmunodeprimidos. Los microorganismos son ubicuos en el suelo y la vegetación en proceso de descomposición, y la infección se adquiere por inhalación, ingestión o contaminación de heridas por esporangiosporas presentes en el entorno. La diseminación nosocomial de los cigomicetos puede tener lugar a través de sistemas de aire acondicionado, en especial durante el proceso de construcción (Murray *et al.*, 2009).

Se distinguen varias formas clínicas de cigomicosis producida por hongos pertenecientes al orden Mucorales. La cigomicosis rinocerebral es una infección invasiva aguda de la cavidad nasal, los senos paranasales y las órbitas que afecta a las estructuras faciales y se disemina hacia el sistema nervioso central con afectación de las meninges y el cerebro (Labarrere *et al.*, 2003; Murray *et al.*, 2009). En la cigomicosis pulmonar se presentan lesiones pulmonares de tipo infarto como consecuencia de la invasión por las hifas y posterior trombosis de los grandes vasos pulmonares. La cigomicosis cutánea se desarrolla como consecuencia de un traumatismo, la aplicación de vendajes quirúrgicos o la colonización de quemaduras. La infección puede ser superficial o bien extenderse con rapidez hacia los tejidos subcutáneos (Murray *et al.*, 2009).

Hialohifomicosis

Los hialohifomicetos u hongos miceliales hialinos (hongos no pigmentados) producen las hialohifomicosis. Entre los géneros involucrados se encuentran *Fusarium*, *Trichoderma* y *Paecilomyces*. Estos microorganismos tienden a producir infecciones en pacientes neutropénicos, suelen aparecer diseminados en la naturaleza y son casi siempre mortales en ausencia de reconstitución inmunitaria. Aunque estas infecciones son relativamente infrecuentes, su incidencia parece ser cada vez mayor. Se cree que la mayor parte de las infecciones diseminadas se adquiere como consecuencia de la inhalación de esporas o bien por la progresión de lesiones cutáneas localizadas.

Las especies incluidas en el género *Fusarium* constituyen una causa cada vez más frecuente de infección diseminada en los sujetos inmunodeprimidos. *Fusarium* es también una importante causa de queratitis por hongos, sobre todo en usuarios de lentes de contacto y también está involucrado en infecciones de la piel y las uñas (Labarrere *et al.*, 2003). Las especies aisladas más a menudo a partir de muestras clínicas son *F. moniliforme*, *F. solani* y *F. oxysporum* (Murray *et al.*, 2009).

Aunque de forma infrecuente, las especies del género *Paecilomyces* pueden originar una enfermedad invasiva en receptores de un trasplante de órgano sólido y progenitores hematopoyéticos, sujetos con SIDA y otros inmunodeprimidos (Summerbell, 2002). A menudo, la vía de entrada corresponde a grietas cutáneas o catéteres intravasculares; es frecuente la diseminación de la infección, la cual podría verse favorecida por la conidiación adventicia. Las dos especies más frecuentes son *Paecilomyces lilacinus* y *Paecilomyces variotii*.

Las especies pertenecientes al género *Trichoderma* constituyen un buen ejemplo de un hongo catalogado previamente como no patógeno que se ha convertido en un destacado patógeno oportunista en sujetos inmunodeprimidos y pacientes sometidos a diálisis peritoneal (Murray *et al.*, 2009).

Feohifomicosis

La feohifomicosis se define como una infección tisular producida por hongos miceliales dematiáceos (pigmentados), levaduras o ambos. Las infecciones por hongos dematiáceos constituyen un grupo significativo de micosis oportunistas de relevancia cada vez mayor y pueden adoptar la forma de enfermedad diseminada o bien localizarse en el pulmón, los senos paranasales o el sistema nervioso central. Entre los géneros capaces de infectar al ser humano se encuentran *Alternaria*, *Cladosporium* y *Curvularia* (Murray *et al.*, 2009).

Las especies pertenecientes al género *Alternaria* son una causa destacada de sinusitis paranasal tanto en sujetos sanos como en inmunodeprimidos. Otras localizaciones de la infección son la piel y los tejidos blandos, la córnea, las vías respiratorias inferiores y el peritoneo. *Alternaria alternata* es el patógeno de este género mejor conocido en el ser humano.

Las especies incluidas en el género *Cladosporium* suelen originar infecciones cutáneas superficiales, aunque también pueden causar infecciones profundas. Pueden intervenir en ciertos procesos micóticos pulmonares, producir cromoblastomicosis en climas cálidos y lesiones neurotrópicas (Mediavilla *et al.*, 1998; Pontón *et al.*, 2002).

Los hongos del género *Curvularia* son ubicuos en el suelo y se han implicado en infecciones diseminadas y locales. La infección se puede localizar en el endocardio, el punto de introducción de un catéter, el tabique nasal y los senos paranasales, las vías respiratorias inferiores, la piel y los tejidos subcutáneos, los huesos y la córnea. Algunas especies que con frecuencia producen infección en el ser humano son *C. geniculata*, *C. lunata*, *C. pallescens* y *C. senegalensis*.

2.7.2. ALERGIAS

Una alergia puede definirse como la respuesta adversa a un antígeno específico mediada por una reacción inmunológica. Puede tomar diversas formas, pero la manifestación clínica más común de una reacción alérgica a los hongos está mediada por la inmunoglobulina E (IgE), representada en los síntomas de la rinitis, conjuntivitis y asma bronquial, las cuales son las enfermedades más frecuentes (Flannigan, 1998; Bartra, 2003; Day y Ellis, 2002).

Los hongos, tanto las esporas fúngicas como las levaduras, constituyen una importante fuente de alérgenos en el desarrollo de la patología alérgica. Un gran número de hongos han sido identificados en la literatura médica que están implicados en enfermedades alérgicas. Entre ellos con mayor frecuencia se encuentran los hongos anamorfos, incluyendo especies de los géneros *Alternaria*, *Cladosporium* y *Aspergillus*, así como *Candida albicans*, *Penicillium spp.*, *Stachybotrys spp.* y miembros de los Basidiomicetos, Zygomycetos y Ascomycetos (Horner *et al.*, 1995; Latgé, 1999; Day y Ellis, 2002).

Estas esporas son causantes de reacciones de hipersensibilidad que puede ser: inmediata o alergia tipo I que afecta al aparato respiratorio superior causando irritación de ojos, rinitis y asma, síntomas que aparecen minutos después de la exposición, producida por partículas de 30 μm como las esporas de *Puccinia*, *Alternaria* y *Cladosporium* y retardada o alergia de tipo III, que ocurre entre cuatro a ocho horas luego de la exposición y que afecta al aparato respiratorio inferior produciendo alveolitis y neumonitis, debido a partículas menores de 5 μm , principalmente esporas de *Aspergillus* y *Penicillium* (Wanner y Gravesen, 1993; De La Rosa *et al.*, 2002; Singh 2005; Jarvis y Miller, 2005). En la **Tabla 17** se muestran algunos de los hongos presentes en el aire interior citados con mayor frecuencia como causa de rinitis y asma.

Tabla 17: Ejemplos de tipos de hongos en el aire interior que pueden causar rinitis o asma.

<i>Alternaria</i>	<i>Penicillium</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>Rhizopus</i>
<i>Cladosporium</i>	<i>Rhodotorula/Sporobolomyces</i>
<i>Eurotium</i>	<i>Serpula</i>
<i>Fusarium</i>	<i>Stachybotrys</i>
<i>Geotrichum</i>	<i>Stemphylium/Ulocladium</i>
<i>Mucor</i>	<i>Wallemia</i>

FUENTE: Flannigan (1998).

Los hongos de interior tienen un papel protagonista en el desarrollo de alergia puesto que un hábitat con unas características determinadas puede favorecer la presencia de esporas fúngicas en una elevada concentración (superior a la atmosférica) que inducen una sensibilización (Bartra, 2003). Vivir o trabajar en edificios que presentan humedades, puede aumentar el riesgo de sufrir alergias (Bornehag *et al.*, 2001), debido a que los hongos crecen en superficies húmedas en forma de placas de moho (Flannigan, 1998).

Los pacientes alérgicos con frecuencia muestran reacciones positivas múltiples a diferentes extractos fúngicos. Sin embargo, aun no se tiene claro si estos pacientes poseen sensibilidad independiente a cada hongo o si son sensibles a las reacciones cruzadas de alérgenos producidos por varios hongos a la vez (Verhoeff y Burge, 1997).

a. Rinitis

La rinitis se presenta como una irritación o inflamación de la membrana mucosa en la nariz que conlleva descargas, estornudos y congestión nasal. Las esporas fúngicas son una causa importante de alergias debido a su amplia distribución, debido a que estas partículas son mucho más pequeñas que el polen y son fácilmente inhaladas y absorbidas. Esta enfermedad puede ser alérgica y no alérgica. La rinitis alérgica causada por hongos puede

ser estacional, como la causada por especies de ambientes exteriores, y perenne, causada por hongos de ambientes interiores y algunas especies de hongos de exteriores (Day y Ellis, 2002; INSHT, 2008).

Con frecuencia, los pacientes que presentaban síntomas de rinitis alérgica presuntamente asociados a exposiciones a sustancias en el lugar de trabajo, eran en realidad alérgicos a los hongos ya que la contaminación del ambiente causada por los últimos era el real desencadenante de sus síntomas. Por ejemplo, una investigación con trabajadores de fábricas de muebles que tenían síntomas de hipersensibilidad nasal demostró que éstos tenían una mayor incidencia de sensibilidad a los hongos aislados de sus lugares de trabajo que al polvillo producido en sus lugares de trabajo (Day y Ellis, 2002).

En un amplio estudio de 3371 pacientes, 25 por ciento que tenían un diagnóstico de rinitis y 27 por ciento que tenían un diagnóstico combinado de asma y rinitis alérgica fueron sensibilizados a hongos. Las exposiciones a *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus* y *Candida* han sido implicados en rinitis alérgica en diversos grados (Day y Ellis, 2002).

b. Asma

El asma es una obstrucción reversible de las vías aéreas que se caracteriza por inflamación e hiperirritabilidad de las mucosas bronquiales y cambios marcados en el volumen pulmonar y las tasas de flujo espiratorio. Las reacciones asmáticas pueden ser inmediatas, tardías o duales. Clínicamente, el asma suele presentarse con disnea (falta de aire), silbido en el pecho y tos (Day y Ellis, 2002; INSHT, 2008).

Se ha sugerido que debido a que las esporas fúngicas son mucho más pequeñas que los granos de polen, son más propensas a depositarse en los bronquiolos y por ende inducir con más facilidad los síntomas del asma. Además, la severidad de los síntomas del asma se ha relacionado con la concentración de esporas fúngicas en el exterior y existe evidencia que sugiere que los pacientes sensibilizados a hongos tienen un riesgo mayor de desarrollar

asma, y las personas asmáticas incrementan su sensibilidad a aquellos con el transcurrir del tiempo (Day y Ellis, 2002; Bartra, 2003).

Alternaria alternata es uno de los hongos con más distribución en el mundo y que es capaz de inducir reacciones alérgicas a muy bajas concentraciones en individuos sensibilizados. Se estima que un 70 por ciento de los pacientes alérgicos a antígenos fúngicos tiene pruebas cutáneas positivas con *Alternaria alternata* (Pontón *et al.*, 2002; Day y Ellis, 2002). La exposición a las esporas en aquellos individuos está asociada con episodios severos de asma (Pontón *et al.*, 2002).

El género *Fusarium* ha sido asociado a diferentes alergias como asma, enfermedad broncoalveolar alérgica y rinitis perenne. En los pacientes con asma, se ha observado reactividad cutánea a *Fusarium culmorum* (Pontón *et al.*, 2002, Labarrere *et al.*, 2003).

Cladosporium es considerado uno de los más importantes aeroalérgenos por su abundancia en la atmósfera, alcanzando concentraciones muy altas en ambientes interiores como en exteriores (Pontón *et al.*, 2002). Una de sus especies (*Cladosporium herbarum*) ha sido reportada como la principal causa de alergia y asma (Labarrere *et al.*, 2003)

Entre las especies patógenas del género *Penicillium* se encuentran *P. chrysogenum*, *P. brevicompactum* y *P. glabrum* (Pontón *et al.*, 2002). Según la especie, puede encontrarse colonizando las vías respiratorias de pacientes con alergias respiratorias, causar neumonitis por hipersensibilidad y alveolitis alérgica en individuos susceptibles y producir reactividad cutánea. También es una causa común de asma extrínseca. Los síntomas agudos incluyen edema y broncoespasmos, los casos crónicos pueden desarrollar enfisema pulmonar (Flannigan, 1992; Labarrere *et al.*, 2003).

A menudo se ha observado coexistencia entre la rinitis y el asma (INSHT, 2008), incluso las especies fúngicas implicadas en el asma son similares a las asociadas con la rinitis alérgica, donde *Alternaria* tiene la mayor correlación (Day y Ellis, 2002).

c. Dermatitis alérgica

La dermatitis alérgica debida a hongos es mucho menos frecuente que la rinitis o el asma, y se desarrolla en una minoría de sujetos. Es un tipo de reacción que requiere la participación activa del sistema inmunitario y concentraciones muy bajas del agente alérgico. En ella se ha implicado a organismos como *Alternaria*, *Aspergillus* y *Cladosporium* (Flannigan, 1998).

La dermatitis de contacto puede ser aguda, subaguda o crónica. En la fase aguda, las lesiones aparecen con rapidez y se presentan al principio como placas urticariformes pruriginosas, eritematosas y edematosas. En cuestión de horas, estas placas se agrupan y presentan vesículas pequeñas que pueden aumentar de tamaño o coalescer para formar ampollas. Cuando se rompen, exudan un líquido viscoso de color ámbar. El dorso de las manos y la parte interna de las muñecas y los antebrazos son los puntos afectados con más frecuencia, aunque la dermatitis de contacto puede aparecer en cualquier punto de la piel. La mayoría de las dermatosis alérgicas profesionales pueden clasificarse como dermatitis de contacto eccematosas agudas.

El edema y la vesiculación son menos marcados en la dermatitis subaguda, que se caracteriza por la aparición de eritema, vesiculación, descamación cutánea, exudación de líquido moderada y formación de costras amarillentas.

En la fase crónica, la vesiculación y la exudación se sustituyen por un aumento de la descamación, engrosamiento de la epidermis, que adquiere una coloración grisácea y un aspecto arrugado (liquenificación), y aparición de fisuras profundas dolorosas sobre las zonas de movimiento o traumatismos. Al cabo de varios años de dermatitis persistente puede desarrollarse un linfedema de larga duración (Sasseville, 1998).

El eczema atópico es una erupción cutánea pruriginosa crónica y recurrente, de expresión variable en individuos genéticamente predispuestos. Suele ocurrir en la infancia. En algunos casos suele agravarse por los aerosoles de origen biológico. La urticaria es una

erupción cutánea pruriginosa aguda o crónica con presencia de habones e hinchazón de tamaño variable. Tiene causas alérgicas y no alérgicas, y también pueden causarse por los bioaerosoles.

Se han reportado casos de eczema debido a *Penicillium* y *Cladosporium*, y la alfa amilasa fúngica ha sido identificada como causante de dermatitis de contacto en panaderos y urticaria. Se ha sugerido que *Candida albicans* es un factor en la urticaria crónica con una duración mayor a seis semanas (Day y Ellis, 2002).

d. Neumonitis por hipersensibilidad

La alveolitis alérgica extrínseca, también conocida como neumonitis por hipersensibilidad (NH) es un síndrome causado por la inhalación repetida de un amplio espectro de polvos orgánicos o químicos, los cuales causan una respuesta inflamatoria mediada inmunológicamente en los alveolos y bronquiolos, frecuentemente acompañados por síntomas sistémicos (Day y Ellis, 2002; Rey y Ceña, 2006).

La expresión de la NH depende de diversos factores, que incluyen la respuesta inmunológica del hospedero, la intensidad de la exposición y la antigenicidad del polvo biológico inhalado. La NH está mediada tanto por células e inmunoglobulina G (IgG), sin embargo algunas condiciones fúngicas tienen relaciones inmunológicas aun más complejas que aun no se conocen con exactitud. Los microorganismos capaces de producir respuestas de hipersensibilidad en humanos están representadas mayormente por los hongos (Day y Ellis, 2002).

En el caso de los hongos, las reacciones ocurren no solamente debido a las esporas y micelios fúngicos, sino también a las micotoxinas que se producen como metabolitos secundarios, a los compuestos orgánicos volátiles (COV) emitidos por los hongos en su crecimiento, las enzimas y el (1→3)-β-D-glucano, que es componente de la pared celular (Lacey y Dutkiewicz, 1994; Day y Ellis, 2002).

La NH es característicamente una enfermedad ocupacional y los nombres que se le dan a las diferentes formas de la enfermedad suelen reflejar el ambiente donde ésta ocurre o la fuente de donde proviene el bioaerosol y el principal agente antigénico causante. (Lacey y Dutkiewicz, 1994; Day y Ellis, 2002; INSHT, 2008). El “pulmón del granjero” es el ejemplo más estudiado de una alveolitis alérgica, causada por la contaminación del heno, del compostaje o del ensilaje por actinomicetos termófilos (bacterias Gram positivas). La bagazosis también es causada por este tipo de organismos. En cambio, enfermedades como la suberosis, el “pulmón del lavador de queso” y el “pulmón del trabajador de la malta” son causados por hongos (Lacey y Dutkiewicz, 1994). En la **Tabla 18** se dan algunos ejemplos de estas enfermedades.

Tabla 18: Principales antígenos o agentes fúngicos en los aerosoles provenientes de materiales asociados a neumonitis por hipersensibilidad.

Enfermedad	Fuente del aerosol	Principal antígeno/agente
Pulmón del trabajador de la malta	Malta mohosa	<i>Aspergillus clavatus</i>
Sequoiosis	Polvo mohoso de la madera	<i>Aureobasidium pullulans</i>
Suberosis	Polvo mohoso del corcho	<i>Penicillium frequentans (P. glabrum)</i>
Pulmón de los lavadores de queso	Moho del queso	<i>Penicillium casei</i>
Neumonitis de verano	Polvo del hogar	<i>Trichosporon spp.</i>
Neumonitis por ventilación	Sistemas de ventilación contaminados	Hongos varios

FUENTE: Day y Ellis (2002).

La presentación clínica de la NH puede variar y es afectada por la duración y la naturaleza de la exposición. Se han identificado tres formas: aguda, subaguda y crónica. En la forma aguda se incluyen síntomas como dolor de cabeza, artralgia, malestar, fiebre, letargia, escalofríos, tos y disnea. Los pacientes experimentan estos síntomas entre 4–6 h después de la exposición, los cuales desaparecen al cabo de 18–48 h.

En la forma subaguda, los síntomas tienden a aparecer semanas después y se caracterizan por tos y disnea. La ocurrencia de taquipnea (respiración rápida), taquicardia, fiebre y crepitantes bibasales evidencian exacerbaciones agudas. Las pruebas de función pulmonar usualmente revelan un defecto restrictivo, compliancia disminuida y capacidad de difusión disminuida.

La forma crónica es caracterizada por síntomas progresivos con posibles periodos agudos intermitentes, donde se recomienda evitar el antígeno causante de la enfermedad por un tiempo prolongado. Los hallazgos físicos son compatibles con los observados en la forma subaguda. Los rayos X evidencian fibrosis pulmonar intersticial (Day y Ellis, 2002).

Una característica de la etiología de las enfermedades causadas por los hongos es la exposición repetida a grandes concentraciones de esporas, mayormente de 1-5 μm de diámetro. Las concentraciones suelen exceder de 10^6 esporas/ m^3 de aire, y se ha sugerido que una concentración mínima de 10^8 esporas/ m^3 es la causante de síntomas agudos. Los síntomas agudos han sido asociados a exposiciones diarias de 10^9 esporas/ m^3 por varias semanas y de 10^{10} esporas/ m^3 en un solo día, correspondiente a una concentración de 10^9 esporas/ m^3 . El desarrollo de la alveolitis alérgica crónica, sin la presencia de síntomas agudos, puede ser consecuencia de exposiciones prolongadas a concentraciones más pequeñas de esporas (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

e. Sinusitis fúngica alérgica

La sinusitis fúngica alérgica (SFA) es una manifestación clínica que ocurre en el 7 por ciento de pacientes con sinusitis crónica, los cuales presentan atopía y sinusitis crónica no controlada y poliposis nasal. Los pacientes suelen ser jóvenes e inmunocompetentes. Entre los síntomas que presentan esta enfermedad se incluyen asma, rinitis alérgica, eosinofilia y concentraciones altas de IgE total y específica para hongos. Es posible que la SFA represente una reacción de hipersensibilidad a hongos mediada por IgE similar a la aspergilosis broncopulmonar alérgica (Day y Ellis, 2002).

Los agentes etiológicos más comunes asociados con la SFA son los hongos dematiáceos, que incluyen a *Curvularia*, *Bipolaris* y *Pseudallescheria*, y los hongos no dematiáceos como *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*.

El criterio para el diagnóstico de la SFA consiste en la confirmación radiológica de sinusitis, la demostración de hifas fúngicas en la mucina, la ausencia de invasión fúngica en la submucosa, vasos sanguíneos o huesos y la ausencia de diabetes, inmunodeficiencia o tratamiento con drogas inmunosupresoras. La SFA no es una enfermedad invasiva, sin embargo a pesar que su pronóstico a corto plazo sea favorable, parece ser una enfermedad crónica y recurrente en el tiempo después de su tratamiento (Day y Ellis, 2002).

2.7.3. ENFERMEDADES OCUPACIONALES CAUSADAS POR HONGOS AMBIENTALES

Dependiendo de su composición, la reactividad inmunológica de cada trabajador expuesto y de las circunstancias de la exposición, los bioaerosoles pueden causar una variedad de enfermedades ocupacionales, algunas veces mediante infección, pero mayormente suelen ser no infecciosas. Estas enfermedades no infecciosas, que pueden resultar de las propiedades alergénicas o inmunotóxicas de los agentes biológicos, han sido reconocidas en diferentes situaciones. Estos bioaerosoles son producidos en diferentes actividades laborales. Se originan con frecuencia en la agricultura, tanto durante la cosecha como en el almacenamiento de los cultivos, también en las actividades ganaderas e incluso en otras industrias como en el procesamiento del algodón y el corcho. Recientemente han aparecido nuevas fuentes de bioaerosoles debido a la introducción de la biotecnología, con la utilización de varios microorganismos para producir nuevos fármacos, enzimas y sustitutos alimenticios (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

Se producen bioaerosoles de composición compleja tanto en la manipulación de suelos y los cultivos durante diferentes etapas en las labores agrícolas. Generalmente representan poco peligro para los trabajadores, pero en algunas situaciones son un riesgo de infección, alergia u otros efectos a la salud. *Histoplasma capsulatum* es un hongo que causa

infecciones en los granjeros y agricultores debido a su ocurrencia en suelo enriquecido con materia fecal alrededor de los gallineros y en silos habitados por palomas.

También se producen bioaerosoles en la cosecha y el henificado, principalmente compuesto por hongos que crecen en la superficie de las plantas vivas o senescentes. Las esporas de algunos patógenos del trigo, como la roya (*Puccinia graminis*) y los carbones comunes (*Ustilago* y *Tilletia spp.*) tienen el potencial de causar rinitis, asma y conjuntivitis en agricultores, molineros, trabajadores de graneros y otros afines (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

El enmohecimiento del heno y los cereales durante su almacenamiento puede producir mucho polvo al ser manipulados, y la composición fúngica de ese polvo depende de las condiciones de almacenamiento. Diferentes componentes pueden causar irritación de las membranas mucosas, bronquitis, asma, alveolitis alérgica extrínseca. Varias de las especies fúngicas encontradas en el heno y en los granos han sido implicados en la producción de asma y alveolitis alérgica, como *A. fumigatus*, el cual también es común en el compostaje de residuos municipales (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

La prevalencia excesiva de los cánceres en los trabajadores de los molinos de pienso que procesan maíz y maní ha sido atribuido a la acción de las micotoxinas. Las aflatoxinas han sido detectadas en el aire cuando se manipula maíz, semilla de lino y maní infectado con *Aspergillus flavus*. En un molino holandés, se detectaron once cánceres en 55 trabajadores, la mayoría afectando el tracto respiratorio, debido a la inhalación de 0.04-2.5 µg de aflatoxinas por kilogramo de masa corporal en 45 horas de trabajo en una semana (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

Los desórdenes respiratorios en los granjeros avícolas y en los trabajadores de las plantas procesadoras avícolas resultan de la inhalación de aerosoles originados del epitelio, plumas y heces de aves. Se ha reportado aspergilosis pulmonar causado por *Aspergillus flavus*, hongo que fue aislado de la comida, desperdicios de las aves y muestras del aire (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

Entre los hongos más encontrados en las fábricas de algodón se incluyen *Penicillium*, *Aspergillus spp.* (especialmente *A. niger*), *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor* y *Rhizopus*. La composición de las especies sugiere que la mayoría de estos hongos se originan en el campo y no por el deterioro durante el almacenamiento (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

La madera y los subproductos en aserraderos, plantas de generación eléctrica y en los talleres de carpintería producen muchos bioaerosoles. Los tipos de hongos involucrados difieren con el origen de la madera y el ambiente donde se almacena. La exposición a *Rhizopus microsporus var. rhizopodiformis* ha sido reconocida como una causa significativa de alveolitis asociada al corte y clasificación de tablas de madera mohosa en los aserraderos y la manipulación de virutas de madera para el uso como combustible en Escandinavia. También se han dado casos de alveolitis alérgica causadas por *Penicillium spp.* debido a la exposición al polvo de la madera (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

El pulmón del trabajador de la malta está asociado con exposiciones intensas a esporas fúngicas de *Aspergillus clavatus*, *A. fumigatus* y *Rhizopus spp.* cuando se realiza el volteo de los granos de cebada no completamente germinada en el proceso de malteado (Lacey y Dutkiewicz, 1994). El tamaño de las conidiosporas elípticas de *A. clavatus* ($3.0-4.5 \times 2.3-4.5 \mu\text{m}$) le permiten alcanzar y provocar una reacción a nivel alveolar, además sus paredes son particularmente ricas en alérgenos (Hodgson y Flannigan, 2002).

En la industria del tabaco se han reportado algunos síntomas de enfermedades respiratorias como asma y bronquitis luego de exposiciones a largo plazo, y los casos de alveolitis alérgica se han asociado a *Aspergillus fumigatus* (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

En la manipulación y procesamiento del corcho, *Penicillium glabrum* (*P. frequentans*) es liberado en grandes cantidades provocando suberosis, debido a que los bloques de corcho son sumergidos en balsas, dentro de tinajas con agua hirviendo por horas antes de ser almacenadas por varios días en almacenes pequeños y húmedos, favoreciendo el crecimiento fúngico. En estos almacenes, las concentraciones pueden llegar hasta 9×10^7

esporas/m³ de aire, y hasta 10⁶–10⁷ esporas/m³ aire al interior de la fábrica (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

El asma del panadero es una enfermedad ocupacional muy conocida, sin embargo su etiología es poco comprendida. Se ha observado hipersensibilidad pulmonar por *Alternaria* y *Aspergillus*, los cuales estaban presentes en el aire interior de las panaderías. Sin embargo, *Saccharomyces cerevisiae*, componente principal en la levadura, produce una enolasa de 52 kDa, una enzima que a su vez es un alérgeno fúngico potente con el cual se ha encontrado respuesta de la inmunoglobulina E (IgE) en panaderos asmáticos. La alfa amilasa, la cual es utilizada como aditivo en la harina, es una enzima de origen fúngico (*Aspergillus oryzae*) y también se le ha reconocido como un alérgeno ocupacional en esta enfermedad (Lacey y Dutkiewicz, 1994; Day y Ellis, 2002).

Las enfermedades de los trabajadores en las fábricas de queso se deben principalmente a *Penicillium*, el cual es causante de asma (*P. camembertii*) y alveolitis alérgica (*P. casei*) (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

En la producción de ácido cítrico mediante el cultivo en superficie de *Aspergillus niger*, se ha reportado alveolitis alérgica provocada no solamente por ese hongo, sino también por los hongos contaminantes *Aspergillus* y *Penicillium spp.* El asma es causado en la industria de la producción de enzimas por *Aspergillus flavus* y *A. awamori*, y en la producción de proteína alimentaria por *Candida tropicalis* (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

Los ingenieros de construcción y minas han estado entre los grandes grupos de trabajadores infectados por *Coccidioides immitis* en California. También muchos casos de coccidioidomycosis se han presentado entre arqueólogos, antropólogos, paleontólogos y zoólogos durante su trabajo en regiones endémicas (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

Los bibliotecarios, archivistas y restauradores de arte pueden estar expuestos a los aerosoles de hongos alérgicos o toxigénicos que crecen en libros húmedos, pinturas, esculturas y otros objetos (Lacey y Dutkiewicz, 1994).

2.7.4. PREVALENCIA DE ALGUNAS ENFERMEDADES RELACIONADAS A LOS HONGOS AMBIENTALES

Se han realizado estudios epidemiológicos a nivel nacional e internacional mayormente en niños, especialmente en el caso del asma, debido a que es la enfermedad respiratoria crónica más frecuente en pediatría en muchas regiones en el mundo, incluyendo a los países en vías de desarrollo, lo cual representa un problema serio de salud pública con alta morbilidad y carga económica. Entre las otras afecciones alérgicas, la rinitis alérgica en la última década también se ha convertido en un problema de salud pública importante, debido a su alta prevalencia, su impacto negativo en la calidad de vida y su comorbilidad asociada (Padilla *et al.*, 2013).

El Estudio Internacional de Asma y Alergia en la Infancia (ISAAC, por sus siglas en inglés) es el estudio más relevante hecho en Latinoamérica. Es un proyecto mundial de investigación sobre la prevalencia y factores de riesgo asociados a asma y enfermedades alérgicas en la infancia (Lezana *et al.*, 2006).

La primera fase del estudio ISAAC (Fase I) utilizó cuestionarios para obtener datos comparativos de prevalencia y severidad de asma, rinitis o rinoconjuntivitis y eczema en niños de 6-7 y 13-14 años de edad. En esta fase participaron alrededor de 700000 niños en total, provenientes de 56 países (Asher *et al.*, 2006).

La tercera fase del estudio ISAAC (Fase III), la cual fue una repetición del estudio de la Fase I, se desarrolló de cinco a 10 años después. A nivel mundial, esta fase estudió aproximadamente 400000 niños en la edad de 6-7 años y 800000 adolescentes de 13-14 años de edad (Chong Neto *et al.*, 2012). En Latinoamérica se estudiaron en cinco países (Brasil, Chile, Costa Rica, México y Panamá) 21112 niños en el grupo de 6-7 años, mientras que para el grupo de 13-14 años se estudiaron 44550 adolescentes en nueve países (Argentina, Brasil, Chile, Costa Rica, México, Panamá, Paraguay, Perú y Uruguay) (Asher *et al.*, 2006). En la **Tabla 19** se muestra una tabla comparativa a nivel latinoamericano de la prevalencia en cada país tanto en la Fase I y la Fase III.

Tabla 19: Comparación entre las Fases ISAAC por país en el grupo de 13-14 años de edad sobre la prevalencia de síntomas de asma, rinoconjuntivitis alérgica y eczema.

Países	Años entre las fases	Número de niños (Fase III)	Síntomas de Asma		Síntomas de Rinoconjuntivitis		Síntomas de Eczema	
			Fase I (%)	Fase III (%)	Fase I (%)	Fase III (%)	Fase I (%)	Fase III (%)
Argentina	5.0	3445	11.2	13.6	17.4	16.9	7.4	6.3
Brasil	7.4	15681	22.7	19.9	16.2	15.8	5.3	4.2
Chile	6.7	9175	10.2	15.5	10.7	22.2	9.6	16.1
Costa Rica	8.0	2436	23.7	27.3	14.3	17.7	7.2	6.3
México	8.0	1431	6.6	11.6	9.4	7.1	4.4	2.8
Panamá	6.0	3183	17.6	22.9	9.4	11.7	7.8	14.5
Paraguay	5.0	3000	19.4	20.9	34.5	45.1	10.8	17.7
Perú	6.0	3022	26.0	19.6	19.4	18.7	8.2	10.5
Uruguay	8.0	3177	19.0	17.9	16.0	10.6	7.2	5.2

FUENTE: Asher *et al.* (2006).

En el Perú, Robinson *et al.* (2012) estudiaron y compararon la prevalencia y severidad del asma en adolescentes entre 13 a 15 años de edad en Pampas de San Juan de Miraflores, una región periurbana y en 23 zonas rurales en Tumbes. Encontraron que la prevalencia del asma fue del 12 por ciento (84 casos de una muestra de 725) en Lima y del 3 por ciento (22 casos de una muestra de 716) en Tumbes. De los 84 casos en Lima, 52 por ciento de los pacientes mostraron síntomas de asma intermitente leve y el 5 por ciento presentaron síntomas de asma persistente severa, mientras que en Tumbes, de los 22 casos, 55 por ciento fueron de asma intermitente leve y el 14 por ciento de asma persistente severa.

Padilla *et al.* (2013) realizaron un estudio entre abril y mayo del 2007 con niños asmáticos entre los seis y 14 años de edad en cuatro colegios de Lima y Callao, ubicados en los distritos de Santiago de Surco, La Molina, La Punta y San Juan de Miraflores, con el fin de evaluar la asociación entre la rinitis alérgica y el asma y su prevalencia, debido a que evaluaciones anteriores en Perú habían reportado que la rinitis alérgica podría ser un factor

agravante en el asma y viceversa. En este estudio, Padilla *et al.* (2013) encontraron que más del 66 por ciento de los niños asmáticos tenían rinitis alérgica; y que la prevalencia de la rinitis alérgica en pacientes atendidos por emergencia pediátrica debido a la exacerbación asmática variaba entre 47 y 54 por ciento.

Entre los datos más recientes, el Ministerio Nacional de Salud (MINSa) en su Boletín Epidemiológico (MINSa, 2016), indicó que en la Dirección Regional de Salud Lima, los casos acumulados de Síndrome Bronquial Obstructivo Agudo (SOBA) y de Asma desde el 01 de enero del 2016 hasta el 23 de enero de ese mismo año fueron de 437 episodios, y la incidencia acumulada es de 61.4 por 1000 menores de cinco años. Entre las provincias que tienen la mayor incidencia acumulada por 1000 menores de cinco años se encuentran la provincia de Huaura (9.03), Huaral (8.22), seguida de Barranca (4.43), Cañete (3.27) y Huarochirí (0.81), siendo un 62 por ciento representado por casos de niños menores de dos años de edad.

Para el caso de los adultos mayores, que también representan un grupo vulnerable, el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI) (INEI, 2013), realizó un informe sobre la situación de la salud en la población adulta mayor, dedicando un capítulo al asma. Al analizar por el grupo de edad, observaron que la población adulta mayor diagnosticada con asma por un profesional de salud fue más alta en el grupo de 75 a 79 años (4.6 por ciento) y de 65 a 69 años de edad (4.5 por ciento), mientras que el grupo de 70 a 74 años de edad presentó un menor porcentaje (4.0 por ciento). Según el departamento, encontraron mayor prevalencia de asma en la población adulta mayor residente en Ica (7.4 por ciento), Áncash (7.3 por ciento), Lima y Provincia Constitucional del Callao (6.7 por ciento) y Tacna (5.9 por ciento); y notaron una menor prevalencia en La Libertad y Huancavelica (1.4 por ciento en cada caso), Puno y Cusco (1.6 por ciento en ambos casos), Cajamarca (1.7 por ciento) y Ucayali (1.8 por ciento).

A nivel general, el Ministerio de Salud ha mostrado que el asma constituye una de las cinco principales causas de atención médica. El Sistema Integral de Salud (SIS) realizó un estudio epidemiológico de distribución y frecuencia de atenciones de emergencia a nivel nacional entre los años 2010 y 2013 (SIS – MINSa, 2013), donde identificaron las causas

más frecuentes de atenciones de salud de emergencia según los grupos de morbilidad CIE X (Clasificación Internacional de Enfermedades, décima versión) entre la población asegurada del SIS a nivel nacional.

En el ranking de causas de morbilidad más frecuentes entre atenciones de emergencia financiadas por el SIS a nivel nacional se reportó que el asma estaba ocupando el cuarto lugar en el año 2010 (5.61 por ciento con 46300 casos atendidos) y el quinto lugar en los años 2011 (4.99 por ciento con 32140 casos atendidos), 2012 (4.31 por ciento con 32600 casos atendidos) y 2013 (3.66 por ciento con 40300 casos atendidos), debajo de otros diagnósticos como fiebre de origen desconocido, dolor abdominal y pélvico y otros traumatismos de regiones especificadas, regiones no especificadas y de múltiples regiones del cuerpo.

A nivel departamental, el asma aparece como la segunda causa de morbilidad entre atenciones de emergencia en Lima (8.57 por ciento) y Callao (6.96 por ciento), como la tercera causa en Loreto (7.72 por ciento) y Tumbes (6.93 por ciento) y en quinto lugar en La Libertad (4.65 por ciento), Lambayeque (4.66 por ciento), Áncash (2.59 por ciento) y Amazonas (1.69 por ciento).

Mendoza (2015) estudió el perfil epidemiológico de las principales patologías otorrinolaringológicas en tres ciudades del Perú, utilizando como referencia el número total de pacientes asegurados de EsSalud (Seguro Social de Salud) atendidos en el Servicio de Otorrinolaringología de los hospitales de Tumbes (172 pacientes), Huancavelica (200 pacientes) y Pucallpa (173 pacientes) en las campañas especializadas realizadas en los meses de mayo, agosto y noviembre del 2014, respectivamente. Observó que la rinitis alérgica era el diagnóstico más frecuente en la costa (26.16 por ciento), mientras que en la sierra y la selva era el segundo diagnóstico más frecuente (14 y 24.28 por ciento, respectivamente).

III. METODOLOGÍA

3.1. LUGAR

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el área de envasado de la empresa embotelladora de bebidas AJEPER S.A. Planta Huachipa. Las evaluaciones microbiológicas se llevaron a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la misma empresa.

3.2. MATERIALES

- Placas Petri de 90 mm.
- Plumón indeleble.
- Papel toalla.
- Guantes quirúrgicos desechables.
- Porta y cubre objetos.
- Cinta adhesiva.
- Parafilm.

3.3. EQUIPOS

- Estufa.
- Autoclave.
- Microscopio.

- Contador de colonias.
- Termohigrómetro.
- Balanza analítica.
- Incubadora.
- Muestreador microbiológico de aire MAS-100 Eco®.
- Cámara fotográfica.
- Computadora portátil.

3.4. REACTIVOS

- Azul de lactofenol.
- Solución desinfectante (alcohol de 70 por ciento).
- Agua destilada.

3.5. MEDIO DE CULTIVO

Para el presente estudio, se utilizó el agar DRBC (Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol), cuya composición está indicada en la **Tabla 20**.

Tabla 20: Componentes para la preparación del agar DRBC.

Glucosa	10 g
Peptona Bacteriológica	5 g
Fosfato de Potasio Monobásico	1 g
Sulfato de Magnesio Heptahidratado	0.5 g
Rosa de Bengala (5% m/v)	0.5 mL

Continúa...

... continuación.

Solución Dicloran (2,6-dicloro-4-nitroanilina) (0.2% m/v en etanol)	1 mL
Cloranfenicol	0.1 g
Agua Destilada	1 L
Agar	15 g

Nota: El pH final deber ser de 5.6. Las cantidades son para 1 L de medio de cultivo.

FUENTE: Merker (1998).

3.6. MÉTODOS

3.6.1. DESCRIPCIÓN DEL AMBIENTE DEL ÁREA DE ENVASADO Y EL ENTORNO DE AJEPER S.A. PLANTA HUACHIPA

Se realizó una descripción general de AJEPER S.A. Planta Huachipa y su ubicación. Se tomaron en cuenta los alrededores de la planta, el clima predominante, y las características socioeconómicas de la zona. En el caso del área de envasado, se detalló el interior de ésta, los materiales utilizados en su construcción, las máquinas existentes, los procesos que se llevan a cabo en ella y la jornada laboral de los operarios.

3.6.2. EVALUACIÓN DE LA CARGA FÚNGICA AMBIENTAL

a. Preparación del medio de cultivo

Se suspendieron 31.6 g de la mezcla en polvo de agar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) (Merker, 1998), provista por la compañía BD (Becton, Dickinson and Company). El polvo fue disuelto en un litro de agua destilada y se llevó a ebullición. Luego se esterilizó en la autoclave durante 15 minutos a 121°C. Para evitar la gelificación

del medio, se calentó cuidadosamente en microondas antes de ser distribuidas en placas Petri estériles de 90 mm de diámetro. Cada placa Petri contenía 15 mL del medio de cultivo.

b. Muestreo ambiental

Las muestras de aire fueron tomadas empleando el método volumétrico por impactación en el que se utilizó un biolector MAS-100 Eco®, con un cabezal autoclavable de 400 orificios, el cual se programó a una capacidad de flujo de aire de 100 L/min, debido a la experiencia obtenida de muestreos anteriores, donde se alcanzaban números idóneos de colonias fúngicas que permitían su recuento por placa. El biolector fue manipulado bajo las instrucciones del proveedor (ver **Anexo 1**). Se utilizó una placa Petri con medio DRBC sólido por cada muestreo.

La toma de muestras se realizó de manera consecutiva en los 11 puntos seleccionados, siendo 10 al interior del área de envasado y una al exterior de ésta, realizándose dos repeticiones en cada punto por día. El biolector estuvo colocado a 1.5 m del suelo. El muestreo se realizó intersemanalmente (lunes, miércoles y viernes) a lo largo del periodo comprendido entre diciembre del 2014 y enero del 2015.

En la **Figura 17** está representada el área de envasado, en la cual se encuentra la parte final de las cadenas transportadoras de botellas, la embotelladora y el sistema de mezcla. Los puntos de muestreo se encuentran señalados en números rojos y descritos en la leyenda.

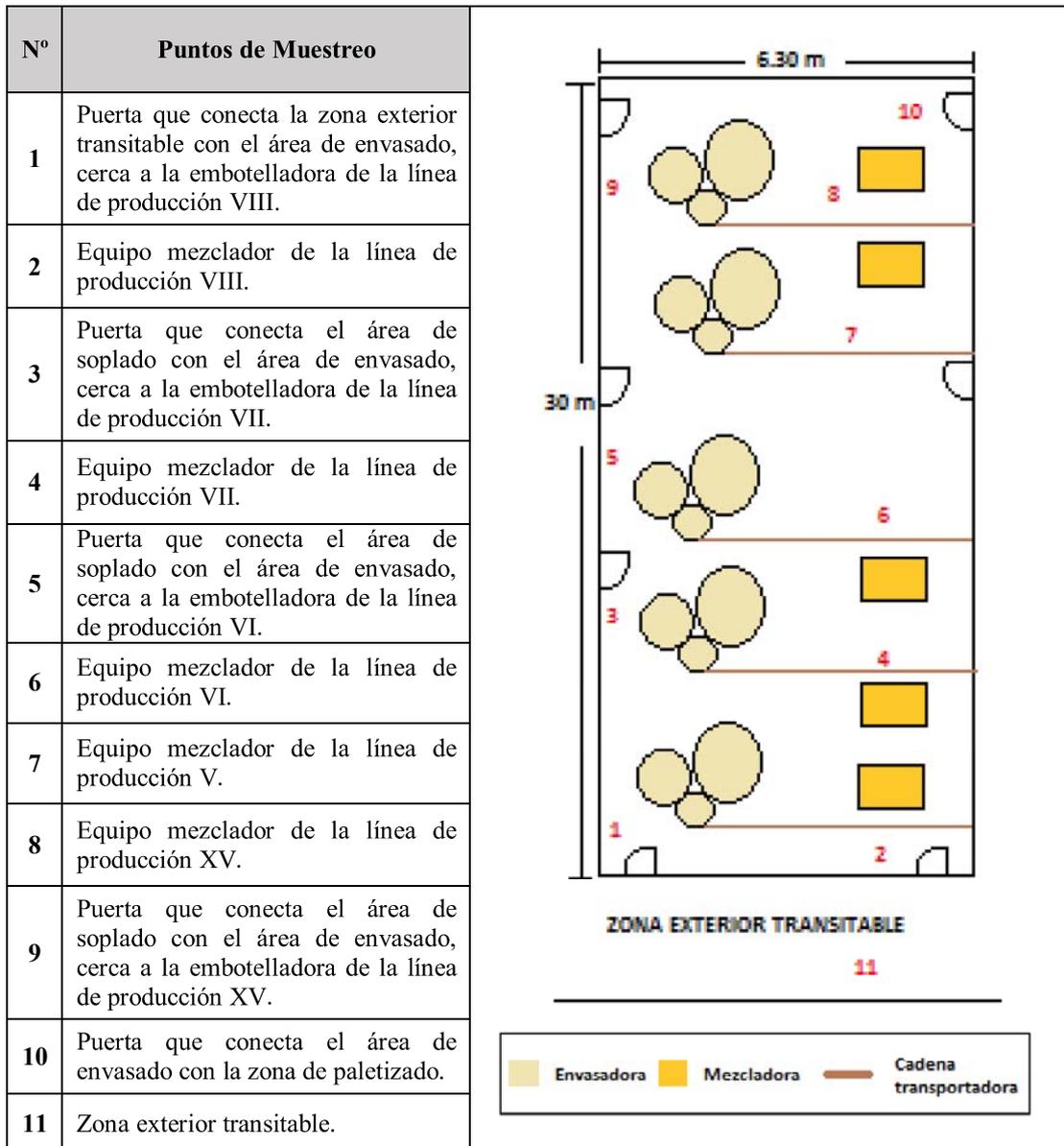


Figura 17: Ubicación de los puntos de muestreo en el área de estudio.

FUENTE: Elaboración propia.

El muestreo se realizó durante el turno día bajo condiciones de proceso continuo y por el lapso de cuatro semanas, en base a los criterios de la ISO 14698-2:2003(E) (ISO, 2003b), en la cual se da una guía para el diseño del muestreo, se exponen criterios para la elección de los puntos a muestrear, los números de muestras a tomar y los factores de riesgo durante este proceso.

Se tuvieron las siguientes consideraciones: el cabezal del muestreador se autoclavó una vez al día por 15 minutos a 121°C, por indicaciones del proveedor. El cabezal fue desinfectado

con alcohol al 70 por ciento y dejándolo secar luego de cada par de muestreos en cada punto.

La manipulación de las placas desde el inicio del muestreo hasta la incubación se realizó utilizando guantes estériles desechables y la indumentaria correspondiente para el ingreso a un área crítica (mandil, botas de seguridad, mascarilla descartable, toca para el cabello y casco de protección).

Una vez tomadas las muestras, se trasladaron las placas Petri al laboratorio y fueron incubadas a 25°C por cinco días.

c. Contaminación fúngica presente en el aire

Transcurrido el periodo de incubación, se realizó el recuento de colonias, utilizando el contador de colonias.

El valor obtenido se expresó en unidades formadoras de colonias por 100 L de aire muestreado (UFC/100 L). Estos valores se corrigieron con la Tabla Estadística de Corrección de Feller, entregada por el proveedor del equipo muestreador (ver **Anexo 2**).

Los valores de la Tabla de Corrección de Feller se hallaron de acuerdo a la fórmula de Feller (Feller, 1968) que sirvió para eliminar el sesgo debido a los múltiples orificios que posee el equipo de captación de aire. La fórmula se basa en la probabilidad de que varios microorganismos entren por el mismo orificio de la tapa perforada del equipo a medida que existan más microorganismos en el ambiente a muestrear (Valenzuela, 2011).

La fórmula de Feller es la siguiente:

$$Pr = N [1/N + 1/N-1 + 1/N-2 + 1/N - r + 1]$$

Donde:

Pr: Total estadístico probable.

N: Constante (número de orificios del equipo muestreador).

r: Número de unidades formadoras de colonia contadas en placas Petri de 90 mm.

El valor obtenido de la Tabla de Corrección de Feller, se convirtió de UFC/100 L a unidades formadoras de colonias por metro cúbico (UFC/m³) mediante estequiometría:

$$\frac{\text{UFC}}{100 \text{ L de aire absorbido}} \times \frac{1000 \text{ L}}{1 \text{ m}^3} = \frac{\text{UFC}}{1 \text{ m}^3}$$

El valor que se obtuvo en UFC/m³ representa la carga fúngica ambiental (Valenzuela, 2011).

3.6.3. IDENTIFICACIÓN DE COLONIAS DE HONGOS AMBIENTALES

Las muestras se prepararon tomando como base la NTP 488: Calidad de Aire Interior: Identificación de Hongos (INSHT, 2002), mediante el método de la cinta adhesiva.

El procedimiento se llevó a cabo como sigue:

1. Se apoyó el lado engomado de un trozo de cinta adhesiva transparente sobre la superficie de una colonia.
2. Se colocó la cinta bien extendida sobre una gota de azul de lactofenol y esta a su vez, sobre un portaobjetos.
3. Finalmente se observó al microscopio para conocer la forma y ordenamiento característico de las esporas.

La identificación de las muestras se realizó por comparación macroscópica y microscópica utilizando fotografías y libros como guía.

3.6.4. MEDICIÓN DE LA HUMEDAD Y TEMPERATURA

Los datos de temperatura y el porcentaje de humedad relativa se tomaron simultáneamente en cada uno de los puntos de muestreo seleccionados con un termohigrómetro. Todos los datos obtenidos dentro del periodo de muestreo se procesaron y fueron tabulados para su posterior interpretación utilizando el programa estadístico MINITAB 17, mediante un análisis de regresión lineal múltiple o simple.

Análisis estadístico

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la concentración de los hongos ambientales existentes en el aire al interior y exterior del área de envasado de bebidas de la empresa AJEPER S.A. Planta Huachipa, con la finalidad de evaluar la calidad fúngica del aire.

El análisis estadístico para estimar la relación de la concentración de los hongos ambientales (Y) con respecto a la humedad relativa (X_1) y la temperatura ambiente (X_2), se realizó mediante un análisis de regresión lineal múltiple, ya que esta técnica permitió estimar el valor de una variable dependiente (Y) en función de las variables predictoras (X_n).

El modelo de regresión múltiple es el siguiente:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_n X_n + \varepsilon$$

Donde:

Y: Variable respuesta que se quiere predecir.

$\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_n$: Coeficientes de regresión.

X_1, X_2, \dots, X_n : Variables predictoras independientes que se miden sin error.

ε : Error aleatorio de la variable respuesta.

Por lo tanto, las variables para el presente estudio fueron las siguientes:

La variable respuesta fue:

Y = Concentración de los hongos ambientales.

Las variables predictoras independientes fueron:

X_1 = Humedad relativa.

X_2 = Temperatura ambiente.

3.6.5. APLICACIÓN DE ENCUESTA A LOS TRABAJADORES

De un total de 30 trabajadores, se escogieron al azar 19 personas que laboran en el turno día en el área de envasado y se les realizó una encuesta para conocer su percepción sobre la calidad del aire en su ambiente de trabajo. La encuesta se basó en la NTP 380 (INSHT, 1995) (ver **Anexo 3**).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio realizado permitió identificar los principales géneros de hongos existentes en el aire interior de los ambientes estudiados en la empresa AJEPER S.A. Planta Huachipa. Se aislaron, enumeraron e identificaron un total de 4898 colonias fúngicas (3816 en el ambiente interior y 1082 en el ambiente exterior) a partir de 264 placas de Petri, pertenecientes a siete géneros fúngicos además de levaduras, durante cuatro semanas de muestreo. La mayoría de los hongos ambientales aislados que se identificaron, son esporas pertenecientes a la División Ascomycota y Zygomycota. Los diferentes géneros encontrados según el aislamiento realizado de las esporas fúngicas suspendidas en el aire interior de la zona de envasado fueron las siguientes: *Penicillium*, *Cladosporium*, *Paecilomyces*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Aspergillus* y *Mucor*. Estos géneros pertenecen a los dos grupos mencionados anteriormente según su clasificación. Estos resultados evidencian la presencia de hongos en estos ambientes e indican su amplia variedad. Además, los niveles de concentración fúngica encontrados en el interior del ambiente califican entre “intermedio” y “alto” en las referencias para ambientes interiores no industriales

Descripción del ambiente del área de envasado y el entorno de AJEPER S.A. Planta Huachipa

La empresa de bebidas gaseosas AJEPER S.A. Planta Huachipa está ubicada en Av. La Paz, Lote 30, Centro Poblado de Santa María de Huachipa, distrito de Lurigancho, provincia y departamento de Lima (ver **Figura 18**).

El clima predominante en Huachipa es templado o semicálido muy seco (árido subtropical), el cual se distingue por tener una precipitación pluvial promedio anual menor a 100 mm, concentrada en el invierno en forma de garúa o llovizna; temperaturas medias anuales de 18 a 19°C y temperaturas máximas de verano que pueden alcanzar los 30°C. La humedad atmosférica puede llegar a ser alta, con nubosidad durante el invierno; pero con mayor sequedad y horas de sol que en la mayoría de los otros distritos limeños.

Las características socioeconómicas en los alrededores de la planta es variada, se encuentran casas - huertas, centros recreacionales, centros campestres, pequeñas áreas de uso agropecuario dedicadas mayormente a cultivos y flores, locales industriales (depósitos de vehículos motorizados, estaciones de servicio), empresas industriales, universidades, pequeños negocios de restaurantes y otros. También hay locales de servicio público (capillas, escuelas) así como terrenos sin cercar y locales abandonados (ver **Figura 18**).

La principal vía de acceso es la autopista Ramiro Prialé, vía de tránsito rápido en un excelente estado de conservación, trazada en sentido noreste - sureste; a la altura de la planta, hacia el cauce del río Rímac se encuentra el “Mirador N° 12 Las Festucas” establecido por SEDAPAL (Servicio de Agua Potable y Alcantarillado de Lima) como parte de su Programa de Manejo del cauce ribereño. La otra vía de acceso es la Av. Los Laureles, que su mayor parte esta afirmada, polvorienta y en deficiente estado de conservación; esta característica es similar a la Av. La Paz, vía de uso local en este sector. Cerca de la planta se han instalado restaurantes y negocios de comida, donde meriendan principalmente los trabajadores de la planta.

La planta está hecha de material noble (ladrillo, cemento, fierro corrugado, ventanas de vidrio y aluminio), ocupando un área total de 220000 m² (oficinas, zonas de producción, espacios abiertos para los almacenes y áreas verdes), con un área construida de 92300 m² (oficinas y zonas de producción).

El área en estudio es la sala de llenado, que consiste en un ambiente cerrado ubicado en el primer piso de la planta y ocupa un área de 263 m². Tiene piso de cemento pulido, paredes de mayólica y techo aligerado y falso techo de acrílico. En este ambiente se encuentran ubicadas máquinas como mezcladoras, llenadoras, capsuladoras, rinsers (lavadoras de botellas) y parte de las bandas transportadoras.

En la sala de llenado trabajan cinco líneas de producción, las cuales son manejadas por dos operadores tanto en la máquina llenadora y en la mezcladora, quienes tienen jornadas de trabajo de ocho a 12 horas diarias, incluidos domingos y feriados en caso la empresa lo requiera.

El proceso de producción que se lleva a cabo en esta área abarca desde el ingreso de las botellas previamente etiquetadas en la zona anterior de soplado, hasta que son capsuladas. Las botellas entran a la sala por los transportadores aéreos que poseen filtros de aire y son impulsadas a la zona de envasado. Posteriormente, éstas ingresan primero al lavador, en donde se lavan con una solución desinfectante; luego pasan por las válvulas de la máquina llenadora, en la cual se inyecta el producto a cada botella; y finalmente son capsuladas y transportadas hacia la zona de paletizado por la faja transportadora.

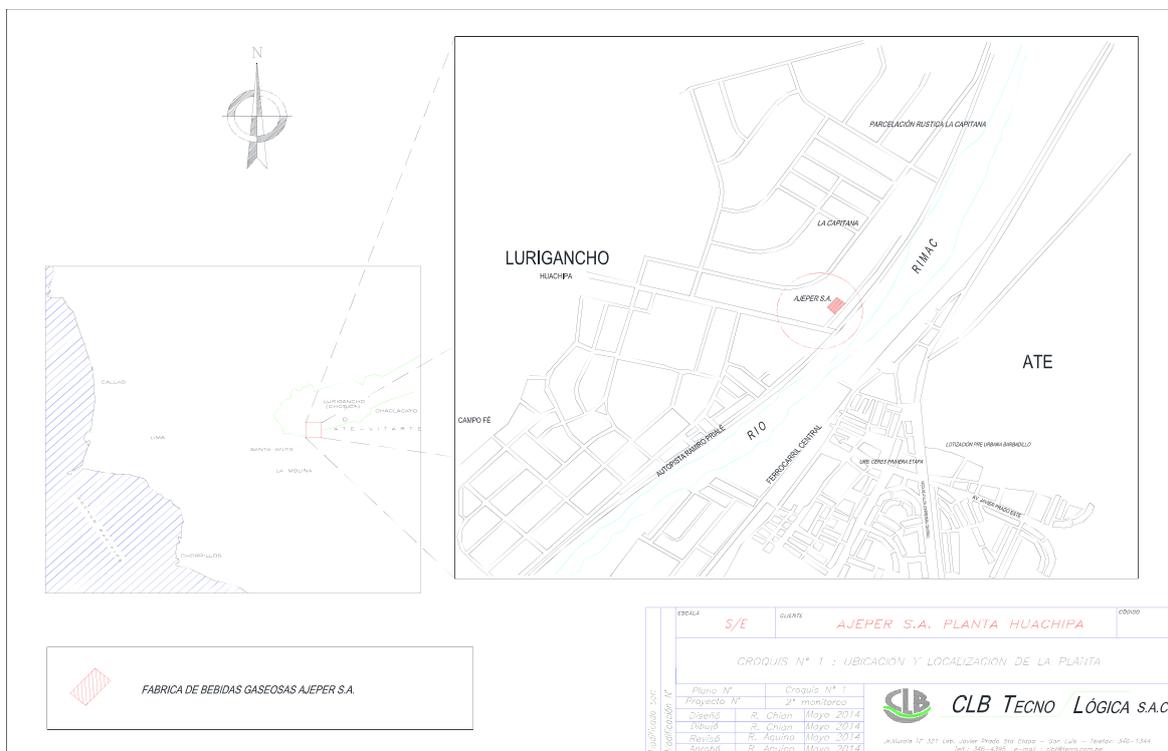


Figura 18: Ubicación y localización de AJEPER S.A. Planta Huachipa.

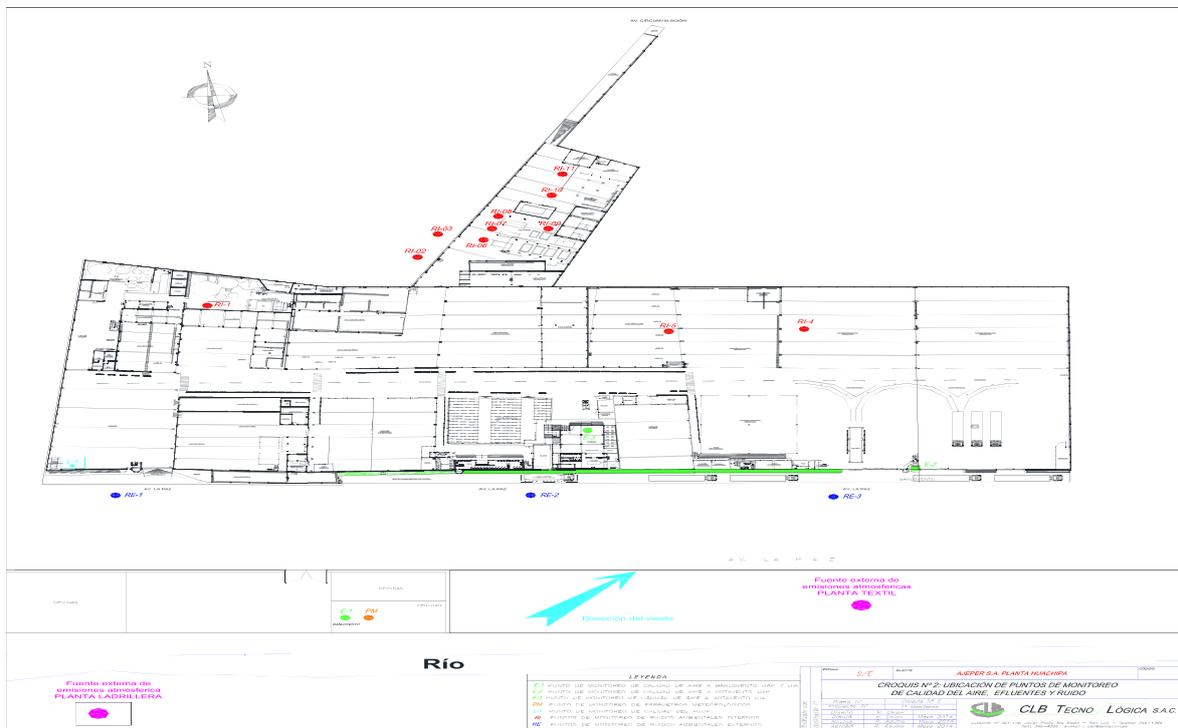


Figura 19: Esquema de la empresa AJEPER S.A. Planta Huachipa.

Evaluación de la carga microbiana del área de envasado a partir de los hongos ambientales.

En la **Tabla 21** se muestra la concentración de esporas fúngicas totales que fueron encontradas en los once puntos de muestreo, tanto en el ambiente interior como en el punto exterior en la zona transitable de la empresa, por día. Estos datos están expresados en Unidades Formadoras de Colonia por metro cúbico (UFC/m³). En el punto exterior (punto 11) se obtuvieron 12220 UFC/m³, la concentración total más alta de esporas fúngicas durante los 12 días de muestreo, en comparación a las concentraciones totales halladas en los otros 10 puntos tomados al interior del ambiente de estudio, el cual está ventilado mecánicamente mediante el uso de filtros. Además, al analizar los valores obtenidos por cada día, se observa que en todos los puntos de muestreo al interior del área de envasado, se han registrado valores menores que en el punto al exterior, y salvo en algunos casos puntuales, los valores obtenidos han sido menores a la mitad del valor del ambiente exterior (punto 11) en cada día. Esto es consistente con lo que han mencionado otros autores, que indican que la concentración de hongos encontrados en el aire del ambiente interior debe ser inferior a la concentración presente en el aire exterior (ACGIH, 1989; Comtois y Marcoux, 1999) y que especialmente en el caso de ambientes interiores ventilados mecánicamente en presencia de un mínimo de filtración (como en nuestro caso), el aire interior deberá tener un nivel de hongos menor que la mitad de la concentración presente en el aire exterior (ACGIH, 1989).

Los casos puntuales en que no se ha cumplido lo anteriormente mencionado, pueden haberse dado a causa de las actividades que se estaban realizando en el área de envasado en el momento en que se realizó el muestreo de aquellos puntos, como por ejemplo actividades de saneamiento y mantenimiento. La fluctuación de los datos obtenidos se debe a que el área de envasado es un solo ambiente que consiste en cinco líneas de producción que comparten un mismo espacio físico, con poca separación entre ellas y en donde las actividades de saneamiento o mantenimiento en una de las líneas pueden afectar a las otras que se encuentran operando y por consiguiente al ambiente de toda el área, ya que en ambas actividades ocurre la suspensión de gran cantidad de esporas fúngicas en el aire.

Tabla 21: Concentración de esporas fúngicas por punto y fecha de muestreo expresada en UFC/m³.

Puntos de muestreo	Diciembre 2014			Enero 2015									Total
	Semana 1			Semana 2			Semana 3			Semana 4			
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9	Día 10	Día 11	Día 12	
1	120	150	210	250	230	320	220	340	220	250	240	280	2830
2	130	110	340	200	580	280	590	570	330	260	350	320	4060
3	120	140	130	120	290	230	240	240	280	280	240	260	2570
4	830	570	710	790	260	720	250	370	300	540	450	430	6220
5	230	250	280	260	240	380	370	370	290	230	240	280	3420
6	610	650	560	440	220	380	220	350	330	370	590	370	5090
7	500	280	350	390	490	400	350	370	480	500	520	530	5160
8	380	300	410	480	370	190	290	240	650	480	270	210	4270
9	360	240	560	680	280	140	160	150	440	420	430	350	4210
10	180	220	290	250	340	230	270	200	260	230	290	260	3020
11	1200	890	790	900	810	1300	910	810	840	1220	1350	1200	12220

FUENTE: Elaboración propia.

Los altos valores obtenidos, como en el caso del punto 8 (650 UFC/m³ vs. 840 UFC/m³ en el exterior) y el punto 2 (590 UFC/m³ vs. 910 UFC/m³ en el exterior), que se encuentran cercanos a las puertas, puede deberse a algún descuido por parte de los operarios al mantener las puertas abiertas en el momento en que la presión positiva se encontraba inoperativa, lo que permitiría el ingreso de esporas fúngicas provenientes del exterior. En el caso de los puntos 4 (830 UFC/m³ vs. 1200 UFC/m³, siendo el caso más crítico 710 UFC/m³ vs. 790 UFC/m³ al exterior) y 6 (650 UFC/m³ vs. 890 UFC/m³ al exterior), que están situados debajo de las rendijas de expulsión de aire del sistema de ventilación y cercanos a los motores principales de las máquinas de las líneas de envasado, pueden haberse causado por la saturación de los filtros y el incumplimiento del mantenimiento del sistema de ventilación, dado que todos estos valores se presentaron a lo largo de la semana 1. Sin embargo, en estos casos puntuales, la concentración fúngica en el interior siempre ha sido menor que la del exterior, y esto debe cumplirse aun con un sistema de ventilación deficiente (ACGIH 1999).

Reynolds *et al.* (1990) indicaron que concentraciones mayores de 500 UFC/m³ de esporas fúngicas suspendidas en el aire se consideran como una condición anormal en el ambiente interior. En nuestro ambiente de estudio, este nivel fue sobrepasado en la primera semana en los puntos de muestreo 4 (830, 570 y 710 UFC/m³) y 6 (610, 660 y 560 UFC/m³), en la segunda semana por los puntos 2 (580 UFC/m³), 4 (790 y 720 UFC/m³) y 9 (680 UFC/m³), en la tercera semana por los puntos 2 (590 y 570 UFC/m³) y 8 (650 UFC/m³) y en la cuarta semana en los puntos 4 (540 UFC/m³) y 7 (520 y 530 UFC/m³). Klanova (2000), señaló que concentraciones de esporas fúngicas suspendidas en el aire interior mayores a 2000 UFC/m³ puede ser considerada como un factor de riesgo sobre la salud de los ocupantes de un ambiente; sin embargo, todos los puntos al interior del ambiente de estudio se encuentran muy por debajo de ese nivel. Según la tabla de criterios de contaminación fúngica (ver **Tabla 2**) de Wanner y Gravesen (1993), los niveles de contaminación fúngica al interior del ambiente califican entre “intermedia” y “alta”. Se debe tener en cuenta que estos niveles propuestos por lo general refieren a ambientes interiores no industriales y que además las concentraciones de hongos en el aire difieren de un sitio a otro por las actividades humanas que se realicen en él y sus condiciones ambientales (Basílico *et al.*, 2007).

En la **Tabla 21** y en la **Figura 20**, se observa que las concentraciones de esporas fúngicas totales más bajas durante los 12 días de muestreo, se obtuvieron en el punto 1 (2830 UFC/m³), punto 3 (2570 UFC/m³) y punto 10 (3020 UFC/m³). Esto puede deberse a que estos puntos están cercanos a las puertas con sistema de presión positiva, el cual funciona como una barrera que dificulta el ingreso de las esporas fúngicas provenientes del exterior, y además son puertas de ingreso restringido, por lo tanto de poco uso y de menor tránsito de personas. Las concentraciones fúngicas totales más altas se encontraron en el punto 4 (6220 UFC/m³), punto 6 (5090 UFC/m³) y punto 7 (5160 UFC/m³), que se sitúan cercanos a la mezcladora, sistema que posee varias bombas y motores que expulsan aire caliente al interior de la sala, los cuales producen gran movimiento y suspensión de bioaerosoles y además se ubican debajo de las rendijas de expulsión del aire del sistema de ventilación, que como se ha mencionado antes, si no tiene un mantenimiento correcto podría contribuir al incremento del nivel fúngico en el ambiente interior.

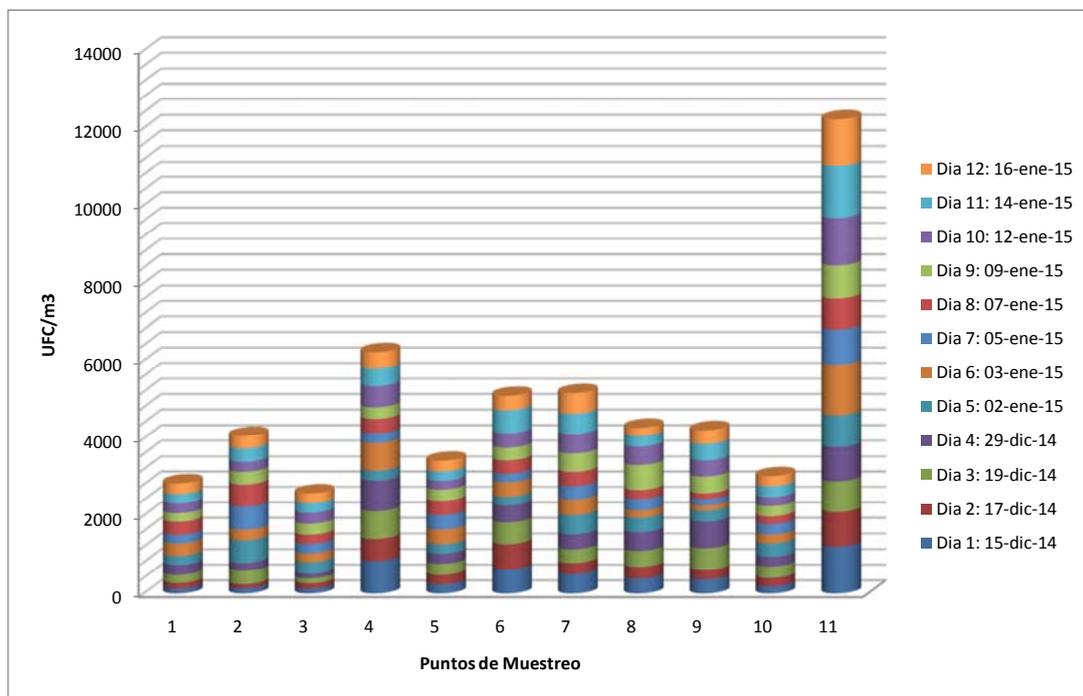


Figura 20: Concentración de esporas fúngicas por punto y fecha de muestreo en UFC/m³.

FUENTE: Elaboración propia.

Resultados de la identificación de los géneros de hongos ambientales.

En la **Tabla 22** se observa el recuento de esporas fúngicas por género en los 11 puntos de muestreo durante los 12 días que duró el estudio. En la **Tabla 23**, los datos de recuento de esporas fúngicas fueron convertidos multiplicándose por un factor para que los valores puedan ser expresados en concentración en UFC/m³.

En la **Tabla 23** se puede apreciar claramente que el género *Penicillium*, presenta la mayor concentración en comparación a los otros géneros encontrados con un valor de 32180 UFC/m³, seguida de *Cladosporium* (10110 UFC/m³). Las concentraciones de los otros géneros representativos identificados fueron *Paecilomyces* (2730 UFC/m³), *Mucor* (960 UFC/m³), *Fusarium* (670 UFC/m³), *Aspergillus* (660 UFC/m³), *Alternaria* (540 UFC/m³) y levaduras (1040 UFC/m³). La concentración de los hongos filamentosos que no se pudieron identificar alcanzó un valor de 90 UFC/m³.

En el caso de los géneros predominantes en los puntos de muestreo al interior del ambiente de estudio, se tiene también a *Penicillium* seguido de *Cladosporium*, siendo ambos géneros dos de los más encontrados según varios autores en los ambientes interiores (Flannigan y Miller, 1994; Lacey y Dutkiewicz, 1994; Aira *et al.*, 2002; Rojas *et al.*, 2002; Labarrere *et al.*, 2003). Estos resultados coinciden con lo reportado por Rosas *et al.* (1997) en treinta casas de adultos asmáticos en la Ciudad de México, donde durante la temporada seca, encontraron que *Cladosporium* representaba el 50 por ciento de los hongos totales en los ambientes interiores, con concentraciones desde 17 a 1493 UFC/m³, seguido por *Penicillium* que constituía cerca del 20 por ciento del total de hongos en el interior, con concentraciones que iban desde 7 hasta 2549 UFC/m³.

Comparando las concentraciones por género encontradas en los puntos interiores con la del punto exterior, se observa que para la mayoría de géneros se cumple que los valores hallados en el punto exterior (punto 11) son mayores que los encontrados en los puntos de muestreo al interior. Wanner y Gravesen (1993) indicaron que para la mayoría de los géneros, los conteos más altos en el aire exterior se registraban durante el verano, época en

la que se realizó el estudio, y que, además en este periodo el aire exterior representaba la fuente principal de hongos encontrados en el aire interior.

Sin embargo, *Fusarium* es un género que fue encontrado solamente en el interior, al igual que las levaduras. Caso similar ocurrió con el género *Paecilomyces*, cuyas concentraciones en los puntos interiores 4, 5, 6, 7, 8 y 9 fueron mayores que en el punto exterior. Esto podría significar que el origen y el desarrollo de los hongos anteriormente nombrados se están dando al interior del ambiente de estudio. La ACGIH (1999) indicó que el hallazgo de concentraciones relativamente altas en el ambiente interior o de tipos de hongos diferentes al ambiente exterior son evidencias, mas no pruebas, de la ocurrencia de crecimiento microbiano en interiores. Normalmente en el ambiente interior, la multiplicación de estos microorganismos es mínima, por lo que su cantidad debería ser inferior a la encontrada en el exterior (Comtois y Marcoux, 1999).

Según el INSHT (1996), los géneros fúngicos más abundantes que pueden desarrollarse en superficies donde se acumula polvo y en los sistemas HVAC (calefacción, ventilación, y aire acondicionado, en español) son *Penicillium* y *Cladosporium*. En el presente estudio, se encontró que los puntos al interior que presentaban los valores más altos de concentración de estos dos géneros fueron el punto 2 (2700 UFC/m³ de *Penicillium* y 690 UFC/m³ de *Cladosporium*), el punto 4 (3800 UFC/m³ y 1110 UFC/m³), el punto 6 (3000 UFC/m³ y 910 UFC/m³), el punto 7 (3340 UFC/m³ y 660 UFC/m³) y el punto 8 (2350 UFC/m³ y 900 UFC/m³) están cercanos o debajo de las rejillas de salida del aire filtrado del sistema de ventilación. El punto 9 también presentó valores altos de ambos hongos (2500 UFC/m³ y 830 UFC/m³) a pesar que este punto esté cercano a una puerta con sistema de presión positiva, lo que pudo deberse a la proximidad de este punto con el punto 8 (2 m de distancia entre ambos) (ver **Figura 17**).



Figura 21: Muestra representativa de las colonias fúngicas en agar DRBC (punto 6 y repetición 1, del 15 de diciembre del 2014).

Se observa el crecimiento de 25 colonias de *Penicillium*, 23 colonias de *Cladosporium*, 5 colonias de levaduras, 3 colonias de *Aspergillus*, 3 colonias de *Mucor*, 2 colonias de *Paecilomyces* y 1 colonia de *Fusarium*.



Figura 22: Muestra representativa de las colonias fúngicas en agar DRBC (punto 2 y repetición 1, del 14 de enero del 2015).

Se observa el crecimiento de 17 colonias de *Penicillium*, 10 colonias de *Cladosporium*, 3 colonias de *Aspergillus*, 2 colonias de *Mucor*, 2 colonias de *Alternaria* y 2 colonias de *Fusarium*.

Tabla 22: Recuento de esporas fúngicas por género y punto de muestreo.

GÉNERO	PUNTOS DE MUESTREO											Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
<i>Penicillium</i>	194	270	178	380	178	300	334	235	250	188	711	3218
<i>Cladosporium</i>	46	69	38	111	82	91	66	90	83	64	271	1011
<i>Paecilomyces</i>	18	14	14	36	36	28	42	28	21	17	19	273
<i>Mucor</i>	3	1	5	14	10	7	12	4	4	2	25	96
<i>Alternaria</i>	2	1	4	4	4	8	7	4	2	4	14	54
<i>Aspergillus</i>	2	5	0	6	3	9	1	3	3	1	33	66
<i>Fusarium</i>	3	4	3	12	1	12	12	6	8	6	0	67
Levaduras	7	14	8	12	9	14	6	15	8	10	1	104
Otros	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	8	9
Total	275	387	250	575	323	469	481	385	379	292	1082	4898

FUENTE: Elaboración propia.

Tabla 23: Recuento de esporas fúngicas por género y punto de muestreo expresados en UFC/m³.

GÉNERO	PUNTOS DE MUESTREO											Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
<i>Penicillium</i>	1940	2700	1780	3800	1780	3000	3340	2350	2500	1880	7110	32180
<i>Cladosporium</i>	460	690	380	1110	820	910	660	900	830	640	2710	10110
<i>Paecilomyces</i>	180	140	140	360	360	280	420	280	210	170	190	2730
<i>Mucor</i>	30	100	50	140	100	70	120	40	40	20	250	960
<i>Alternaria</i>	20	10	40	40	40	80	70	40	20	40	140	540
<i>Aspergillus</i>	20	50	0	60	30	90	10	30	30	10	330	660
<i>Fusarium</i>	30	40	30	120	10	120	120	60	80	60	0	670
Levaduras	70	140	80	120	90	140	60	150	80	100	10	1040
Otros	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	80	90
Total	2750	3870	2500	5750	3230	4690	4810	3850	3790	2920	10820	48980

FUENTE: Elaboración propia.

De la **Tabla 23** también se puede apreciar las concentraciones fúngicas por género obtenidas al exterior del ambiente de estudio, donde se observó *Penicillium* (7110 UFC/m³), *Cladosporium* (2710 UFC/m³) y en menor medida *Aspergillus* (330 UFC/m³), *Mucor* (250 UFC/m³), *Paecilomyces* (190 UFC/m³) y *Alternaria* (140 UFC/m³). Debido a que la dispersión de las esporas fúngicas en el ambiente exterior está directamente relacionada con la velocidad y la dirección del viento (Mediavilla *et al.*, 1998), el origen de estos géneros puede ser explicado mediante la representación gráfica de la rosa de vientos (ver **Figura 23**), en donde se muestra la información de viento superficial de un lapso de 24 horas dentro de los días de muestreo, y se determinó que la dirección predominante del viento para la zona de estudio fue OESTE, lo que significa que el viento provenía de esa dirección y se dirigía hacia el ESTE, con una velocidad promedio de 1.5 m/s. Esta información junto con la del mapa de ubicación de la planta de AJEPER S.A. (ver **Figura 18**) nos permitió corroborar que el viento pasa por los campos de cultivo ubicados al oeste de la planta, llevando consigo las esporas y las fracciones de los diferentes tipos de hongos existentes en esos terrenos hacia el ambiente de estudio.

Además, la presencia de estos géneros en el ambiente exterior concuerda con lo mencionado por Burge (1990), en que *Alternaria* y *Cladosporium* provienen de materia vegetal en descomposición, mientras que *Penicillium* de materia orgánica y húmeda, así como también del almacenamiento de frutas cítricas (Crook y Swan, 2002). Las especies del género *Aspergillus* son saprobios ubicuos en la naturaleza y pueden subsistir en el suelo, la vegetación en descomposición, y las obras de construcción (Murray *et al.*, 2009). Lacey y Dutkiewicz (1994) indicaron que *A. fumigatus*, es común en el compostaje de residuos municipales. Crook y Swan (2002) indicaron que los géneros *Mucor* y *Paecilomyces* eran predominantes en las actividades de compostaje de cortezas vegetales.

El hecho que el área alrededor de la planta de AJEPER S.A. se encuentre rodeada de zonas agrícolas explica la diversidad fúngica encontrada en el ambiente exterior del sitio de estudio. Basílico *et al.* (2007) encontraron en zonas rurales mayores concentraciones y diversidad fúngica debido a las actividades agrícolas y ganaderas que en ellas se realizan. Se sabe que la variedad de estas especies de hongos y su concentración dependen de factores como la localización geográfica, fuentes cercanas de generación de esporas, el

grado de urbanización entre otras variables (Lacey, 1981; Burge, 1990; Lacey y Dutkiewicz, 1994; Sterling y Lewis, 1998; Matthias-Maser *et al.*, 2000; Aira *et al.*, 2002; La-Serna *et al.*, 2002; Bartra, 2003; Frisón *et al.*, 2012).

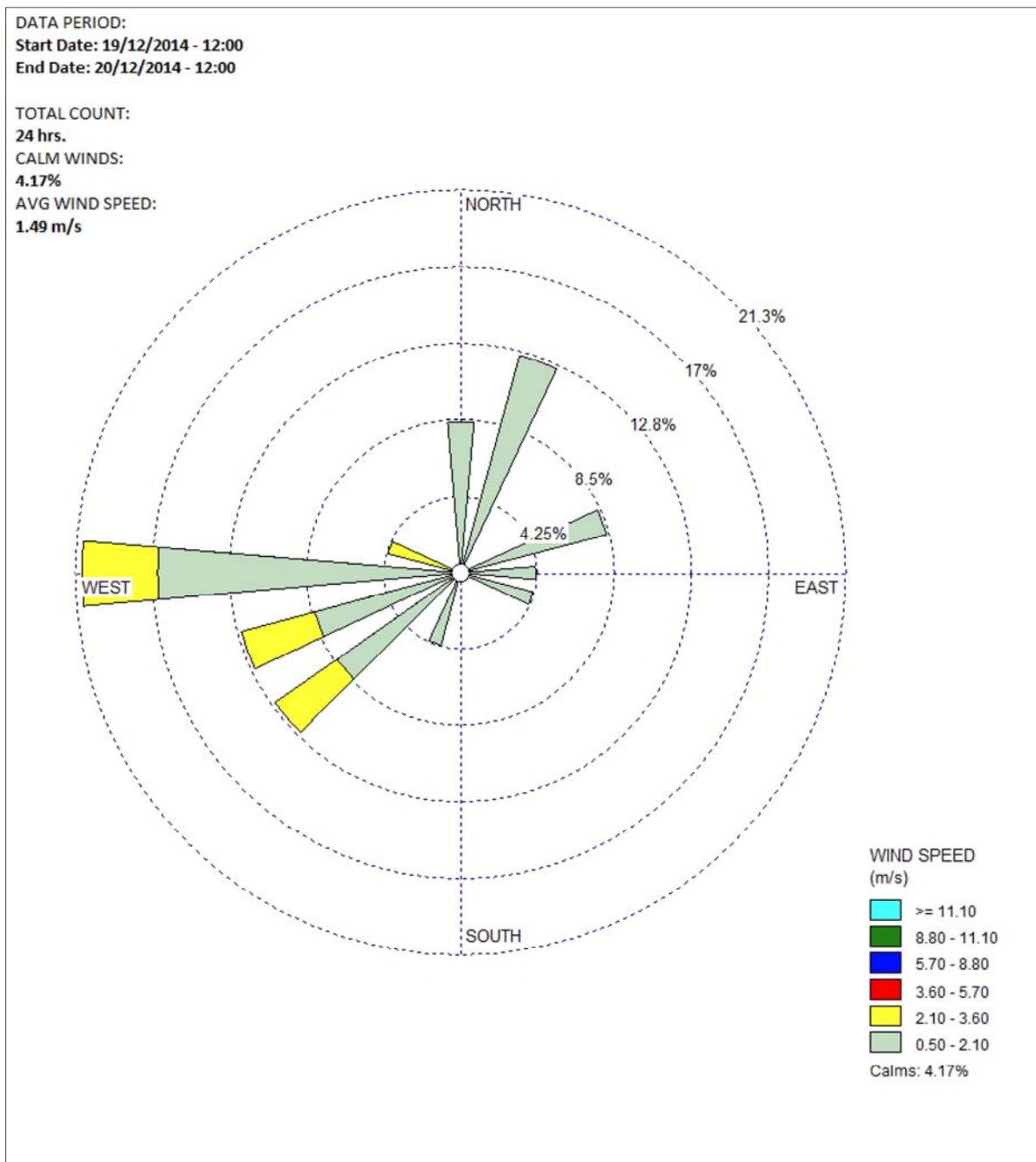


Figura 23: Representación gráfica de la rosa de vientos (19/12/2014 – 20/12/2014).

FUENTE: Elaboración propia mediante el software WRPLOT View 7.0.0.

En la **Tabla 24** y en la **Figura 24** se aprecian las frecuencias relativas de los géneros fúngicos encontrados en todos los puntos de muestreo. Se encontró que el género encontrado con mayor frecuencia en todos los puntos fue *Penicillium* (65.70 por ciento), seguido de *Cladosporium* (20.64 por ciento) y en menor medida de *Paecilomyces* (5.57 por ciento), levaduras (2.12 por ciento), *Mucor* (1.96 por ciento), *Fusarium* (1.37 por ciento), *Aspergillus* (1.35 por ciento) y *Alternaria* (1.10 por ciento). Kuo y Li (1994), al analizar ambientes interiores y exteriores en Taipei, de clima subtropical, mencionaron que *Penicillium* fue el género aislado con mayor frecuencia, encontrándose en 70 por ciento de las muestras tanto en el interior como en el exterior. Los porcentajes de ocurrencia de *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Paecilomyces*, *Alternaria*, *Fusarium* y *Curvularia* fueron de 33, 24, 12, 10, 8 y 7 por ciento respectivamente durante todo el año. Adicionalmente observaron que *Penicillium* fue el hongo aislado con mayor frecuencia a lo largo del año, con una menor aparición en otoño, mientras que en el caso de *Cladosporium*, la mayor frecuencia fue observada durante el verano y estuvo ausente en el invierno.

En la **Tabla 25** y la **Figura 26** se observan las frecuencias totales de los géneros encontrados al interior del ambiente del estudio y al exterior de éste. Se descubrió que los géneros que se aislaron con mayor frecuencia en el interior fueron *Penicillium* (65.70 por ciento), *Cladosporium* (19.39 por ciento) y *Paecilomyces* (6.66 por ciento). Basílico *et al.* (2007) quienes examinaron 49 casas en la ciudad de Santa Fe (Argentina) durante un año, determinaron que el género mayormente encontrado en el ambiente interior fue *Cladosporium*, con una frecuencia de 58.90 por ciento. Palmas y Meloni (1997), cuyo estudio se realizó al interior de una fábrica familiar que producía productos cárnicos sazonados en Italia, encontraron que los géneros prevalentes dentro de todas las áreas de la fábrica fueron *Penicillium*, *Mucor* y *Aspergillus* en el caso de los hongos filamentosos, mientras que en las levaduras se encontraron algunas especies de *Candida* durante el ciclo de producción del jamón y *Criptomococcus* durante el ciclo de producción de salchicha.

Tabla 24: Frecuencias relativas de las esporas fúngicas por género y por punto de muestreo, expresadas en porcentaje (%).

GÉNERO	PUNTOS DE MUESTREO											Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
<i>Penicillium</i>	3.96	5.51	3.63	7.76	3.63	6.12	6.82	4.80	5.10	3.84	14.52	65.70
<i>Cladosporium</i>	0.94	1.41	0.78	2.27	1.67	1.86	1.35	1.84	1.69	1.31	5.53	20.64
<i>Paecilomyces</i>	0.37	0.29	0.29	0.73	0.73	0.57	0.86	0.57	0.43	0.35	0.39	5.57
<i>Mucor</i>	0.06	0.20	0.10	0.29	0.20	0.14	0.24	0.08	0.08	0.04	0.51	1.96
<i>Alternaria</i>	0.04	0.02	0.08	0.08	0.08	0.16	0.14	0.08	0.04	0.08	0.29	1.10
<i>Aspergillus</i>	0.04	0.10	0.00	0.12	0.06	0.18	0.02	0.06	0.06	0.02	0.67	1.35
<i>Fusarium</i>	0.06	0.08	0.06	0.24	0.02	0.24	0.24	0.12	0.16	0.12	0.00	1.37
Levadura	0.14	0.29	0.16	0.24	0.18	0.29	0.12	0.31	0.16	0.20	0.02	2.12
Otros	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.16	0.18
Total	5.61	7.90	5.10	11.74	6.59	9.58	9.82	7.86	7.74	5.96	22.09	100.00

FUENTE: Elaboración propia.

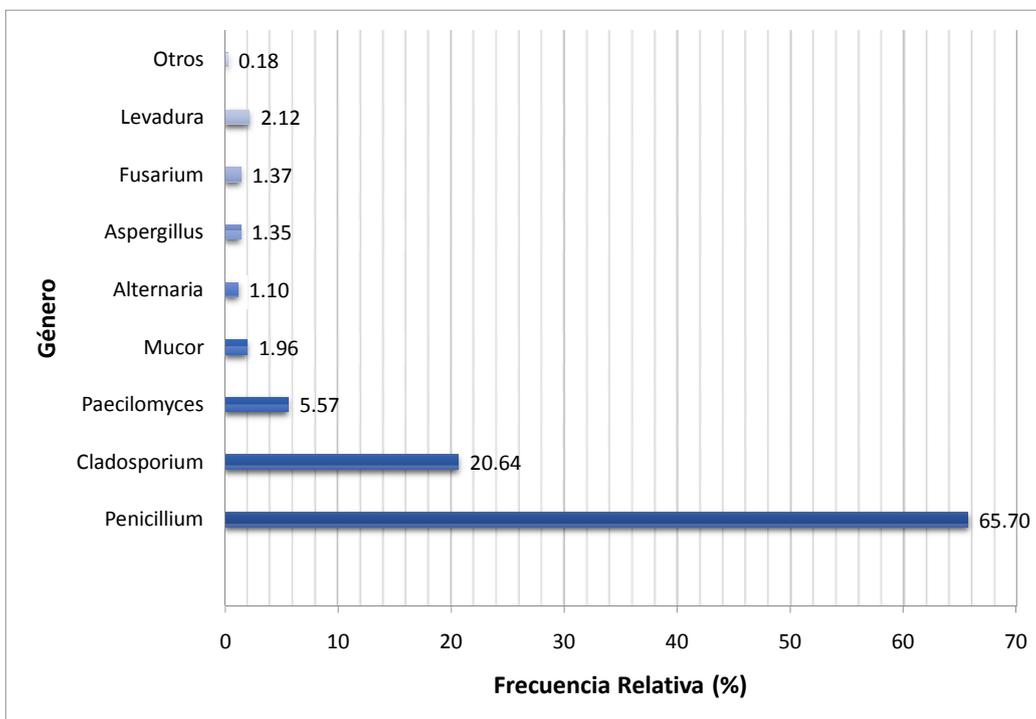


Figura 24: Frecuencias relativas de las esporas fúngicas totales por género, expresadas en porcentaje (%).

FUENTE: Elaboración propia.

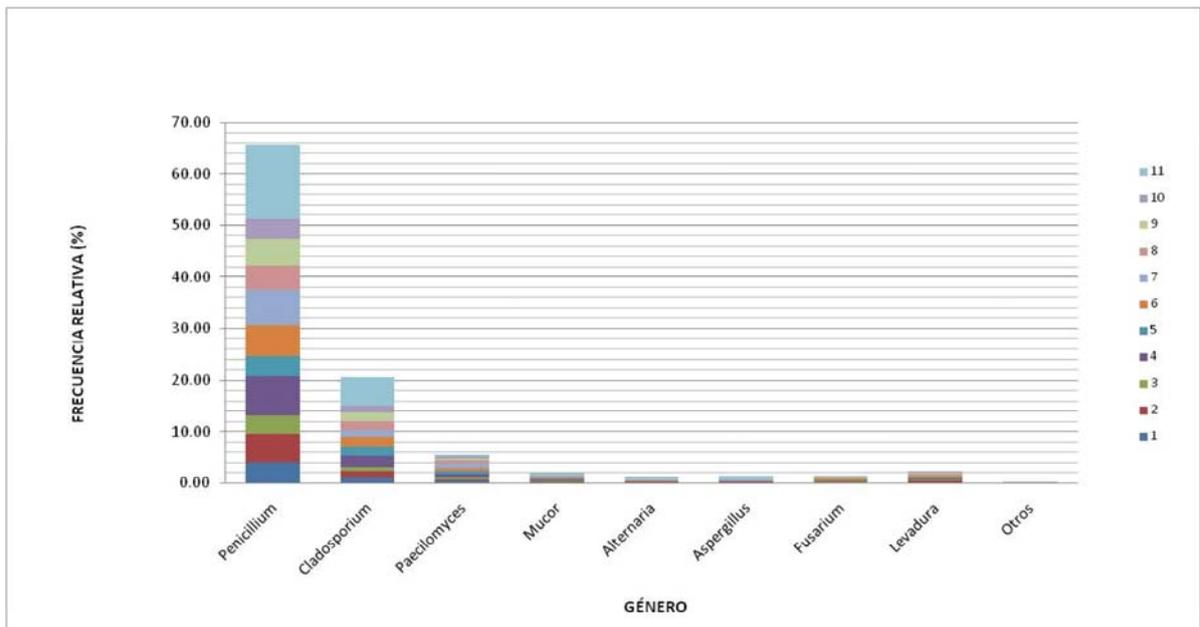


Figura 25: Frecuencias relativas de las esporas fúngicas por género y por punto de muestreo, expresadas en porcentaje (%). FUENTE: Elaboración propia.

Tabla 25: Frecuencias totales de los géneros fúngicos al interior y al exterior del área de estudio, expresadas en porcentaje (%).

GÉNERO	Puntos interiores (1-10)	Punto exterior (11)
<i>Penicillium</i>	65.70	65.71
<i>Cladosporium</i>	19.39	25.00
<i>Paecilomyces</i>	6.66	1.76
<i>Mucor</i>	1.81	2.31
<i>Alternaria</i>	1.05	1.29
<i>Aspergillus</i>	0.86	3.05
<i>Fusarium</i>	1.76	0.00
Levadura	2.70	0.09
Otros	0.03	0.74
Total	100.00	100.00

FUENTE: Elaboración propia.

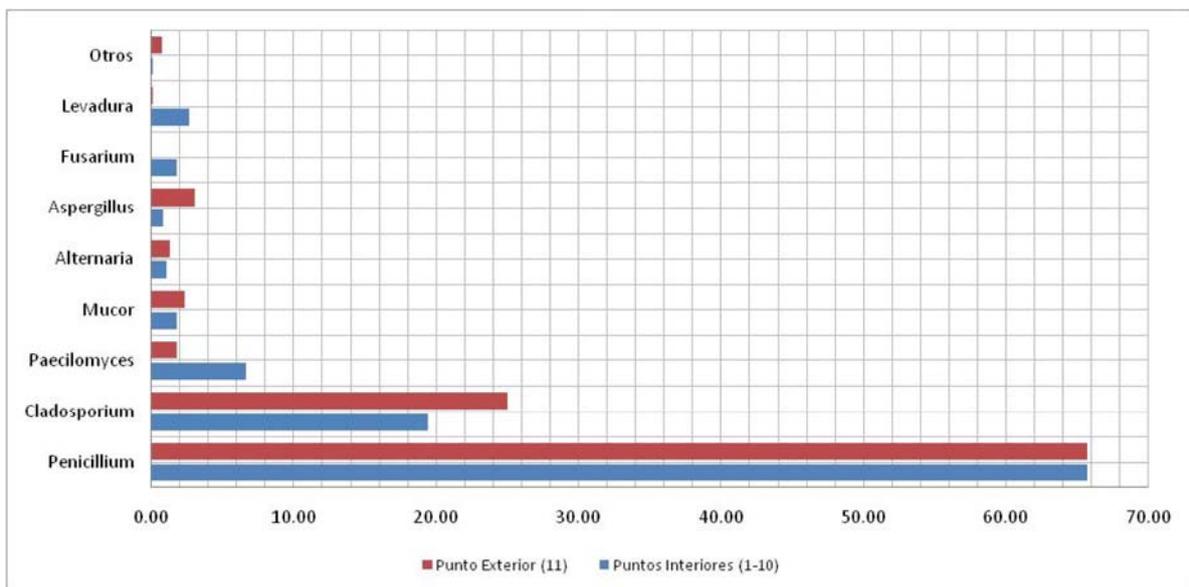


Figura 26: Frecuencias totales de los géneros fúngicos al interior y al exterior del área de estudio, expresadas en porcentaje (%).

FUENTE: Elaboración propia.

En la **Tabla 26**, se muestran los resultados del recuento de los diferentes géneros fúngicos encontrados en todo el periodo de muestreo. Esto nos permitió verificar en cuál de los 12 días de muestreo, en los dos meses respectivos, se encontraron las mayores cantidades de colonias para cada género de hongo y además la abundancia de cada género por día comparada con el total de las colonias de ese género encontradas en todo el periodo de muestreo, expresadas en porcentaje. De esa forma, se pudo analizar en qué día existió mayor proliferación de cada género en el aire.

Se pudo apreciar que el género encontrado con mayor frecuencia fue *Penicillium*, con valores máximos de 343 y 310 colonias fúngicas, para el día once y el cuarto día, respectivamente, representando el 10.7 y 9.6 por ciento del total de las colonias encontradas en todo el periodo del muestreo para este género. En el caso de *Cladosporium*, se obtuvieron los mayores valores el primer (103 colonias) y segundo día (101 colonias), con 10.2 y 10.0 por ciento, lo mismo ocurrió con *Paecilomyces* presentándose 53 y 41 colonias (19.4 y 15.0 por ciento), respectivamente; e igualmente con *Mucor*, cuyos valores fueron 14 y 15 colonias (14.6 y 15.6 por ciento), respectivamente.

Alternaria y *Aspergillus* presentaron sus mayores valores en el primer día, con 8 colonias (14.8 por ciento) y 14 colonias (21.2 por ciento), respectivamente. *Fusarium* obtuvo un valor máximo de 7 colonias (10.4 por ciento) en el quinto, sexto y noveno día. Finalmente, las levaduras presentaron su valor máximo en el quinto día con 13 colonias (12.5 por ciento).

Cabe resaltar que para cinco géneros encontrados (*Cladosporium*, *Paecilomyces*, *Mucor*, *Alternaria* y *Aspergillus*), se obtuvieron sus mayores valores en el primer día de muestreo. Esto puede deberse a que el muestreo se realizó después del saneamiento programado de alguna de las líneas de producción dentro del área de envasado, siendo este último una actividad que genera la suspensión de grandes cantidades de esporas fúngicas en el aire.

Tabla 26: Recuento de las esporas fúngicas por género y la abundancia de cada género por fecha de muestreo expresada en porcentaje (%)

GÉNERO	Diciembre 2014								Enero 2015												Total	Total %				
	1.er día: 15	%	2° día: 17	%	3.er día: 19	%	4° día: 29	%	5° día: 2	%	6° día: 3	%	7° día: 5	%	8° día: 7	%	9° día: 9	%	10° día: 12	%			11° día: 14	%	12° día: 16	%
<i>Penicillium</i>	208	6.5	185	5.7	256	8.0	310	9.6	254	7.9	284	8.8	246	7.6	253	7.9	306	9.5	288	8.9	343	10.7	285	8.9	3218	100
<i>Cladosporium</i>	103	10.2	101	10.0	78	7.7	66	6.5	76	7.5	97	9.6	92	9.1	76	7.5	70	6.9	95	9.4	70	6.9	87	8.6	1011	100
<i>Paecilomyces</i>	53	19.4	41	15.0	37	13.6	35	12.8	22	8.1	11	4.0	6	2.2	13	4.8	12	4.4	23	8.4	12	4.4	8	2.9	273	100
<i>Mucor</i>	14	14.6	15	15.6	6	6.3	10	10.4	8	8.3	5	5.2	2	2.1	8	8.3	8	8.3	9	9.4	7	7.3	4	4.2	96	100
<i>Alternaria</i>	8	14.8	6	11.1	2	3.7	8	14.8	5	9.3	1	1.9	2	3.7	7	13.0	1	1.9	4	7.4	6	11.1	4	7.4	54	100
<i>Aspergillus</i>	14	21.2	5	7.6	9	13.6	5	7.6	3	4.5	8	12.1	5	7.6	3	4.5	4	6.1	2	3.0	3	4.5	5	7.6	66	100
<i>Fusarium</i>	6	9.0	5	7.5	6	9.0	6	9.0	7	10.4	7	10.4	4	6.0	6	9.0	7	10.4	2	3.0	7	10.4	4	6.0	67	100
Levadura	7	6.7	5	4.8	7	6.7	5	4.8	13	12.5	9	8.7	7	6.7	11	10.6	8	7.7	10	9.6	11	10.6	11	10.6	104	100
Otros	6	66.7	1	11.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	11.1	0	0.0	0	0.0	1	11.1	0	0.0	9	100

FUENTE: Elaboración propia.

Tabla 27: Desviaciones estándares de los datos del recuento de esporas fúngicas por género durante los 12 días de muestreo.

GÉNERO	1.er día: 15	2° día: 17	3.er día: 19	4° día: 29	5° día: 2	6° día: 3	7° día: 5	8° día: 7	9° día: 9	10° día: 12	11° día: 14	12° día: 16	Media	Desviación estándar
<i>Penicillium</i>	208	185	256	310	254	284	246	253	306	288	343	285	268.17	44.02
<i>Cladosporium</i>	103	101	78	66	76	97	92	76	70	95	70	87	84.25	13.12
<i>Paecilomyces</i>	53	41	37	35	22	11	6	13	12	23	12	8	22.75	15.27
<i>Mucor</i>	14	15	6	10	8	5	2	8	8	9	7	4	8.00	3.77
<i>Alternaria</i>	8	6	2	8	5	1	2	7	1	4	6	4	4.50	2.58
<i>Aspergillus</i>	14	5	9	5	3	8	5	3	4	2	3	5	5.50	3.37
<i>Fusarium</i>	6	5	6	6	7	7	4	6	7	2	7	4	5.58	1.56
Levadura	7	5	7	5	13	9	7	11	8	10	11	11	8.67	2.57
Otros	6	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0.75	1.71

FUENTE: Elaboración propia.

La **Tabla 27** muestra la desviación estándar de los datos del recuento de esporas por género durante los 12 días de muestreo. Para *Penicillium*, la variación del recuento fue de 44.02 esporas fúngicas para una media de 268.17; para *Cladosporium* la variación del recuento fue de 13.12 esporas fúngicas para una media de 84.25; para *Fusarium* la variación del recuento fue de 1.56 esporas fúngicas para una media de 5.58; para levaduras la variación del recuento fue de 2.57 esporas fúngicas para una media de 8.67 y *Mucor* tiene una variación de 3.77 para una media de 8.00. Los géneros que presentan una variabilidad de esporas fúngicas mayor al 50 por ciento con respecto a su media fueron *Paecilomyces* (15.27 de desviación estándar vs. una media de 22.75), *Aspergillus* (5.50 vs. 3.37) y *Alternaria* (2.58 vs. 4.50). Estas variaciones en el recuento de esporas se deben a que las condiciones en el ambiente de estudio son muy cambiantes y no son las mismas día tras día; por ejemplo la temperatura ambiental y la humedad relativa en el interior y al exterior de la sala de envasado, así mismo las actividades realizadas al interior de esta, como los saneamientos y mantenimientos y el mismo flujo del personal durante el proceso de producción, factores que, como se mencionó anteriormente pueden influir en la diseminación de las esporas en el aire.

Relación de la temperatura ambiental y el porcentaje de humedad relativa con la concentración fúngica en el área de estudio.

Debido a que la variedad de especies fúngicas y la concentración de esporas en el aire de los ambientes internos dependen de los factores ambientales según varios autores (Lacey, 1981; Burge, 1990; Lacey y Dutkiewicz, 1994; Sterling y Lewis, 1998; Matthias-Maser *et al.*, 2000; Aira *et al.*, 2002; La-Serna *et al.*, 2002; Bartra, 2003; Frisón *et al.*, 2012) y dentro de estos factores se incluyen la temperatura ambiental y la humedad relativa, se realizó la medición de ambas variables en este estudio. Estas han sido útiles para identificar microclimas que soporten el crecimiento fúngico (IOM, 2004). Además, se ha visto que los hongos dependen de condiciones de humedad relativa y temperatura favorables para la liberación de sus esporas al ambiente (Rosas *et al.*, 1997).

Tabla 28: Correlación de la temperatura ambiental (T_{amb}) y el porcentaje de humedad relativa (%HR) con la concentración de esporas fúngicas (UFC/m³) en cada punto de muestreo.

Puntos de muestreo	Ecuación de regresión	R ² %	Significancia del modelo (Valor-P)		
			%HR	T_{amb}	
1	$UFC/m^3 = 620 + 3.04 \%HR - 25.61 T_{amb}$	88.22	0.000	%HR	0.026
				T_{amb}	0.000
2	$UFC/m^3 = 2796 - 101.5 T_{amb}$	73.74	0.000	T_{amb}	0.000
	$UFC/m^3 = -1489 + 25.77 \%HR$	89.98	0.000	%HR	0.000
3	$UFC/m^3 = -696 - 21.97 T_{amb} + 20.29 \%HR$	87.49	0.000	%HR	0.000
				T_{amb}	0.017
4	$UFC/m^3 = 5346 - 63.1 \%HR - 12.2 T_{amb}$	42.89	0.033	%HR	0.011
				T_{amb}	0.756
5	$UFC/m^3 = 1652 - 24.28 T_{amb} - 10.59 \%HR$	46.84	0.024	%HR	0.125
				T_{amb}	0.026
6	$UFC/m^3 = 2857 - 42.8 \%HR + 27.3 T_{amb}$	53.07	0.013	%HR	0.008
				T_{amb}	0.295
7	$UFC/m^3 = -1422 + 21.14 \%HR + 11.6 T_{amb}$	62.44	0.005	%HR	0.002
				T_{amb}	0.328
8	$UFC/m^3 = -2925 + 124.4 T_{amb} + 5.02 \%HR$	52.52	0.014	%HR	0.004
				T_{amb}	0.532
9	$UFC/m^3 = -3646 + 150.5 T_{amb} + 6.22 \%HR$	86.88	0.000	%HR	0.409
				T_{amb}	0.000
10	$UFC/m^3 = -652 + 13.0 T_{amb} + 7.89 \%HR$	40.47	0.039	%HR	0.017
				T_{amb}	0.305
11	$UFC/m^3 = -4502 + 53.0 T_{amb} + 64.5 \%HR$	58.28	0.008	%HR	0.008
				T_{amb}	0.198

FUENTE: Elaboración propia.

Con el fin de determinar la asociación existente entre ambas variables y su influencia en la concentración fúngica, se realizó un análisis estadístico ingresando todos los datos obtenidos de temperatura, humedad relativa y concentración fúngica promedio que fueron tomados en simultáneo en cada punto de muestreo (interiores y exterior) y por día (ver **Anexo**). Los resultados obtenidos en todos los puntos, exceptuando el punto 2, se ajustan a una regresión lineal múltiple que describe la relación entre la concentración promedio de hongos expresada en UFC/m³ y las dos variables ambientales descritas líneas arriba, la primera expresada en grados Celsius (°C) y la segunda en porcentaje. Para el punto 2 se realizaron dos regresiones lineales simples por cada variable ambiental, ya que ambas mostraban correlación entre sí.

Como se puede observar en la **Tabla 28**, que en todos los puntos de muestreo estudiados, la significancia del análisis estadístico (Valor-P) es menor a 0.05 en una o en ambas variables, por consecuencia existe una relación significativa entre las variables independientes con la concentración de esporas fúngicas. Las ecuaciones de los modelos ajustados se muestran en la misma **Tabla 28**, donde los coeficientes explican la influencia de ambas variables sobre la concentración fúngica. El valor R² ajustado demuestra en qué porcentaje estas variables explican su efecto en la concentración de hongos.

Para el caso del punto 1, se aprecia que la temperatura ambiental (T_{amb}) tiene mayor influencia en la concentración de hongos que el porcentaje de humedad relativa (%HR), mientras que para el punto 2 y el punto 3, se pudo ver que el %HR tiene mayor influencia que la T_{amb} . Sin embargo, para los tres puntos, a medida que el %HR aumenta, la concentración fúngica también aumenta (%HR es directamente proporcional a concentración fúngica); mientras que a medida que la temperatura disminuye, la concentración fúngica aumenta (T_{amb} es inversamente proporcional a la concentración fúngica).

En los puntos 5, 8 y 9, sólo influye la temperatura en la concentración de hongos y no el %HR Sin embargo en el punto 5, a medida que la temperatura disminuye, la concentración fúngica aumenta (T_{amb} es inversamente proporcional a la concentración fúngica). En

cambio en los puntos 8 y 9, a medida que la temperatura aumenta, la concentración fúngica también aumenta (T_{amb} es directamente proporcional a la concentración fúngica).

En los puntos 4, 6, 7, 10 y el 11 (situado al exterior) sólo influye el %HR en la concentración de hongos y no la temperatura. Sin embargo en los puntos 4 y 6, a medida que el %HR disminuye, la concentración fúngica aumenta (%HR es inversamente proporcional a la concentración fúngica). En cambio en los puntos 7, 10 y 11, a medida que el %HR aumenta, la concentración fúngica también aumenta (%HR es directamente proporcional a la concentración fúngica).

Analizando en conjunto la influencia de ambas variables ambientales en la concentración de esporas fúngicas en todos los puntos, se puede ver que no hay una tendencia marcada. En algunos puntos influyen ambas variables a la vez y en los otros puntos solamente una de ellas. Además, sus efectos sobre la concentración de esporas no es el mismo, ambas pueden afectar tanto directamente como inversamente a la concentración fúngica. Probablemente la tendencia sería mucho más marcada si se hubieran aumentado los días de muestreo.

El hecho que no haya una tendencia marcada en la influencia de las variables seleccionadas, también puede deberse a que hay muchas otras variables dentro del ambiente de estudio que no fueron consideradas en el análisis y que quizás hayan podido tener mayor influencia que la humedad relativa y la temperatura en los puntos muestreados, como la cantidad y el movimiento de los operarios, las actividades que se estaban realizando dentro del área, la limpieza de la zona, cercanía a equipos móviles y a motores, sistemas de ventilación con poco mantenimiento o mal diseñadas, etc. (EHEDG, 2006); además el área de envasado es grande y no está dividida, las actividades o las condiciones cercanas a un punto de muestreo pueden afectar a los otros puntos en diferentes grados, como ya se mencionó anteriormente. Esto también podría explicar el porqué las variables ambientales analizadas se correlacionan en el punto 2 del muestreo, debido a que puede estar siendo afectado por muchas otras variables, ya que se ubica cerca a una rejilla de expulsión del sistema de ventilación y a una puerta que no cuenta con presión positiva.

Además, es importante tomar en cuenta lo mencionado por los autores sobre la actividad del agua (a_w), que es considerada como el factor físico principal del desarrollo fúngico, por encima de la temperatura, humedad relativa y la luz (Miller, 1992; Manzano y Mancha, 2003). Pasanen *et al.* (1991) notaron que mientras existe suficiente humedad sobre el sustrato donde se desarrollan los hongos, éstos pueden crecer a pesar que la humedad relativa del aire sea baja y que por ello la medición de la humedad relativa por sí sola no es un buen indicador de que puedan presentarse o no problemas por hongos en los ambientes interiores.

Sin embargo, en nuestro estudio se pudo observar en todos los puntos, al tomar los valores con el termohigrómetro, que a temperaturas mayores se registraban menores porcentajes de humedad relativa. Según Mediavilla *et al.* (1998), la liberación de conidios de *Cladosporium* a la atmósfera requiere de un grado de sequedad ambiental, el cual toma lugar con el incremento de la temperatura, ya que el incremento de la humedad relativa dificulta su liberación por ejemplo en épocas de lluvia, pudiendo disminuir su concentración a comparación de épocas más secas (Rosas *et al.*, 1997). En nuestro estudio, se observaron las mayores concentraciones de *Cladosporium* al interior del ambiente en los puntos 4 (1110.0 UFC/m³), punto 6 (910.0 UFC/m³), punto 8 (900.0 UFC/m³) y punto 9 (830 UFC/m³) (ver **Tabla 23**), donde se dan condiciones que propician la sequedad del ambiente. En los puntos 8 y 9, donde la T_{amb} es la única influyente, ésta tiene una relación directamente proporcional a la concentración fúngica; mientras que en los puntos 4 y 6, donde el %HR es el único influyente, éste tiene una relación inversamente proporcional a la concentración de hongos.

Resultados de la aplicación de la encuesta a los trabajadores del área de envasado.

La exposición constante de los trabajadores a los géneros fúngicos identificados con mayor frecuencia en el ambiente interior de estudio, podría traer consecuencias a corto y largo plazo en su salud. Los hongos, tanto las esporas fúngicas como las levaduras, constituyen una importante fuente de alérgenos. Un gran número de hongos han sido identificados en la literatura médica que están implicados en enfermedades alérgicas, encontrándose con mayor frecuencia a los hongos filamentosos de los géneros *Alternaria*, *Cladosporium*,

Aspergillus y *Penicillium spp.*, y levaduras como *Candida albicans*. (Wanner y Gravesen, 1993; Horner *et al.*, 1995; Latgé, 1999; Day y Ellis, 2002; De La Rosa *et al.*, 2002; Singh 2005; Jarvis y Miller, 2005).

Durante el periodo en que duró el estudio, se realizó una encuesta a un total de 19 trabajadores referente a las condiciones de trabajo en el área de envasado, donde se incluían una serie de preguntas relacionadas a las molestias o síntomas que sólo presentaban en ese ambiente interior. La encuesta contenía un listado de posibles síntomas, hacía referencia si éstos mejoraban al abandonar el área y el número aproximado de veces que esos síntomas se habían presentado en los últimos 30 días. La edad promedio de los trabajadores oscilaba entre los 30 y 40 años de edad, y llevaban laborando entre 4 y 12 años en el área.

De las 19 personas encuestadas, 10 de ellas manifestaron no presentar ninguna molestia cutánea ni respiratoria. Entre los nueve trabajadores que sí presentaron algún tipo de molestias en los ojos (sequedad, escozor o picor), la nariz (nariz tapada o sequedad), la garganta (sequedad o escozor/picor) u otros síntomas generales (dolor de cabeza, debilidad o aletargamiento) los cuales desaparecían al momento de dejar el área de trabajo, se pudo observar que en la mayoría de ellos (seis personas) sucedía más de dos veces en los últimos 30 días. Así mismo, se encontraron reclamos y comentarios en estas personas acerca del sistema de ventilación del área de envasado, el cual está mal diseñado (no es aire climatizado) y con falta de mantenimiento (ruidos extraños, suciedad en las rendijas y filtros).

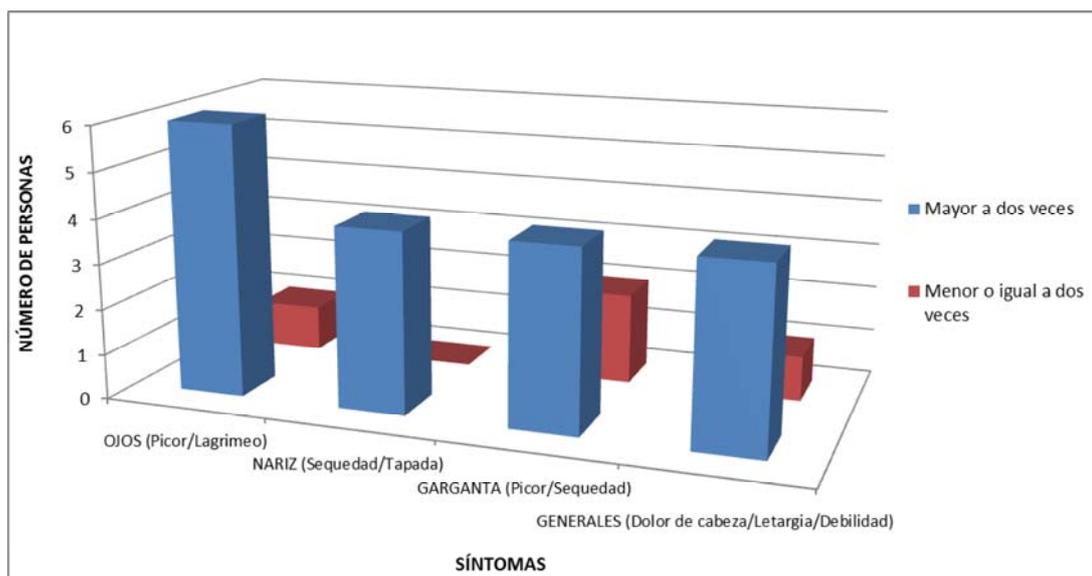


Figura 27: Frecuencia de los síntomas presentados en los últimos 30 días por los trabajadores encuestados.

FUENTE: Elaboración propia.

Como se aprecia en la **Figura 27**, los síntomas mayoritariamente se presentaron más de dos veces en el lapso de treinta días, donde el síntoma predominante fue el de molestias en los ojos, seguido por las molestias en la garganta, presentándose en menor medida las molestias en la nariz y los síntomas generales. En la **Figura 28** se muestra con mayor detalle los síntomas y el número de encuestados que los padecieron, siendo el picor de ojos (siete personas) el síntoma más recurrente. Cabe mencionar que varios de los encuestados tenían uno o más síntomas a la vez, por ejemplo algunos manifestaron picor en los ojos, nariz tapada, escozor en la garganta y dolor de cabeza (dos personas), mientras que la combinación más frecuente fue el de picor en los ojos, sequedad en la nariz y escozor en la garganta (cuatro personas).

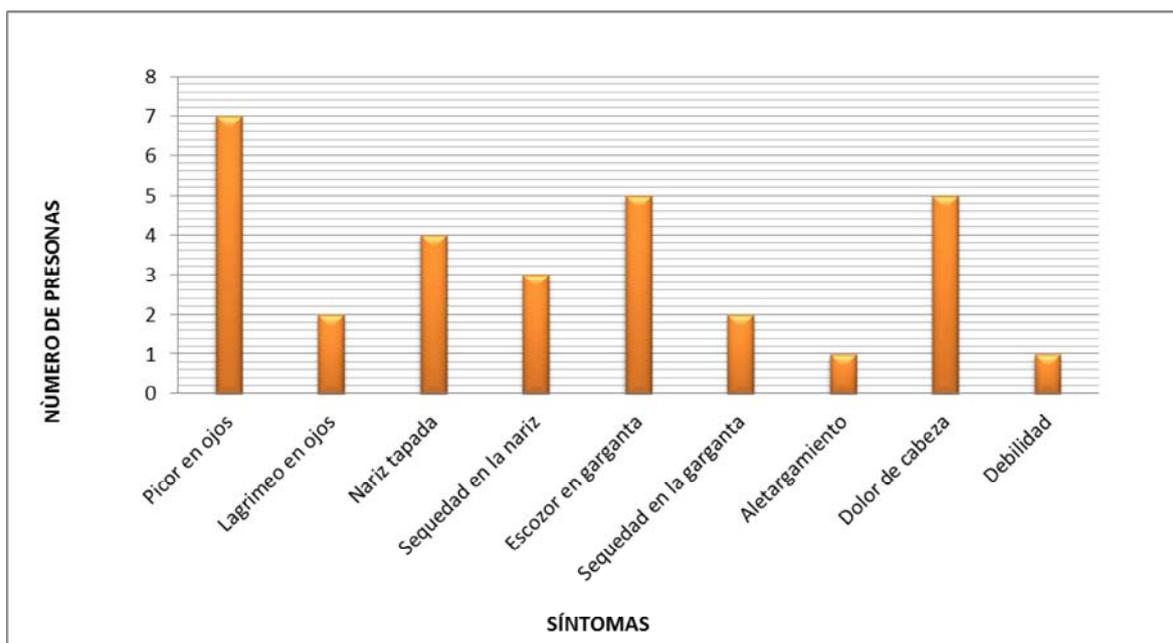


Figura 28: Detalle de los síntomas presentados por los trabajadores encuestados.

FUENTE: Elaboración propia.

Entre los géneros encontrados dentro del ambiente de estudio, la gran mayoría son alérgenos para las personas hipersensibilizadas. Bartra (2003) indicó que las concentraciones elevadas de estos hongos en el ambiente interior y superiores a las del ambiente exterior son las que suelen inducir a una sensibilización en las personas. Sin embargo, según se pudo apreciar en la **Tabla 21** sobre la concentración de esporas fúngicas por fecha y punto de muestreo, a pesar que en ningún punto de muestreo al interior se presentaron concentraciones de esporas superiores a las del exterior (punto 11), casi la mitad de los trabajadores encuestados manifestaron algún síntoma de alergia.

Penicillium ha sido implicado en casos de rinitis alérgica, sinusitis fúngica alérgica y de eczema (Day y Ellis, 2002). También es una causa común de asma extrínseca. Además puede causar neumonitis por hipersensibilidad y alveolitis alérgica en individuos susceptibles, colonizando las vías respiratorias de pacientes con alergias respiratorias y producir reactividad cutánea, dependiendo de la especie.

Cladosporium ha sido implicado en el desarrollo de alergia, asma (Labarrere *et al.*, 2003), rinitis alérgica y en menor medida de eczema (Day y Ellis, 2002) y dermatitis alérgica (Flannigan, 1998).

Fusarium ha sido asociado a diferentes alergias como el asma, la sinusitis fúngica alérgica, la enfermedad broncoalveolar alérgica y la rinitis perenne (Pontón *et al.*, 2002; Day y Ellis, 2002; Labarrere *et al.*, 2003). El género *Mucor* ha sido implicado en la rinitis alérgica (Day y Ellis, 2002).

Alternaria es un género capaz de inducir reacciones alérgicas a muy bajas concentraciones en individuos sensibilizados (Pontón *et al.*, 2002; Day y Ellis, 2002). La exposición a las esporas en aquellos individuos está asociada con episodios severos de asma (Pontón *et al.*, 2002), ha sido implicada en la rinitis alérgica y en menor grado en la dermatitis alérgica (Flannigan, 1998; Day y Ellis, 2002).

La inhalación de conidios del género *Aspergillus* puede provocar reacciones como la aspergilosis broncopulmonar alérgica, la rinitis alérgica, la sinusitis alérgica, la alveolitis alérgica extrínseca (Pontón y Cabañes, 2000; Day y Ellis, 2002) y en menor medida la dermatitis alérgica (Flannigan, 1998). En la sinusitis alérgica, los indicios de hipersensibilidad se acompañan de síntomas en las vías respiratorias superiores de obstrucción nasal, rinorrea, cefaleas y dolor facial (Murray *et al.*, 2009). La gran mayoría de los asmáticos muestran evidencias de sensibilización a especies de *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*.

En el caso del género *Paecilomyces* se ha reportado que es un hongo productor de micotoxinas, al igual que *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium* (productor de fumonisinas) y *Aspergillus* (productor de aflatoxinas) (Sorenson, 2002).

En el caso de las levaduras, el género *Candida* ha sido implicado en rinitis alérgica y se ha sugerido que *Candida albicans* es causante de la urticaria crónica con una duración mayor a seis semanas (Day y Ellis, 2002).

Sin embargo, la gran mayoría de estos géneros difícilmente generan micosis en personas inmunocompetentes. Entre los géneros capaces de producir micosis oportunistas y que podrían representar un peligro para la salud de las personas se encuentra *Aspergillus*, causante de las aspergilosis, que engloban un amplio abanico de enfermedades dependiendo de la especie, como infecciones en la piel, infecciones pulmonares, y comúnmente infecciones fúngicas en los ojos y oídos (Labarrere *et al.*, 2003; Murray *et al.*, 2009). En el caso de las levaduras, *Candida albicans* es la especie más conocida causante de micosis oportunistas y según se trate de personas inmunocompetentes o inmunocomprometidas, las infecciones pueden abarcar desde la enfermedad mucosa y cutánea superficial (ej. ingle, axilas, espacios interdigitales de los pies, pliegues mamarios) hasta la diseminación hematógena extensa con afectación de órganos como el hígado, el bazo, el riñón, el corazón y el cerebro (Murray *et al.*, 2009).

Los síntomas encontrados tras la aplicación de la encuesta, podrían corresponder a enfermedades como la rinoconjuntivitis alérgica (irritación o inflamación de la membrana mucosa en la nariz, acompañado de picor y enrojecimiento ocular), el asma (obstrucción reversible de las vías aéreas, inflamación de las mucosas bronquiales y falta de aire), el eczema (erupción cutánea pruriginosa) y posiblemente algunos casos de neumonitis por hipersensibilidad (síntomas de dolor de cabeza, artralgia, malestar, letargia y tos) que son producidas por los géneros fúngicos hallados con mayor frecuencia (ver **Tabla 25** y **Figura 26**) y en mayores concentraciones (ver **Tabla 23**) al interior del ambiente como *Penicillium* y *Cladosporium*.

Asimismo, los géneros fúngicos mayormente aislados en el exterior fueron *Penicillium* (65.71 por ciento), *Cladosporium* (25 por ciento), *Aspergillus* (3.05 por ciento) y *Mucor* (2.31 por ciento). Esto concuerda por lo mencionado por Miller *et al.* (1988) en un estudio que involucraba 50 casas canadienses durante el invierno de 1986, quienes aseguraron que *Penicillium* fue el género más frecuente en el aire interior, seguido por *Cladosporium*, *Alternaria* (encontrada sólo en una vivienda) y *Aspergillus*. Cooley *et al.* (1998), en un estudio durante veintidós meses en 48 escuelas en EE.UU. donde se presentaron inquietudes acerca de la CAI y la salud de los ocupantes, observaron que cinco géneros fúngicos fueron consistentemente encontrados en el aire exterior y comprendían más del 95 por ciento de la diversidad al exterior, los cuales fueron *Cladosporium* (81.5 por ciento),

Penicillium (5.2 por ciento), *Chrysosporium* (4.9 por ciento), *Alternaria* (2.8 por ciento), y *Aspergillus* (1.1 por ciento).

Sin embargo, todos estos síntomas presentados por los trabajadores también podrían referirse a otros factores no analizados en el presente estudio como la utilización de productos químicos en el saneamiento del área de envasado. Una de esas actividades consiste en la desinfección de las máquinas tres veces por semana utilizando el producto Divosan Forte en dilución, que es una mezcla compuesta de peróxido de hidrógeno, ácido acético y ácido peracético. Según la ficha de datos de seguridad del producto, esta sustancia puede irritar las vías respiratorias al ser inhalado, lo que podría causar molestias similares a las reacciones alérgicas producidas por hongos en personas sensibles a este químico.

V. CONCLUSIONES

Se evidenció que el interior del área de envasado es un ambiente favorable para el desarrollo de hongos, lo que fue observado en los 10 puntos representativos al interior del ambiente de estudio. En el ambiente interior, se encontraron las mayores concentraciones totales durante los 12 días de muestreo en el punto 4 (6220 UFC/m³), punto 7 (5160 UFC/m³) y punto 6 (5090 UFC/m³). Los niveles de concentración fúngica encontrados dentro de este ambiente calificaron entre “intermedio” y “alto” en las referencias para ambientes interiores no industriales.

La Planta Huachipa de AJEPER S.A. se encuentra ubicada alrededor de huertas, centros recreacionales, áreas de uso agrícola y pecuaria y de locales industriales. Estas zonas se encuentran al oeste del área de estudio y el viento predominante, según la rosa de vientos, proviene de esa dirección; lo que explica el origen de la mayoría de los géneros fúngicos.

Los géneros fúngicos que pudieron aislarse en los 11 puntos de muestreo dentro de AJEPER S.A. Planta Huachipa durante los meses de diciembre del 2014 y enero del 2015 fueron un total de ocho. Los principales géneros fúngicos que fueron encontrados con mayor frecuencia al interior del área de envasado fueron *Penicillium* (65.70 por ciento), *Cladosporium* (19.39 por ciento), *Paecilomyces* (6.66 por ciento), levaduras (2.70 por ciento), *Mucor* (1.81 por ciento), *Fusarium* (1.76 por ciento), *Aspergillus* (1.35 por ciento) y *Alternaria* (1.10 por ciento).

El análisis estadístico fue capaz de describir el efecto de la temperatura ambiental y el porcentaje de humedad relativa sobre la concentración de esporas, lo cual demuestra que existen condiciones ambientales dentro del área de envasado que favorecerían el desarrollo fúngico.

Los resultados de la encuesta aplicada a los trabajadores evidenciaron que la mayoría de ellos manifestaron síntomas similares a la rinitis alérgica, asma alérgica y otras hipersensibilidades causadas por hongos ambientales. Los géneros fúngicos hallados dentro del ambiente de estudio son considerados alérgenos en la literatura y por lo tanto pueden representar un riesgo a la salud de los operarios que laboran al interior de ella, debido a que están constantemente expuestos a sus esporas. Sin embargo, estos síntomas también podrían darse por la exposición frecuente a los vapores de las sustancias químicas utilizadas en las actividades de saneamiento del área de envasado en las personas sensibles, a pesar de ser aplicadas en concentraciones muy pequeñas. Por tanto, no es posible establecer con total certeza una relación directa de causa – efecto entre los hongos presentes en el ambiente de estudio y las molestias de los trabajadores.

VI. RECOMENDACIONES

Debido a que los niveles fúngicos totales más altos se encontraron en los puntos de muestreo debajo de las rendijas de expulsión del aire del sistema de ventilación, probablemente éste no funcione adecuadamente y en su interior podrían darse condiciones para el crecimiento de hongos. Es necesaria una mayor frecuencia en la revisión y mantenimiento del sistema y sus filtros con el fin de reducir la proliferación de hongos y la diseminación de esporas en el ambiente interior.

Igualmente se encontraron niveles fúngicos altos en los puntos cercanos a los motores de los equipos de envasado, dado que producen movimiento y expulsión de aire caliente, suspendiendo una gran cantidad de esporas fúngicas. Se aconseja también en este caso una mayor frecuencia en la limpieza de esta maquinaria para disminuir la dispersión de los hongos.

Se recomienda que en las actividades de saneamiento y durante el propio proceso de envasado se procure mantener los pisos, las mayólicas de las paredes y los techos secos sin gotas de condensación, ya que sobre estas superficies, si existe una disponibilidad de agua óptima, se podrían formar películas que propicien el crecimiento fúngico.

Durante el periodo de muestreo, se observó que las puertas del área no se mantenían cerradas todo el tiempo y que el tránsito del personal de otras áreas e incluso de personal tercero era muy común, a pesar de ser un área crítica. Se deberían tener las puertas cerradas todo el tiempo para evitar el intercambio de aire entre el exterior y el interior que favorece la presencia de esporas fúngicas dentro del área de estudio. Además se debería permitir el ingreso solamente al personal autorizado y con indumentaria de trabajo, para reducir el ingreso de las esporas provenientes del exterior.

Dado que el viento transporta las esporas fúngicas de los terrenos alrededor de la planta hacia el área de envasado, también se debió tener en cuenta la dirección predominante de éste en el diseño de la planta, especialmente en la ubicación de las puertas, para minimizar el riesgo de contaminación del aire al interior del ambiente de estudio.

Con el fin de asegurar la representatividad estadística y observar una tendencia más marcada en la relación entre la concentración de esporas fúngicas y las variables de temperatura ambiental y porcentaje de humedad relativa, hubiera sido más recomendable aumentar las repeticiones por punto o los días de muestreo. También se aconsejaría considerar otras variables en el estudio que probablemente tenían una mayor influencia sobre los niveles fúngicos como la cantidad de operarios en la sala, el tipo de actividades que se realizaban en el área en el momento de la toma de muestras, el estado de limpieza de los sistemas de ventilación, el funcionamiento de las maquinarias, etc.

Con el objeto del control de la calidad del aire ambiental por parte de AJEPER S.A., se recomendaría realizar este tipo de estudio periódicamente, con una frecuencia mensual, debido a los altos niveles presentados.

El presente trabajo fue de tipo cuantitativo y cualitativo, en donde se identificaron diferentes géneros de hongos entre los cuales se incluyen patógenos, y sería aconsejable que puedan realizarse estudios similares para las otras salas de envasado e inclusive para las oficinas que se encuentran dentro de las instalaciones de la empresa. Asimismo, no se pudieron identificar las levaduras en esta oportunidad, sin embargo, hubiera sido interesante determinar los géneros predominantes, ya que algunos pueden producir enfermedades como la candidiasis que causan desde infecciones superficiales hasta mortales.

Una recomendación muy importante es que los resultados hallados en este trabajo se tomen en cuenta y motiven estudios posteriores en otros ambientes interiores industriales y que además sean un punto de referencia para la elaboración de una futura normativa sobre calidad de aire industrial en el Perú, a causa de la relevancia que tiene el conocimiento de

las concentraciones fúngicas y los géneros fúngicos presentes en el aire para la vigilancia de la salud y la comodidad de las personas que laboran dentro de esos ambientes.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). 1989. Guidelines for the Assessment of Bioaerosols in the Indoor Environment. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Cincinnati, OH, US. 100 p.
- AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación). 2005. UNE 100012:2005, Higienización de sistemas de climatización. AENOR. Madrid, ES. 26 p.
- AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación). 2012. UNE 171340:2012 Validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales. AENOR. Madrid, ES. 34 p.
- AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación). 2014. UNE 171330-2:2014. Calidad ambiental en interiores. Parte 2: Procedimientos de inspección de calidad ambiental interior. AENOR. Madrid, ES. 18 p.
- AFNOR (Association Française de Normalisation). 2013. NF S90-351 Établissements de santé - Zones à environnement maîtrisé - Exigences relatives à la maîtrise de la contamination aéroportée. AFNOR. La Plaine Saint-Denis, FR.
- Aira, MJ.; Rojas, TI y Jato, V. 2002. Fungi associated with three houses in Havana (Cuba). Grana, 41:114-118.

- AIHA (American Industrial Hygiene Association, US). 2011. Facts about Mold (en línea). Consultado 20 abr. 2015. Disponible en <https://www.aiha.org/get-involved/VolunteerGroups/Documents/BiosafetyVGFactsAbout%20MoldDecember2011.pdf>.
- Alexopoulos, CJ; Mims, CW y Blackwell, M. 1996. Introductory Mycology. 4 ed. John Willey & Sons Inc. New York, US. 880 p.
- ANVISA (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, BR). 2003a. Resolução - RE nº 9, de 16 de janeiro de 2003. Orientação técnica revisada contendo padrões referenciais de qualidade de ar interior em ambientes de uso público e coletivo, climatizados artificialmente (en línea). Consultado 15 ago 2015. Disponible en http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d094d3004e5f8dee981ddcd762e8a5ec/Resolucao_RE_n_09.pdf?MOD=AJPERES
- ANVISA (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, BR). 2003b. Consulta Pública nº 109, de 11 de dezembro de 2003. Orientação técnica referente a indicadores de qualidade do ar interior em ambientes de serviços de saúde. (en línea). Consultado 15 ago 2015. Disponible en <http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B6046-1-0%5D.PDF>
- ANVISA (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, BR). 2010. Resolução-RDC nº17/2010 Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Brasilia. 50 p.
- APHA (American Public Health Association), 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22 ed. American Public Health Association, Washington, DC, US. 1496 p.
- Arenas, R. 2011. Microbiología Médica Ilustrada. 4 ed. McGraw Hill. México DF. 436 p.

- Asher, MI; Montefort S, Björkstén, B; Lai, CK; Strachan DP; Weiland, SK y Williams, H. 2006. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet*, 368(9537):733-43.
- Atlas, RM y Bartha, R. 1998. *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*. 4 ed. Benjamin/Cummings Science Publishing. Menlo Park, CA, US. 694 p.
- Atlas, RM. y Bartha, R. 2002. *Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental*. 4 ed. Addison Wesley. Madrid, ES. 696 p.
- Ayerst, G. 1969. The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi. *J. Stored Prod. Res.*, 5:127–141.
- Bartra, T. 2003. Mapa fúngico y estudio multicéntrico de sensibilización a hongos en Cataluña. *Alergol. Inmunol. Clin.*, 18:106-121.
- Basílico, M; Aríngoli, E, Chiarveti, J y Basílico, JC. 2002 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. *FABICIB*, 6:83-88.
- Basílico, M, Chiericatti, C, Aríngoli, E, Althaus, R y Basílico, JC. 2007. Influence of environmental factors on airborne fungi in houses of Santa Fe City, Argentina. *Sci. Total Environ.*, 376:143-150.
- Beuchat, LR. 1992. Media for detecting and enumerating yeast and molds. *Int. J. Food Microbiol.*, 17(2):145-158.

- Beuchat, L y Deak, T. 2012. Culture Media for Detecting and Enumerating Yeast and Moulds. En: J.E.L. Corry, G.D.W. Curtis y R.M. Baird (eds). Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology, 3 ed. RSC Publishing. Cambridge, UK. p. 557-595.
- Bornehag. CG; Blomquist, G; Gyntelberg, F; Jarvholm, B; Malmberg, P; Nordvall, L; Nielsen, A; Pershagen, G y Sundell, J. 2001. Dampness in buildings and health. Nordic Interdisciplinary Review of the Scientific Evidence on Associations between Exposure to “Dampness” in Buildings and Health effects (NORDDAMP). *Indoor Air*, 11:72-86.
- Bovallius, A; Butch, B; Roffey, R y Anas, P. 1978. Three-year investigation of the natural airborne bacterial flora at four locations in Sweden. *Appl. Environ. Microbiol.*, 35:847-852.
- Bueno, D; Silva, J y Oliver, G. 2003. Hongos ambientales en una biblioteca: un año de estudio. *Anales de Documentación*, 6:27-34.
- Burge, HA. 1990. Bioaerosols: Prevalence and health effects in the indoor environment. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 86:687-701.
- Burge, H; Pierson, D; Groves, T; Strawn, K y Mishra, S. 2000. Dynamics of airborne population in a large office building. *Current Microbiology*, 40(1):10-16.
- Burge, HP; Boise, JR; Rutherford, JA y Solomon, WR. 1977. Comparative recoveries of airborne fungus spores by viable and non-viable modes of volumetric collection. *Mycopathology*, 61:27-33.
- Buttner, MP; Willeke, K y Grinshhpun, SA. 1997. Sampling and analysis of airborne microorganisms. En: Hurst, C.J. *et al.* (eds). Manual of environmental microbiology. American Society for Microbiology. Washington, US. p. 814-826.

- Carlile, MJ; Watkinson, SC y Gooday, GW. 2001. *The Fungi*. 2 ed. Academic Press. Londres. UK. 608 p.
- Carrandi, B; De la Fuente, K; Ezpeleta, C; Ibarburu, JL; Peiro, E y Santos, JM. 2009. *Recomendaciones para la minimización de los riesgos microbiológicos asociados a las infraestructuras hospitalarias de Osakidetza*. 2 ed. Coordinación de programas de salud pública. Osakidetza (Servicio Vasco de Salud). Vitoria-Gasteiz, ES.
- Castañeda, RF. 2001. Parámetros empleados para la identificación de los hongos conidiales. Pasado y presente en la taxonomía de los Hifomices. *Rev. Protección Veg.*, 16:92-101.
- Castro, C. 2009. *Evaluación aeromicrobiológica en la calidad de aire de la zona aledaña al relleno sanitario Portillo Grande en el otoño del 2009*. Tesis Mag. Sc. CC. Amb. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. p. 35.
- Cepero, C; Restrepo, S; Franco-Molano, A; Cárdenas, M y Vargas, N. 2012. *Biología de Hongos*. Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias. Bogotá, CO. p. 3.
- Chong Neto, HJ; Rosário, NA y Solé, D. 2012. Asthma and Rhinitis in South America: How Different They are From Other Parts of the World. *Allergy Asthma Immunol Res.*, 4(2):62-7.
- Codex Alimentarius Commission. 2003. CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003 International Recommended Code of Practice – General Principles of Food Hygiene. FAO/WHO Codex Alimentarius Commission, Roma, IT.
- Comtois, P. y Marcoux, N. 1999. An indoor air model. *Aerobiologia*, 15:115-120.

- Cooley, JD; Wong, WC; Jumper, CA y Straus, DC. 1998. Correlation between the prevalence of certain fungi and sick building syndrome. *Occupational and Environmental Medicine*, 55:579-84.
- Cordell, B.; McCarthy, J. (2013). "A Case Study of Gut Fermentation Syndrome (Auto-Brewery) with *Saccharomyces cerevisiae* as the Causative Organism". *International Journal of Clinical Medicine* 04 (7): 309. doi:10.4236/ijcm.2013.47054.
- Crook, B y Swan, JRM. 2002. Bacteria and other bioaerosols in industrial workplaces. En: Flannigan, B; Samson, RA; Miller, JD. (eds.), *Microorganisms in Home and Indoor Work Environments*. Taylor & Francis. London, UK. p. 99–119.
- Day, JH y Ellis, AK. 2002. Allergenic microorganisms and hypersensitivity. En: Flannigan, B; Samson, RA; Miller, JD. (eds.), *Microorganisms in Home and Indoor Work Environments*. Taylor & Francis. London, UK. p. 147–183.
- Deacon, J. 2006. *Fungal Biology*. 4 ed. Blackwell Publishing. MA, US. 384 p.
- De La Rosa, M; Ullán, C; Prieto, M y Mosso, M. 2000. Calidad microbiológica del aire de una zona limpia en una industria farmacéutica. *Anal. Real. Acad. Farm.*, 66:213-28.
- De La Rosa, M; Ullán, C y Mosso, M. 2002. El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio Medioambiental*, 5:375-402.
- Diario Correo. 2015. Peruanos consumen 100 litros de gaseosa (en línea). Lima, PE. Consultado 21 ene. 2016. Disponible en <http://diariocorreo.pe/economia/peruanos-consumen-100-litros-de-gaseosa-601251/>

- Diario Gestión. 2016. Producción de bebidas no alcohólicas crecería 8% en el 2016 impulsada por aguas envasadas (en línea). Lima, PE. Consultado 15 may. 2016. Disponible en <http://gestion.pe/economia/produccion-bebidas-no-alcoholicas-creceria-8-2016-impulsada-aguas-ensadas-2159963>
- DIRESA Lima (Dirección Regional de Salud Lima, PE). 2016. Boletín Epidemiológico (en línea). Edición 2016, número 03. Lima, PE. Consultado 17 nov 2016. Disponible en http://www.diresalima.gob.pe/diresa/menu/archivo/epi_2016/BOLETIN%202016/BOLETIN%20EPIDEMIOLOGICO%20SE03-2016.pdf
- Douwes, J; Thorne, P; Pearce, N y Heederik, D. 2003. Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *Ann. Occup. Hyg.*, 47(3):187-200.
- EHEDG (European Hygienic Engineering and Design Group). 2006. Guidelines on air handling in the food industry. *Trends Food Sci Technol.* 17:331–336.
- EPA (Environmental Protection Agency, US)/NIOSH (Institute for Occupational Safety and Health, US). 1991. Building air quality: a guide for building owners and facility managers. US Government Printing Office. Washington DC. 229 p.
- Europa Press. 2016. La mala calidad del aire aumenta el absentismo hasta un 5%. Consultado 15 may 2017. Disponible en <http://www.europapress.es/euskadi/noticia-mala-calidad-aire-incrementa-absentismo-puede-llegar-disminuir-productividad-15-20160415170132.html>
- European Commission. 2008. Manufacture of Sterile Medicinal Products (corrected version). En: EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use. EudraLex, The Rules Governing Medicinal Products in the European Union, Brussels, BE. v. 4, 16 p. Anexo 1.

- FDA (Food and Drug Administration, US). 2004. Guidance for Industry – Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice. Food and Drug Administration. Rockville, MD. 59 p.
- Feller, W. 1968. An Introduction to Probability Theory and Its Applications. 3 ed. John Wiley & Sons Inc. New York, US. v. 1, 509 p.
- Fischer, G y Dott, W. 2003. Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. Archives of Microbiology, 179:75-82.
- Flannigan, B. 1992. Indoor microbiological pollutants - sources, species, characterization and evaluation. En: H. Knöppel y P. Wolkoff (eds). Chemical, Microbiological, Health and Comfort Aspects of Indoor Air Quality – State of the Art in SBS. Kluwer. Dordrecht, NL. 73-98 p.
- Flannigan, B. 1998. Contaminación biológica. En: Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. 3 ed. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, Subdirección General de Publicaciones. Madrid, ES. v. 2, p. 44.22-44.28.
- Flannigan, B y Miller, JD. 1994. Health implications of fungi in indoor environments—An overview. En: Samson RA., Flannigan B, Flannigan ME, Verhoeff AP, Adan OCG. (eds). Health implications of fungi in indoor air environments. Elsevier. Amsterdam, NL. p. 3–26.
- Flannigan, B y Miller, JD. 2002. Microbial growth in indoor environments. En: Flannigan, B; Samson, RA; Miller, JD. (eds.), Microorganisms in Home and Indoor Work Environments. Taylor & Francis. London, UK. p. 35–67.

- Flannigan, B; Samson, RA y Miller, JD. 2002. Microorganisms in Home and Indoor Work Environments. Taylor & Francis. London, UK. p. 418–509.
- Frisón, LN; Colomba, PS; Aríngoli, EE y Basílico JC. 2012. Diversidad fúngica en ambientes de industrias alimentarias. Revista FABICIB, 16:78-92.
- García, V. 2004. Introducción a la Microbiología. 2 ed. Editorial UNED. CR. 256 p.
- González, L. 1989. Introducción a la fitopatología. Bib. Orton IICA / CATIE. pp. p.29.
- Górny, RL; Cyprowski, M; Ławniczek-Wałczyk, A; Gołofit-Szymczak, M y Zapór, L. 2011. Biohazards in the indoor environment - A role for threshold limit values in exposure assessment. En: Dudzińska, M.R. (ed). Management of Indoor Air Quality. CRC Press/Balkema, Boca Raton, US. p. 1–20.
- Guardino, X. 1998. Calidad del aire interior. En: Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. 3 ed. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, Subdirección General de Publicaciones. Madrid, ES. v.2, p. 44.2-44.6.
- Health Canada. 2011. Good Manufacturing Practices (GMP) Guidelines - 2009 Edition, Version 2 (GUI-0001). Health Canada, Ontario. 100 p.
- Heseltine, E y Rosen J (eds). 2009. WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould. World Health Organization. Ginebra, CH. 248 p.
- Hernández, A. 2003. Microbiología Industrial. Editorial ENUD. Costa Rica. 7-8 p.

- Hodgson, MJ y Flannigan, B. 2002. Occupational respiratory disease: hypersensitivity pneumonitis. En: Flannigan, B; Samson, RA; Miller, JD. (eds.), *Microorganisms in Home and Indoor Work Environments*. Taylor & Francis. London, UK. p. 185–203.
- Horner, WE; Helbling, A; Salvaggio, JE y Lehrer, SB. 1995. Fungal allergens. *Clin. Microbiol.*, 8:161-79.
- INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática, PE). 2013. Perú: Situación de Salud de la Población Adulta Mayor, 2012 (en línea). Consultado 17 nov 2016. Disponible en https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1146/libro.pdf
- INSHT (Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo, ES). 1989. NTP 409: Contaminantes biológicos: criterios de valoración. INSHT. Madrid.
- INSHT (Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo, ES). 1993a. NTP 299: Método para el recuento de bacterias y hongos del aire. INSHT. Madrid.
- INSHT (Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo, ES). 1993b. NTP 313: Calidad del aire interior: riesgos microbiológicos en los sistemas de ventilación/climatización. INSHT. Madrid.
- INSHT (Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo, ES). 1995. NTP 380: El síndrome del edificio enfermo: cuestionario simplificado. INSHT. Madrid.
- INSHT (Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo, ES). 1996. NTP 335: Calidad de aire interior: evaluación de la presencia de polen y esporas fúngicas. INSHT. Madrid.

- INSHT (Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo, ES). 2001a. NTP 609: Agentes biológicos: equipos de muestreo (I). INSHT. Madrid.
- INSHT (Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo, ES). 2001b. NTP 610: Agentes biológicos: equipos de muestreo (II). INSHT. Madrid.
- INSHT (Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo, ES). 2002. NTP 488: Calidad de aire interior: identificación de hongos. INSHT. Madrid.
- INSHT (Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo, ES). 2008. NTP 802: Agentes biológicos no infecciosos: enfermedades respiratorias. INSHT. Madrid.
- IOM (Institute of Medicine, US). 2004. Damp indoor spaces and health. The National Academies Press. Washington DC. 355 p.
- ISO (International Organization for Standardization). 1999. ISO 14644-1:1999(E), Cleanrooms and associated controlled environments — Part 1: Classification of air cleanliness. ISO. Geneva, CH. 18 p.
- ISO (International Organization for Standardization). 2003a. ISO 14698-1:2003(E), Cleanrooms and associated controlled environments - Biocontamination control - Part 1: General principle and methods. ISO. Geneva, CH. 32 p.
- ISO (International Organization for Standardization). 2003b. ISO 14698-2:2003(E), Cleanrooms and associated controlled environments - Biocontamination control - Part 2: Evaluation and interpretation of biocontamination data. ISO. Geneva, CH. 11 p.

- ISO (International Organization for Standardization). 2015. ISO 14644–1:2015(E), Cleanrooms and associated controlled environments -- Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration. ISO. Geneva, CH. 37 p.
- Jarvis, B. 1973. Comparison of an Improved Rose Bengal-Chlortetracycline Agar with Other Media for the Selective Isolation and Enumeration of Moulds and Yeasts in Foods. *J. Appl. Bacteriol.*, 36:723-727.
- Jarvis, BB y Miller, JD. 2005. Mycotoxins as harmful indoor air contaminants. *Applied Microbiol. Biotechnol.*, 66: 367-772.
- Jarvis, B; Seiler, DAL; Ould, JL y Williams, AP. 1983. Observations on the enumeration of moulds in food and feedingstuffs. *Journal of Applied Bacterology*, 55:325-336.
- Jones, AP. 1999. Indoor air quality and health. *Atmos. Environ.*, 33(28):4535-4564.
- Kavanagh, K. 2005. *Fungi Biology and Applications*. John Wiley & Sons. UK. 267 p.
- Kendrick, B. 2000. *The Fifth Kingdom*. 3 ed. Focus Publishing. MA, US. 386 p.
- King, AD; Hocking, AD y Pitt, JI. 1979. Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37(5):959–964.
- Kirk, PM; Cannon, PF y Stalper, JA. 2001. *Dictionary of the fungi*. 9 ed. CAB International. Wallingford, UK. 784 p.

- Klanova, K. 2000. The concentrations of mixed populations of fungi in indoor air: rooms with and without mould problems, rooms with and without health complaints. *Cent. Eur. Jour. Pub. Health*, 8:59-61.
- Kuo, Y y Li, C. 1994. Seasonal fungus prevalence inside and outside of domestic environments in the subtropical climate. *Atmos. Environ.*, 20:3125-3130.
- Labarrere, N; Gómez, A; Ávila, I; Guevara ME y Fernández, B. 2003. Riesgos biológicos en ambientes confinados. *Rev. Cub. de Sal. y Trab.*, 4:4-7.
- Lacey, J. 1981. The aerobiology of conidial fungi. En: Cole, T y Kendrick WB (eds). *The Biology of Conidial Fungi*. Academic Press. New York. p. 373-416.
- Lacey, J y Dutkiewicz, J. 1994. Bioaerosol and occupational lung disease. *Aerosol Sci.*, 25:1371-1404.
- La-Serna, I; Dopazo, A y Aira, MJ. 2002. Airborne fungal spores in the Campus of Anchieta (La Laguna, Tenerife/Canary Is.). *Grana*, 41(2, 1):119-123.
- Lezana, V y Arancibia, JC. 2006. Consideraciones epidemiológicas del asma en Latinoamérica. *Neumol Pediatr.*, 1(2):45-8.
- Mader, S. 2008. *Biología*. 9 ed. Editorial McGraw Hill. México.
- Madigan, M; Martinko, J y Parker, J. 2004. *Brock Biología de los Microorganismos*. 10 ed. Pearson Hill. Madrid, ES. 1011 p.

- Magan, N y Lacey, J. 1984. Effect of temperature and pH on the water relations of field and storage fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 82:71–81.
- Manzano, A y Mancha, F. 2007. De los miasmas a los edificios enfermos: hongos en el interior. *RCCV*, 1(2).
- Matthias-Maser, S; Obolkin, V; Khodzer, T y Jaenicke, R. 2000. Seasonal variation of primary biological aerosols particles in the remote continental region of Lake Baikal/Siberia. *Atmos. Environ.*, 34:3805-3811.
- MBV AG, Mikrobiologie und Bioanalytik. 2011. User Manual Hardware. MAS-100 Eco® Microbiological Air Sampler.
- Mediavilla, A; Angulo, J; Infante, F; Comtois, P y Dominguez, E. 1998. Preliminary statistical modeling of the presence of two conidial types of *Cladosporium* in the atmosphere of Cordoba, Spain. *Aerobiología*, 14:229-34.
- Mendoza, A. 2015. Perfil epidemiológico de las principales patologías otorrinolaringológicas en tres ciudades del Perú, 2015. Tesis Especialista ORL. Lima, PE. Universidad San Martín de Porres. 69 p.
- Merker, RL. 1998. Media and Reagents. Appendix 3. En: RL Merker (ed). *Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual*. 8 ed. AOAC International. Gaithersburg, MD.
- MHLW (Ministry of Health, Labour and Welfare, JP). 2012. *The Japanese Pharmacopoeia*, 16 ed. supl. I. Ministry of Health, Labour and Welfare. Tokyo. 301 p.
- Michalski, S. 1985. A relative humidity control module. *Museum*, 146,37(2):85–88.

- Miller, JD. 1992. Fungi as contaminants of indoor air. *Atmos. Environ.*, 26:2163-2172.
- Miller, JD; Laflamme, A.M; Sobol, Y; Lafontaine, P y Greenalgh, R. 1988. Fungi and fungal products in some Canadian houses. *Int. Biodeterior.*, 24:103–120.
- MINSAs (Ministerio de Salud, PE). 1998. Decreto Supremo N° 007-98-SA Aprueban el Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas.
- MINSAs (Ministerio de Salud, PE). 2003. Sistemas de aire acondicionado en instalaciones de salud (en línea). Consultado 15 ago 2015. Disponible en <http://www.minsa.gob.pe/dgiem/cendoc/pdfs/SISTEMA%20AIRE%20ACONDICIONADO%20INSTALACIONES%20DE%20SALUD.pdf>
- MINSAL (Ministerio de Salud, CL). 2015. Norma Técnica N° 180. Buenas prácticas de laboratorio (BPL) para laboratorios de microbiología farmacéutica.
- MINSALUD (Ministerio de Salud y Deportes, BO). 1997. Norma Nacional de Buenas Prácticas de Manufactura (Productos Farmacéuticos) (en línea). Consultado 3 mar 2016. Disponible en <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s18835es/s18835es.pdf>
- MINSALUD (Ministerio de Salud y Protección Social, CO). 2015. Resolución 5402 de 2015, Manual de buenas prácticas de manufactura para la fabricación de medicamentos biológicos (en línea). Consultado 10 feb 2016. Disponible en https://normativa.colpensiones.gov.co/colpens/docs/pdf/resolucion_minsaludps_5402_2015.pdf
- MINSAP (Ministerio de Salud Pública, CU). 2011. Resolución No. 48 / 2011, Anexo No. 04: Buenas Prácticas para la Fabricación de Productos Estériles (en línea). Consultado 10 mar 2016. Disponible en

http://www.paho.org/cub/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=cecmed&alias=652-cecmed-2011-ambreg-00-141&Itemid=226

- Moreno, Z. 2000. “Correlación de la tasa de crecimiento radial y la tasa de crecimiento específico de hongos filamentos aislados de la planta *Espeletia barclayana*”. Tesis Lic. Mblgo. Ind. Bogotá DC, CO. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. 133 p.
- MSPS (Ministerio de Sanidad y Política Social, ES). 2008. Fabricación de medicamentos estériles. En: Guía de Normas de Correcta Fabricación de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario. Ministerio de Sanidad y Política Social. Madrid. 23 p. Anexo 1.
- MSSSI (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, ES). 2014. Guía de buenas prácticas de preparación de medicamentos en servicios de farmacia hospitalaria. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Madrid. 67 p.
- Nevalainen, A; Pastuszka, J; Liebhaber, F y Willeke, K. 1992. Performance of bioaerosol samplers: collection characteristics and sampler design considerations. Atmos. Environ., 26(4):531-540.
- Nielsen, K. 2003. Mycotoxin production by indoor molds. Fungal Genetics and Biology, 39:103– 117.
- NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health, US). 2015. Indoor environmental quality (en línea). Consultado 1 set. 2015. Disponible en <http://www.cdc.gov/niosh/topics/indoorenv/>
- NIRCO: Diagnóstico & Investigación. 2016. Muestreador de aire SAS. Consultado 28 oct. 2016. Disponible en <http://www.nirco.com/web/pc--45-94-349-/Muestreador-de-aire-SAS>

- OSHA (Occupational Safety & Health Administration, US). 2015. Indoor air quality - frequently asked questions (en línea). Consultado 1 set. 2015. Disponible en <https://www.osha.gov/SLTC/indoorairquality/faqs.html>
- OSHA (Occupational Safety and Health Administration, US). 2011. Indoor Air Quality in Commercial and Institutional Buildings. U.S. Department of Labor, OSHA 3430-04.
- Padilla J, Uceda M, Ziegler O, Lindo F, Herrera-Pérez E, Huicho L. 2013. Association between allergic rhinitis and asthma control in Peruvian school children: a cross-sectional study. *Biomed Res Int.* 2013: 861213.
- Palmas, F y Meloni, V. 1997. Fungi as an occupational health hazard in seasoned-food-industry workers. *Environ. Monit. Assess.*, 48:273-284.
- Pasanen, L; Kalliokoski, P; Pasanen, P; Jantunen, J y Nevalainen, A. 1991. Laboratory studies on the relationship between fungal growth and atmospheric temperature and humidity. *Environmental International*, 17:225-228.
- Pasanen, A-L; Niininen, M y Kalliokoski, P. 1992. Airborne *Cladosporium* and other fungi in damp versus reference residences. *Atmos. Environ.*, 26B (1):121-124.
- Pathirane, L. 1975. Aerobiological literature in scientific periodicals; *Grana*, 15:145-147.
- PHE (Public Health England). 2013. Examining food, water and environmental samples from healthcare environments – Microbiological guidelines. Public Health England. London, UK. 48 p.
- Pitt, J y Hocking, A. 2009. Fungi and food spoilage. Springer. New York, US. 519 p.

- Pontón, J; Moragues, MD; Gené, M; Guarro, J y Quindós, G. 2002. Hongos y actinomicetos alérgicos. Rev. Iberoam. Micol., 45 p.
- Prats, G. 2007. Microbiología Clínica. Editorial Médica Panamericana. ES. 400 p.
- Prescott, L.; Harley, J. y Klein, D. 2002. Microbiología. 5 ed. Editorial McGraw Hill. Madrid, España. 600-607 p.
- Rao, CY; Burge, HA; Chang, JC. 1996. Review of quantitative standards and guidelines for fungi in indoor air. J Air Waste Manag Assoc.; 46:9 899-908.
- Reponen, T; Nevalainen, A; Jantunen, N; Pelikka, M y Kalliokoski, P. 1992. Normal Range Criteria For Indoor Air Bacteria And Fungal Spores In A Subarctic Climate. Indoor Air, 2:26-31.
- Reponen, T. 1995. Aerodynamic diameters and respiratory deposition estimates of viable fungal particles in mold problems dwellings. USA: Aero. Sci. and Tech., 11-23 p.
- Reponen, T; Nevalainen, A y Raunemaa, T. 1989. Bioaerosol and particle mass level and ventilation in finnish homes. Envir. Int., 15:203-208.
- Rey, FJ y Ceña, R. 2006. Edificios saludables para trabajadores sanos: calidad de ambientes interiores. Junta de Castilla y León, Consejería de Economía y Empleo. ES. 229 p.
- Reynolds, SJ; Streifel, AJ y McJilton, CE. 1990. Elevated airborne concentrations of fungi in residential and office environments. Amer. Ind. Asso. Jour., 51:601-604.

- Robinson, CL; Baumann, LM; Gilman, RH; Romero, K; Combe, JM; Cabrera, L; Hansel NN; Barnes, K; Gonzalez, G; Wise, RA; Breysse, PN y Checkley, W. 2012. The Peru Urban versus Rural Asthma (PURA) Study: methods and baseline quality control data from a cross-sectional investigation into the prevalence, severity, genetics, immunology and environmental factors affecting asthma in adolescence in Peru. *BMJ Open*, 2:e000421.
- Rojas, T; Martínez, E; Gómez, Y y Alvarado, Y. 2002. Airborne spores of *Aspergillus* species in cultural institutions at Havana University. *Cuba: Grana*, 25:190-193.
- Rosas, I; Calderón, C; Martínez, L; Ulloa, M y Lacey, J. 1997. Indoor and outdoor airborne fungal propagule concentration in México City. *Aerobiología*, 13:23-30.
- RPP Noticias (Radio Programas del Perú). 2014. Maximixe: Producción peruana de gaseosas crecería 1 por ciento este año (en línea). Lima, PE. Consultado 21 ene. 2016. Disponible en <http://rpp.pe/economia/economia/maximixe-produccion-peruana-de-gaseosas-creceria-1-este-ano-noticia-669917>
- Ruiz, J. 2008. Viaje al Asombroso mundo de los hongos (Ciencia para todos). Primera Edición. Fondo de Cultura Económica. México D.F. 190 p.
- Sasseville, D. 1998. Dermatitis de contacto profesionales. En: Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. 3 ed. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, Subdirección General de Publicaciones. Madrid, ES. v.1, p. 12.10–12.14.
- Seum, WH; Moberg, LJ; Rude, R; Frank, JF. 1992. Microbiological monitoring of the food processing environment. En: Vanderzant, C y Splittstoesser, DF (eds). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 3 ed. APHA. 51-75 p.

- Singh, J. 2005. Toxic Moulds and Indoor Air Quality. *Indoor and Built Environment*, 14(3-4):229-234.
- SIS - MINSA (Sistema Integral de Salud – Ministerio Nacional de Salud, PE). 2013. Estudio Epidemiológico de Distribución y Frecuencia de atenciones de emergencia a Nivel Nacional. 2010 – 2013 (en línea). Consultado 17 nov. 2016. Disponible en http://www.sis.gob.pe/IPRESSPublicas/mIRADORgrep/archivos/20160425_Estudio2013_EstuEpidDistrFrecAtencEmergNivNac.pdf
- Sorenson, WG. 2002. Respiratory tract infections caused by indoor fungi. En: Flannigan, B; Samson, RA; Miller, JD. (eds.), *Microorganisms in Home and Indoor Work Environments*. Taylor & Francis. London, UK. p. 204–220.
- SSA (Secretaría de Salud, MX). 2013. NOM-164-SSA1-2013, Buenas prácticas de fabricación para fármacos. Secretaría de Salud, México, DF. 41 p.
- Sterling, DA y Lewis, RD. 1998. Pollen and fungal spores indoor and outdoor of mobile homes. *Annals of Allergy and Asthma Immunology*, 80(3):279-285.
- Summerbell, RC. 2002. Respiratory tract infections caused by indoor fungi. En: Flannigan, B; Samson, RA; Miller, JD. (eds.), *Microorganisms in Home and Indoor Work Environments*. Taylor & Francis. London, UK. p. 279–308.
- Tournas, V; Stack, ME; Mislivec, PB; Koch, HA. y Bandler, R. 1998. Yeasts, molds and mycotoxins. En: RL Merker (ed). *Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual*. 8 ed. AOAC International, Gaithersburg, MD, US.
- Tortora, G; Funke, B y Case, C. 2012. *Microbiología*. 10 ed. Artmed. Porto Alegre, BR. p. 334-335.

- USP (United States Pharmacopeial Convention). 2011. Pharmaceutical compounding—sterile preparations. USP 797. En: United States Pharmacopeia, rev. 35 y National Formulary, 30 ed. United States Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville, MD. 38 p.
- Valentín, N. 1993. En: Conservación arqueológica. Reflexión y debate sobre teoría y práctica. Rev. Cuadenas. Universidad de Alcalá, ES. 113-120 p.
- Valenzuela, MT. 2011. Procedimiento Muestreo Microbiológico de Aire. Instituto de Salud Pública de Chile (en línea). Consultado 15 ago 2015. Disponible en http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2011/01/Muestreo%20Microbiol%C3%B3gico%20de%20Aire.pdf.
- Vargas, A; Villamizar, D. 2005. “Estudio preliminar de la producción, extracción y purificación de T2 toxina por *Fusarium sporotrichioides* NNR 3299 en dos medios sintéticos”. Tesis Lic. Mblgo. Ind. Bogotá DC, CO. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. 172 p.
- Wanner, H-U y Gravesen, S. 1993. Biological Particles in Indoor Environments. Indoor Air Quality and Its Impact On Man. OMS. 88 p.
- Wang, M; Jiang, X; Wu, W; Hao, Y; Su, Y; Cai, L; Xiang, M y Liu, X. 2015. Psychrophilic fungi from the world’s roof. *Persoonia* 34:100–112.
- Webster, J. y Weber, R. 2007. Inroduction to Fungi. 3 ed. Cambridge University Press. New York, US. 841 p.
- WHO (World Health Organization). 1992. WHO good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products. En: WHO Expert Committee on Specifications for

Pharmaceutical Preparations, Thirty-second report, v. 823, WHO Technical Report Series. World Health Organization, Geneva, CH. 140 p. Anexo 1.

- WHO (World Health Organization). 2011a. WHO good practices for pharmaceutical microbiology laboratories. En: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, Forty-fifth report, v. 961, WHO Technical Report Series. World Health Organization, Geneva, CH. 69-93 p. Anexo 2.
- WHO (World Health Organization). 2011b. WHO good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products. En: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, Forty-fifth report, v. 961, WHO Technical Report Series. World Health Organization, Geneva, CH. p. 261-284. Anexo 6.
- Zorman, T y Jersek, B. 2008. Assessment of bioaerosol concentrations in different indoor environments. *Indoor Built Environ.*; 17:155-63.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Instrucciones del proveedor para la toma de muestras ambientales.

Antes de salir a tomar las muestras se deberá:

- Cargar el equipo MAS-100 Eco® por 1 hora como mínimo.
- Esterilizar el cabezal y tapa del equipo a 121°C por 15 min por única vez antes de iniciar su uso.
- Tener placas Petri preparadas con el medio DRBC. Éstas deben encontrarse secas.

Durante la toma de muestras:

1. El equipo MAS-100 Eco® tiene dos botones (Yes o No). Para encender el equipo se oprime la tecla Yes una vez.
2. Se presiona la tecla No para seleccionar el volumen de aire que se desea muestrear, se oprime dicha tecla hasta que aparezca el volumen de 100. Aparecerá el símbolo Y/N.
3. Simultáneamente se desenrosca el cabezal y se coloca la placa Petri con la tapa hacia arriba, se quita la tapa y se enrosca el cabezal nuevamente en el equipo, y apretar la tecla Yes, inmediatamente quitar la tapa del cabezal.
4. El equipo está programado para la toma de muestra en 1 minuto, luego de eso se detendrá. Y se colocara la tapa del cabezal, se desenroscara el cabezal, se colocara la tapa de la placa Petri y se retirara la placa del equipo.
5. Luego de cada toma de muestra, el equipo debe limpiarse con alcohol de 70° con ayuda de un algodón y utilizar papel toalla para secar dicha partes antes de colocar otra muestra.
6. Se repite desde el punto 3 para realizar la siguiente medición.

ANEXO 2: Tabla estadística de corrección de Feller.

Positive hole conversion table MAS-100

Impaction lid 400 x 0,7mm

MBV AG, 8712 Stäfa

r = Number of colony forming units counted on 90 mm Petri dish

Pr = Probable statistical total

r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr
1	1	51	54	101	116	151	189	201	279	251	394	301	557	351	836
2	2	52	56	102	118	152	191	202	281	252	397	302	561	352	844
3	3	53	57	103	119	153	193	203	283	253	400	303	565	353	853
4	4	54	58	104	120	154	194	204	285	254	402	304	569	354	861
5	5	55	59	105	122	155	196	205	287	255	405	305	573	355	870
6	6	56	60	106	123	156	197	206	289	256	408	306	578	356	879
7	7	57	61	107	124	157	199	207	291	257	411	307	582	357	888
8	8	58	63	108	126	158	201	208	293	258	413	308	586	358	897
9	9	59	64	109	127	159	202	209	295	259	416	309	591	359	907
10	10	60	65	110	128	160	204	210	297	260	419	310	595	360	917
11	11	61	66	111	130	161	206	211	299	261	422	311	599	361	927
12	12	62	67	112	131	162	207	212	301	262	425	312	604	362	937
13	13	63	68	113	133	163	209	213	304	263	428	313	608	363	947
14	14	64	70	114	134	164	211	214	306	264	431	314	613	364	958
15	15	65	71	115	135	165	212	215	308	265	433	315	618	365	969
16	16	66	72	116	137	166	214	216	310	266	436	316	622	366	981
17	17	67	73	117	138	167	216	217	312	267	439	317	627	367	992
18	18	68	74	118	140	168	218	218	314	268	442	318	632	368	1005
19	19	69	76	119	141	169	219	219	317	269	445	319	637	369	1017
20	20	70	77	120	142	170	221	220	319	270	449	320	642	370	1030
21	22	71	78	121	144	171	223	221	321	271	452	321	647	371	1043
22	23	72	79	122	145	172	224	222	323	272	455	322	652	372	1057
23	24	73	80	123	147	173	226	223	325	273	458	323	657	373	1071
24	25	74	82	124	148	174	228	224	328	274	461	324	662	374	1086
25	26	75	83	125	150	175	230	225	330	275	464	325	667	375	1102
26	27	76	84	126	151	176	232	226	332	276	467	326	673	376	1118
27	28	77	85	127	153	177	233	227	335	277	471	327	678	377	1134
28	29	78	87	128	154	178	235	228	337	278	474	328	684	378	1152
29	30	79	88	129	156	179	237	229	339	279	477	329	689	379	1170
30	31	80	89	130	157	180	239	230	342	280	480	330	695	380	1189
31	32	81	90	131	158	181	241	231	344	281	484	331	701	381	1209
32	33	82	92	132	160	182	242	232	346	282	487	332	706	382	1230
33	34	83	93	133	161	183	244	233	349	283	491	333	712	383	1252
34	35	84	94	134	163	184	246	234	351	284	494	334	718	384	1276
35	37	85	95	135	164	185	248	235	353	285	497	335	724	385	1301
36	38	86	97	136	166	186	250	236	356	286	501	336	730	386	1327
37	39	87	98	137	167	187	252	237	358	287	504	337	737	387	1356
38	40	88	99	138	169	188	254	238	361	288	508	338	743	388	1387
39	41	89	101	139	171	189	255	239	363	289	511	339	749	389	1420
40	42	90	102	140	172	190	257	240	366	290	515	340	756	390	1456
41	43	91	103	141	174	191	259	241	368	291	519	341	763	391	1496
42	44	92	104	142	175	192	261	242	371	292	522	342	769	392	1541

ANEXO 3: Cuestionario sobre la calidad del aire en espacios interiores.

CUESTIONARIO SOBRE LA CALIDAD DEL AIRE EN ESPACIOS INTERIORES (Estrictamente confidencial)

Se esta llevando a cabo un estudio para tratar de mejorar las Condiciones de Trabajo en el área en el que Ud. Desarrolla su actividad laboral. Para ello necesitamos que responda a este cuestionario.

INFORMACION GENERAL

EDAD

FECHA

1. ¿CUÁNTO TIEMPO HACE QUE TRABAJAS EN LA EMPRESA?

2. HORAS DE PERMANENCIA EN EL ÁREA

3. DESDE QUE ESTAS LABORANDO EN LA EMPRESA ¿HAS TENIDO MOLESTIAS RESPIRATORIAS O PROBLEMAS EN LA PIEL?

SI

NO

Las siguientes preguntas se refieren a ciertos sintomas que Ud. Puede haber experimentado durante su trabajo en los últimos treinta días.

SÍNTOMAS	PRESENCIA		MEJORA AL ABANDONAR		NÚMERO DE VECES EN LOS ULTIMOS		
	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
OJOS							
SEQUEDAD	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
ESCOZOR/PICOR	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
LAGRIMEO	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
NARIZ	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
NARIZ TAPADA	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
SEQUEDAD	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
GARGANTA	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
SEQUEDAD	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
ESCOZOR/PICOR	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
GENERALES	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
DOLOR DE CABEZA	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
DEBILIDAD	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2
ALETARGAMIENTO	SI	NO	SI	NO	0	≤2	> 2

ANEXO 4: Datos de concentración de esporas fúngicas, temperatura ambiente y porcentaje de humedad relativa por día en cada punto de muestreo.

Punto 1						
Día y fecha de muestreo		T_{amb} (C°)	HR (%)	Placa 1 (UFC/m³)	Placa 2 (UFC/m³)	Promedio (UFC/m³)
Día 1	15-dic-14	26.4	66	100	140	120
Día 2	17-dic-14	25.6	64	170	130	150
Día 3	19-dic-14	23.7	63	200	220	210
Día 4	29-dic-14	23.3	65	260	240	250
Día 5	02-ene-15	24.1	75	210	250	230
Día 6	03-ene-15	20	79	340	300	320
Día 7	05-ene-15	23.7	72	210	230	220
Día 8	07-ene-15	19.9	74	350	330	340
Día 9	09-ene-15	24.1	77	230	210	220
Día 10	12-ene-15	24	78	260	240	250
Día 11	14-ene-15	24.5	77	260	220	240
Día 12	16-ene-15	23.8	78	270	290	280

Punto 2						
Día y fecha de muestreo		T_{amb} (C°)	HR (%)	Placa 1 (UFC/m³)	Placa 2 (UFC/m³)	Promedio (UFC/m³)
Día 1	15-dic-14	26.4	62	150	110	130
Día 2	17-dic-14	26.7	62	100	120	110
Día 3	19-dic-14	24	73	320	360	340
Día 4	29-dic-14	25.4	64	130	150	200
Día 5	02-ene-15	23.5	78	340	420	580
Día 6	03-ene-15	23.8	71	190	170	280
Día 7	05-ene-15	22.5	78	430	350	590
Día 8	07-ene-15	22.2	79	490	450	570
Día 9	09-ene-15	24.1	73	350	310	330
Día 10	12-ene-15	24.8	66	170	150	260
Día 11	14-ene-15	24.4	73	360	300	350
Día 12	16-ene-15	22.9	72	150	170	320

Punto 3						
Día y fecha de muestreo		T_{amb} (C°)	HR (%)	Placa 1 (UFC/m³)	Placa 2 (UFC/m³)	Promedio (UFC/m³)
Día 1	15-dic-14	24.6	67	110	130	120
Día 2	17-dic-14	24.3	67	160	120	140
Día 3	19-dic-14	23.7	67	110	150	130
Día 4	29-dic-14	24.5	67	90	150	120
Día 5	02-ene-15	23.3	71	270	310	290
Día 6	03-ene-15	21.8	70	170	90	230
Día 7	05-ene-15	22.9	71	120	160	240
Día 8	07-ene-15	22.8	71	170	190	240
Día 9	09-ene-15	24.6	75	230	190	280
Día 10	12-ene-15	24.7	74	190	170	280
Día 11	14-ene-15	24.4	74	210	190	240
Día 12	16-ene-15	24.8	74	180	200	260

Punto 4						
Día y fecha de muestreo		T_{amb} (C°)	HR (%)	Placa 1 (UFC/m³)	Placa 2 (UFC/m³)	Promedio (UFC/m³)
Día 1	15-dic-14	24.2	68	730	930	830
Día 2	17-dic-14	24.2	69	660	480	570
Día 3	19-dic-14	23.6	68	690	730	710
Día 4	29-dic-14	23.7	70	690	890	790
Día 5	02-ene-15	22.7	73	270	250	260
Día 6	03-ene-15	21.7	73	680	760	720
Día 7	05-ene-15	22.7	74	200	300	250
Día 8	07-ene-15	21.5	74	350	390	370
Día 9	09-ene-15	25.4	73	280	320	300
Día 10	12-ene-15	25.2	74	520	560	540
Día 11	14-ene-15	24.6	73	480	420	450
Día 12	16-ene-15	24.1	74	400	460	430

Punto 5						
Día y fecha de muestreo		T_{amb} (C°)	HR (%)	Placa 1 (UFC/m³)	Placa 2 (UFC/m³)	Promedio (UFC/m³)
Día 1	15-dic-14	25.1	75	220	240	230
Día 2	17-dic-14	25.2	78	260	240	250
Día 3	19-dic-14	22.6	78	270	290	280
Día 4	29-dic-14	22.3	78	220	300	260
Día 5	02-ene-15	23.3	73	230	250	240
Día 6	03-ene-15	22.2	73	370	390	380
Día 7	05-ene-15	22.9	73	350	390	370
Día 8	07-ene-15	21.3	73	420	320	370
Día 9	09-ene-15	25.5	74	270	310	290
Día 10	12-ene-15	25	75	250	210	230
Día 11	14-ene-15	24.1	74	220	260	240
Día 12	16-ene-15	23.8	75	310	250	280

Punto 6						
Día y fecha de muestreo		T_{amb} (C°)	HR (%)	Placa 1 (UFC/m³)	Placa 2 (UFC/m³)	Promedio (UFC/m³)
Día 1	15-dic-14	24.2	68	630	590	610
Día 2	17-dic-14	24.2	69	630	670	650
Día 3	19-dic-14	23.6	68	580	540	560
Día 4	29-dic-14	23.7	70	410	470	440
Día 5	02-ene-15	22.7	73	190	250	220
Día 6	03-ene-15	21.7	73	360	400	380
Día 7	05-ene-15	22.7	74	240	200	220
Día 8	07-ene-15	21.5	74	340	360	350
Día 9	09-ene-15	25.4	73	320	340	330
Día 10	12-ene-15	25.2	74	350	390	370
Día 11	14-ene-15	24.6	73	600	580	590
Día 12	16-ene-15	24.1	74	360	380	370

Punto 7						
Día y fecha de muestreo		T_{amb} (C°)	HR (%)	Placa 1 (UFC/m³)	Placa 2 (UFC/m³)	Promedio (UFC/m³)
Día 1	15-dic-14	25.7	77	510	490	500
Día 2	17-dic-14	24.5	70	270	290	280
Día 3	19-dic-14	24.2	70	360	340	350
Día 4	29-dic-14	24.2	70	340	440	390
Día 5	02-ene-15	22.5	74	520	460	490
Día 6	03-ene-15	21.4	74	430	370	400
Día 7	05-ene-15	22.4	75	380	320	350
Día 8	07-ene-15	21.4	75	350	390	370
Día 9	09-ene-15	24.7	77	500	460	480
Día 10	12-ene-15	24.5	78	520	480	500
Día 11	14-ene-15	23.4	78	530	510	520
Día 12	16-ene-15	23.3	78	560	500	530

Punto 8						
Día y fecha de muestreo		T_{amb} (C°)	HR (%)	Placa 1 (UFC/m³)	Placa 2 (UFC/m³)	Promedio (UFC/m³)
Día 1	15-dic-14	23.8	71	390	370	380
Día 2	17-dic-14	23.5	71	280	320	300
Día 3	19-dic-14	24	71	400	420	410
Día 4	29-dic-14	24.4	71	500	460	480
Día 5	02-ene-15	22.6	76	380	360	370
Día 6	03-ene-15	21.8	76	220	160	190
Día 7	05-ene-15	22.6	76	240	340	290
Día 8	07-ene-15	22.2	76	230	250	240
Día 9	09-ene-15	24.3	80	630	670	650
Día 10	12-ene-15	24	79	500	460	480
Día 11	14-ene-15	23.6	80	260	280	270
Día 12	16-ene-15	23.1	79	190	230	210

Punto 9						
Día y fecha de muestreo		T_{amb} (C°)	HR (%)	Placa 1 (UFC/m³)	Placa 2 (UFC/m³)	Promedio (UFC/m³)
Día 1	15-dic-14	23.9	73	350	370	360
Día 2	17-dic-14	23.5	73	230	250	240
Día 3	19-dic-14	24.8	73	540	580	560
Día 4	29-dic-14	25	74	720	640	680
Día 5	02-ene-15	22.4	77	230	330	280
Día 6	03-ene-15	22	77	150	130	140
Día 7	05-ene-15	22.2	76	180	140	160
Día 8	07-ene-15	21.8	76	140	160	150
Día 9	09-ene-15	24	79	430	450	440
Día 10	12-ene-15	23.9	80	430	410	420
Día 11	14-ene-15	23.9	79	440	420	430
Día 12	16-ene-15	23.4	79	380	320	350

Punto 10						
Día y fecha de muestreo		T_{amb} (C°)	HR (%)	Placa 1 (UFC/m³)	Placa 2 (UFC/m³)	Promedio (UFC/m³)
Día 1	15-dic-14	23.3	73	160	200	180
Día 2	17-dic-14	22.2	77	230	210	220
Día 3	19-dic-14	23.8	81	300	280	290
Día 4	29-dic-14	23.1	72	260	240	250
Día 5	02-ene-15	23.7	81	320	360	340
Día 6	03-ene-15	21.6	77	200	260	230
Día 7	05-ene-15	21.7	77	250	290	270
Día 8	07-ene-15	24	72	210	190	200
Día 9	09-ene-15	23.7	72	240	280	260
Día 10	12-ene-15	22.2	77	220	240	230
Día 11	14-ene-15	23.5	81	270	310	290
Día 12	16-ene-15	23.3	81	240	280	260

Punto 11						
Día y fecha de muestreo		T_{amb} (C°)	HR (%)	Placa 1 (UFC/m³)	Placa 2 (UFC/m³)	Promedio (UFC/m³)
Día 1	15-dic-14	25.4	65	1100	1300	1200
Día 2	17-dic-14	27.7	59	880	900	890
Día 3	19-dic-14	25.6	64	770	810	790
Día 4	29-dic-14	25.1	61	890	910	900
Día 5	02-ene-15	24.4	63	870	750	810
Día 6	03-ene-15	23.2	69	1400	1200	1300
Día 7	05-ene-15	25.6	65	890	930	910
Día 8	07-ene-15	23.7	65	800	820	810
Día 9	09-ene-15	26.8	63	830	850	840
Día 10	12-ene-15	25.8	67	1160	1280	1220
Día 11	14-ene-15	26.1	69	1400	1300	1350
Día 12	16-ene-15	25.4	67	1300	1100	1200

ANEXO 5: Análisis de regresión UFC vs. Temperatura ambiente (T_{amb}) y porcentaje de humedad relativa (%HR).

Punto 1

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	2	38217	19108.3	42.20	0.000
%HR	1	3182	3181.9	7.03	0.026
Tamb	1	22003	22002.9	48.59	0.000
Error	9	4075	452.8		
Total	11	42292			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
21.2789	90.36%	88.22%	81.30%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	620	142	4.36	0.002	
%HR	3.04	1.15	2.65	0.026	1.20
Tamb	-25.61	3.67	-6.97	0.000	1.20

Regression Equation

$UFC/m^3 = 620 + 3.04 \%HR - 25.61 Tamb$

Punto 2a

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	1	228522	228522	31.90	0.000
(C°)	1	228522	228522	31.90	0.000
Error	10	71645	7164		
Total	11	300167			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
84.6433	76.13%	73.74%	67.78%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	2796	436	6.42	0.000	
(C°)	-101.5	18.0	-5.65	0.000	1.00

Regression Equation

$UFC/m^3 = 2796 - 101.5 (C^\circ)$

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	UFC/m3	Fit	Resid	Std Resid	R
5	580.0	411.9	168.1	2.10	R

R Large residual

Punto 2b

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	1	272836	272836	99.83	0.000
%	1	272836	272836	99.83	0.000
Error	10	27331	2733		
Total	11	300167			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
52.2789	90.89%	89.98%	87.46%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	-1489	184	-8.11	0.000	
%	25.77	2.58	9.99	0.000	1.00

Regression Equation

UFC/m3 = -1489 + 25.77 %

Punto 3

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	2	44067	22033.3	39.46	0.000
T amb	1	4796	4796.1	8.59	0.017
% HR	1	42763	42763.3	76.59	0.000
Error	9	5025	558.3		
Total	11	49092			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
23.6293	89.76%	87.49%	84.30%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	-696	222	-3.13	0.012	
T amb	-21.97	7.50	-2.93	0.017	1.03
% HR	20.29	2.32	8.75	0.000	1.03

Regression Equation

UFC/m3 = -696 - 21.97 Tamb + 20.29 %HR

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	UFC/m3	Fit	Resid	Std Resid
5	290.0	233.4	56.6	2.55

R Large residual

Punto 4

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	2	251654	125827	5.13	0.033
%HR	1	249861	249861	10.19	0.011
Tamb	1	2507	2507	0.10	0.756
Error	9	220712	24524		
Total	11	472367			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
156.600	53.28%	42.89%	15.90%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	5346	1819	2.94	0.017	
%HR	-63.1	19.8	-3.19	0.011	1.03
Tamb	-12.2	38.2	-0.32	0.756	1.03

Regression Equation

$$\text{UFC/m}^3 = 5346 - 63.1 \%HR - 12.2 \text{ Tamb}$$

Punto 5

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	2	20059	10029	5.85	0.024
Tamb	1	12177	12177	7.10	0.026
%HR	1	4913	4913	2.86	0.125
Error	9	15441	1716		
Total	11	35500			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
41.4213	56.50%	46.84%	26.97%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	1652	484	3.41	0.008	
Tamb	-24.28	9.11	-2.66	0.026	1.03
%HR	-10.59	6.26	-1.69	0.125	1.03

Regression Equation

$$\text{UFC/m}^3 = 1652 - 24.28 \text{ Tamb} - 10.59 \%HR$$

Punto 6

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	2	146176	73088	7.22	0.013
%HR	1	114858	114858	11.35	0.008
Tamb	1	12498	12498	1.23	0.295
Error	9	91116	10124		
Total	11	237292			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
100.618	61.60%	53.07%	38.38%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	2857	1169	2.44	0.037	
%HR	-42.8	12.7	-3.37	0.008	1.03
Tamb	27.3	24.5	1.11	0.295	1.03

Regression Equation

$$\text{UFC/m3} = 2857 - 42.8 \%HR + 27.3 \text{ Tamb}$$

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	UFC/m3	Fit	Resid	Std Resid
11	590.0	404.2	185.8	2.03 R

R Large residual

Punto 7

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	2	52230.7	26115.4	10.14	0.005
%HR	1	49445.4	49445.4	19.21	0.002
Tamb	1	2752.4	2752.4	1.07	0.328
Error	9	23169.3	2574.4		
Total	11	75400.0			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
50.7382	69.27%	62.44%	49.12%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	-1422	447	-3.18	0.011	
%HR	21.14	4.82	4.38	0.002	1.00
Tamb	11.6	11.3	1.03	0.328	1.00

Regression Equation

$$\text{UFC/m3} = -1422 + 21.14 \%HR + 11.6 \text{ Tamb}$$

Punto 8

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	2	121139	60569	7.08	0.014
Tamb	1	121131	121131	14.17	0.004
%HR	1	3605	3605	0.42	0.532
Error	9	76953	8550		
Total	11	198092			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
92.4679	61.15%	52.52%	26.05%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	-2925	1041	-2.81	0.020	
Tamb	124.4	33.1	3.76	0.004	1.03
%HR	5.02	7.73	0.65	0.532	1.03

Regression Equation

$$\text{UFC/m3} = -2925 + 124.4 \text{ Tamb} + 5.02 \text{ \%HR}$$

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	UFC/m3	Fit	Resid	Std Resid	R
9	650.0	499.7	150.3	2.08	R

R Large residual

Punto 9

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	2	276457	138229	37.43	0.000
Tamb	1	273329	273329	74.02	0.000
%HR	1	2771	2771	0.75	0.409
Error	9	33234	3693		
Total	11	309692			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
60.7675	89.27%	86.88%	80.28%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	-3646	749	-4.87	0.001	
Tamb	150.5	17.5	8.60	0.000	1.04
%HR	6.22	7.19	0.87	0.409	1.04

Regression Equation

$$\text{UFC/m3} = -3646 + 150.5 \text{ Tamb} + 6.22 \text{ \%HR}$$

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	UFC/m3	Fit	Resid	Std Resid	R
4	680.0	577.1	102.9	2.05	R

R Large residual

Punto 10

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	2	10754.0	5377.02	4.74	0.039
Tamb	1	1340.6	1340.59	1.18	0.305
%HR	1	9604.5	9604.48	8.46	0.017
Error	9	10212.6	1134.74		
Total	11	20966.7			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
33.6858	51.29%	40.47%	13.30%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	-652	349	-1.87	0.095	
Tamb	13.0	11.9	1.09	0.305	1.00
%HR	7.89	2.71	2.91	0.017	1.00

Regression Equation

$$\text{UFC/m3} = -652 + 13.0 \text{ Tamb} + 7.89 \text{ \%HR}$$

Punto 11

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	2	335239	167619	8.68	0.008
Tamb	1	37321	37321	1.93	0.198
%HR	1	329105	329105	17.05	0.003
Error	9	173728	19303		
Total	11	508967			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
138.936	65.87%	58.28%	36.82%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	-4502	1691	-2.66	0.026	
Tamb	53.0	38.1	1.39	0.198	1.27
%HR	64.5	15.6	4.13	0.003	1.27

Regression Equation

$$\text{UFC/m3} = -4502 + 53.0 \text{ Tamb} + 64.5 \text{ \%HR}$$

ANEXO 6: Registro fotográfico.

Área de estudio

Zona al exterior de la sala de envasado de AJEPER S.A. Planta Huachipa.



Zona al interior del área de envasado de AJEPER S.A. Planta Huachipa.



Puntos de muestreo



Punto 1: Puerta que conecta la zona exterior transitable con el área de envasado, cerca a la embotelladora de la línea de producción VIII.



Punto 2: Equipo mezclador de la línea de producción VIII.



Punto 3: Puerta que conecta el área de soplado con el área de envasado, cerca a la embotelladora de la línea de producción VII.



Punto 4: Equipo mezclador de la línea de producción VII.



Punto 5: Puerta que conecta el área de soplado con el área de envasado, cerca a la embotelladora de la línea de producción VI.



Punto 6: Equipo mezclador de la línea de producción VI.



Punto 7: Equipo mezclador de la línea de producción V.

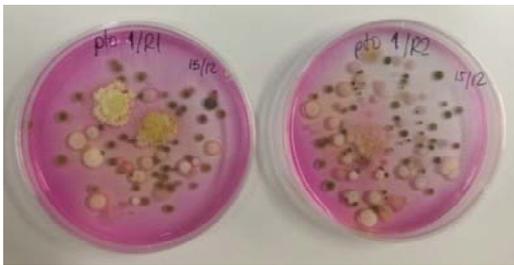


Punto 8: Equipo mezclador de la línea de producción XV.

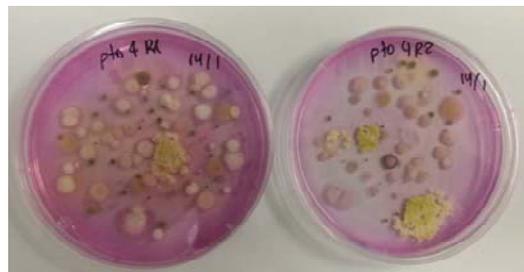
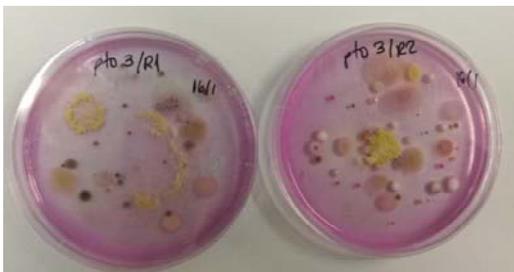


Punto 9: Puerta que conecta el área de soplado con el área de envasado, cerca a la embotelladora de la línea de producción XV.

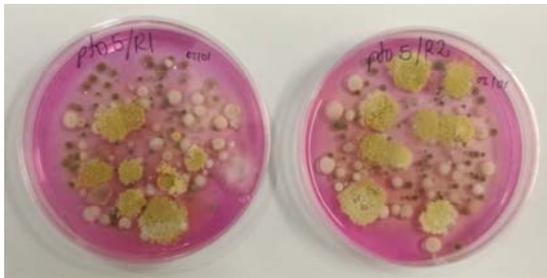
Resultados microbiológicos



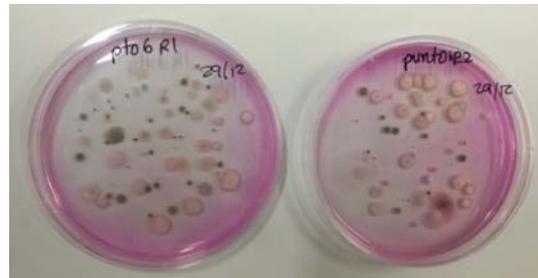
Punto 1: Repeticiones 1 y 2 (R1 y R2) del 15 de diciembre del 2014. **Punto 2:** Repetición 1 (R1) del 15 de diciembre del 2014.



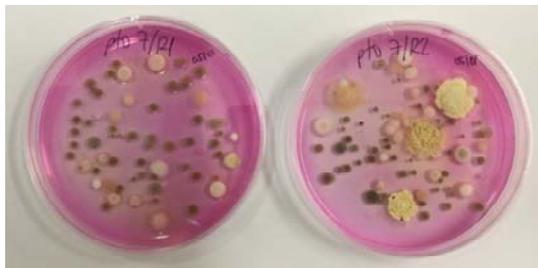
Punto 3: Repeticiones 1 y 2 (R1 y R2) del 16 de enero del 2015. **Punto 4:** Repeticiones 1 y 2 (R1 y R2) del 14 de enero del 2015.



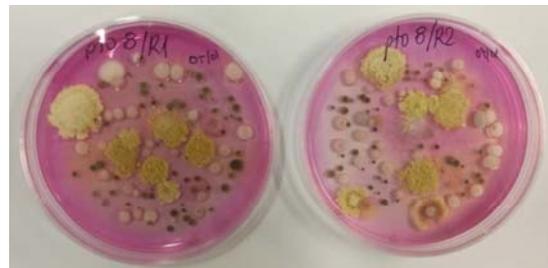
Punto 5: Repeticiones 1 y 2 (R1 y R2) del 2 de enero del 2015.



Punto 6: Repeticiones 1 y 2 (R1 y R2) del 29 de diciembre del 2014.



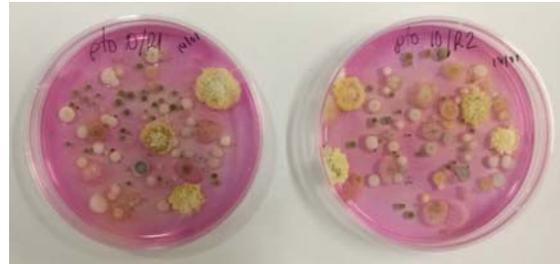
Punto 7: Repeticiones 1 y 2 (R1 y R2) del 5 de enero del 2015.



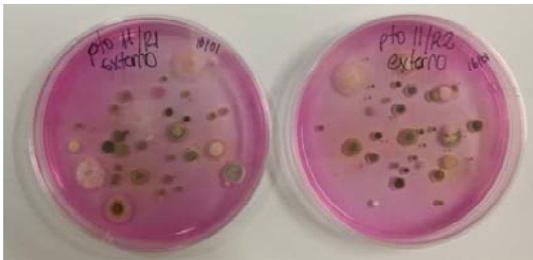
Punto 8: Repeticiones 1 y 2 (R1 y R2) del 7 de enero del 2015.



Punto 9: Repeticiones 1 y 2 (R1 y R2) del 9 de enero del 2015.



Punto 10: Repeticiones 1 y 2 (R1 y R2) del 14 de enero del 2015.



Punto 11: Repeticiones 1 y 2 (R1 y R2) del 16 de enero del 2015.