

Relevamiento microbiológico del aire y de materiales almacenados en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, Argentina y en el Archivo Nacional de la República de Cuba

S.F. Borrego¹, I. Perdomo¹, J. de la Paz², S.G. Gómez de Saravia^{3,a}, P.S. Guiamet^{3,b*}

1. Laboratorio de Conservación Preventiva. Archivo Nacional de la República de Cuba. (ARNAC). Compostela no 906 esquina a San Isidro, Habana Vieja, CP 10100, La Habana, Cuba, e-mail: sofia@arnac.cu
 2. Museo Ernest Hemingway. Área de Conservación Preventiva. Finca Vigía, San Francisco de Paula, Ciudad de La Habana, Cuba, e-mail: delapazjn@gmail.com
 3. Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA). Universidad Nacional de La Plata (UNLP). CCT La Plata-CONICET, CC 16, Suc. 4, (1900) La Plata, Argentina, e-mail: pguiamet@inifta.unlp.edu.ar
 - a. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP. CIC
 - b. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. CONICET
- * Autora a la que se le debe enviar la correspondencia.

RESUMEN. Los objetivos del estudio fueron: determinar la microbiota del aire en el Archivo Histórico del Museo de la Plata (AHMP) y en dos depósitos del Archivo Nacional de Cuba (ANC), determinar niveles de contaminación microbiana sobre fotografías y mapas de ambos archivos, realizar la tipificación de hongos y bacterias aislados y relacionarlos con eventuales procesos patogénicos. En el análisis microbiológico del aire se empleó un método de sedimentación y para documentos, se usó el hisopado. A los hongos se les determinó actividad celulolítica, producción de pigmentos y ácidos; a las bacterias, actividad proteolítica, amilolítica y acidificante. Se obtuvieron concentraciones microbianas elevadas en los locales del ANC siendo los niveles de bacterias significativamente altos. En el AHMP los valores fueron más bajos y sólo se detectó el género fúngico *Penicillium*. En el ANC prevalecieron *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium*. La mayoría de los hongos degradaron la celulosa, produjeron pigmentos y ácidos. De las bacterias del aire, predominaron las Gram positivas en la mayoría de los locales y se identificaron *Streptomyces*, *Bacillus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*. De los documentos se aislaron los hongos *Aspergillus*, *Penicillium* y *Talaromyces helicus* (teleomorfo de *Penicillium*) que por su difícil aislamiento de objetos de arte y documentos, resulta un hallazgo novedoso. También se aislaron las bacterias *Clostridium*, *Bacillus* y *Streptomyces* que poseen actividad proteolítica y/o celulolítica. Algunas de las bacterias y los hongos aislados son capaces de producir enfermedades.

Palabras clave: Ambiente, Archivos, Biodeterioro, Microorganismos, Papel.

ABSTRACT. The objectives of the paper were: a) to determine the concentration of microbial contamination of the Archivo Histórico del Museo de La Plata (AHMP) and also the levels of microbial contamination on photos; b) to find out the concentration of microbial contamination at repositories (Photographic Library and Maps Library) of the Archivo Nacional de Cuba (ANC) and to evaluate the levels of microbial contamination upon photos and maps; c) to conduct the physiological characterization of the fungi and bacteria isolated and d) to briefly describe the pathogenic characteristics of the microorganisms identified. A gravimetric method was used to perform the microbiological sampling of the air. Open Petri dishes located at approximately 2 m from the floor during 30 min were placed in five different areas of AHMP; they contained PCA culture media for total mesophilic aerobic bacteria and YGC (Yeast extract Agar –glucose – chloramphenicol) for moulds and yeasts. Open Petri dishes were exposed at approximately 3 m from the floor during 5 min at repositories of ANC (in five different places for the Maps Library and in two areas for the Photographic Library), the dishes contained Malt Agar + NaCl (7.5%) for the isolation of fungi and Nutrient Agar for bacteria. Later, the dishes for bacteria were incubated at 30°C for 72 hours while those for fungi were incubated at 28°C during 7 days. A hyssop was used for collecting samples from documents. The documents analyzed were 19th century maps and photos, having paper as their main support, although there were two in silk support and a crystal slide. Fungal and bacterial concentrations at AHMP were low and they oscillated between 60 and 200 CFU/m³, hence that it is considered a NON CONTAMINATED environment. On the other hand, the concentrations at ANC were higher, ranging between 78 and 261 CFU/m³ for fungi and 639 -2149 CFU/m³ for bacteria therefore its environments are regarded as NON CONTAMINATED as to fungi, but they classify as HIGHLY CONTAMINATED in relation to bacteria. *Penicillium* was the only fungal species detected in the air of AHMP, while the prevailing species at ANC's repositories were *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium*. *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus flavus* were the ones that prevailed within *Aspergillus* genus at the repositories of ANC. Most of the environmental fungi isolated degraded cellulose and excreted pigments which comprised tones ranging from yellow to gray, including also reddish and brown hues. With respect to air bacteria, it could be detected that the number of Gram positive species was higher in two of the areas analyzed (100% at AHMP and a 92% at the Photographic Library of ANC) and among the genera identified there were the following: *Streptomyces*, *Bacillus*, *Streptococcus* and *Staphylococcus*. Gram negative bacteria which prevailed at the Maps Library (77%) of ANC were also isolated; they belong to *Serratia* and *Enterobacter* genera. In relation to documents, it was determined that bacterial concentrations outnumbered fungal ones. Moreover, the total bacteria in documents with silk support were higher than those in the rest of the documents, and proteolytic bacteria prevailed in the first group, while the amylolytic species were higher in the other documents. *Clostridium*, *Bacillus* and *Streptomyces* species were identified within the bacterial genera, all of them with known proteolytic and/or cellulolytic activity. Species such as *Aspergillus*, *Penicillium*, *Micelia esterilia* and *Talaromyces helicus* (*Penicillium* teleomorphism) could be isolated from photos and maps. Regarding fungal teleomorphism, it is claimed that these are species hard to isolate from the surface of objects of art and documents, which turns out to be a novel finding in this research.

Key words: *Biodeterioration, Environment, Microorganisms, Paper.*

Introducción

En los ambientes exteriores e interiores se encuentra un gran número de partículas de diferente origen, forma y tamaño suspendidas en el aire; ellas constituyen el aerosol atmosférico. Se pueden clasificar de diferentes formas, teniendo en cuenta el origen (biológico, orgánico, inorgánico), la localización (marina, continental, rural, industrial, urbana) y el efecto que pueden causar sobre las superficies en que se depositan (químico, tóxico, patogénico, degradativo) (Mandrioli, 2002). Entre las partículas de origen biológico se encuentran bacterias, esporas fúngicas, algas, virus, protozoos, granos de polen, etc.

Los microorganismos pueden ser transportados por las partículas de polvo presentes en el aire exterior hacia el interior de los locales a través de la ventilación y los visitantes (Gallo *et al.*, 1996; Vaillant & Valentín, 1996). La colonización y el crecimiento sobre la superficie de los objetos que se encuentran en el interior, también pueden ser una importante fuente de contaminación del aire interior (Petushkova & Kandyba, 1999).

En condiciones estándares la microbiota del aire puede coexistir con los objetos y colecciones de valor histórico y con las personas en un ecosistema específico sin causar grandes daños. Sin embargo, en la medida que se produce un cambio inadecuado en las condiciones ambientales (temperatura y humedad relativa altas), los microorganismos pueden tener efectos negativos, tanto desde el punto de vista del biodeterioro como desde el punto de vista patogénico (Florian, 2002 a).

El biodeterioro puede definirse como un cambio en las propiedades de un material a causa de la actividad vital de los organismos (Hueck, 1965). Un amplio rango de materiales pueden ser afectados y entre ellos se encuentran metales, pinturas, papel, cartón, rocas, fotografías, textiles, cuero, plásticos, etc. Estos soportes en dependencia de las condiciones microclimáticas (temperatura y humedad relativa) pueden sufrir daño físico, químico y estético causado por insectos, algas, líquenes, hongos y bacterias, debido a que los soportes poseen sustancias nutritivas que facilitan el desarrollo de estos organismos (Villalba *et al.*, 2004; Borrego *et al.*, 2005).

Muchas de las bacterias que están presentes en estos soportes, y en particular en materiales de archivos, crecen empleando concentraciones muy bajas de nutrientes y permiten el desarrollo posterior de otros microorganismos, aunque pueden deteriorarlo desde el punto de vista químico y estético, en tanto que los hongos una vez que se han establecido en el sustrato lo deterioran química y mecánicamente (Koestler *et al.*, 1988).

Los problemas de biodeterioro alcanzan gran importancia económica y social cuando los sustratos colonizados pertenecen al patrimonio cultural (Guiamet *et al.*, 2006).

Los objetivos de este estudio fueron: a) determinar la concentración microbiana del aire en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, Argentina y los niveles de contaminación microbiana en fotos; b) determinar la concentración microbiana del aire en dos depósitos del Archivo Nacional de Cuba (Fototeca y Mapoteca) y evaluar la adherencia microbiana sobre fotografías y mapas; c) realizar la caracterización fisiológica de los hongos y las bacterias aislados; y d) describir brevemente las características patogénicas de los microorganismos identificados.

Métodos

Características de los ambientes estudiados

Los estudios microbiológicos se realizaron en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, Argentina (AHMP) y en dos depósitos (Fototeca y Mapoteca) del Archivo Nacional

de la República de Cuba (ANC), La Habana. Los parámetros fisicoquímicos medidos en el AHMP fueron: temperatura 23,8°C, humedad relativa (HR) 59%, iluminación por luz indirecta (área protegida) y en el ANC, depósito de mapas o Mapoteca: temperatura 24°C, HR 52%, iluminación por luz indirecta (área protegida), aire acondicionado. Depósito de fotografías o Fototeca: temperatura 27°C, HR 70%, iluminación por luz indirecta (área protegida), aire acondicionado; para estas mediciones se utilizó un termohigrómetro digital.

Muestreo microbiológico ambiental

Se llevó a cabo siguiendo el método gravimétrico (Análisis Ambiental, Norma Ramal de la Pesca NRP-201, 1987), descrito por Omeliansky. En el AHMP se colocaron placas de Petri abiertas a 2 m del piso durante 30 minutos en cinco puntos diferentes. Las placas contenían los medios de cultivo PCA (Agar Plate Count, Merck) para bacterias aeróbicas mesófilas totales y YGC (Merck) para mohos y levaduras. Luego las placas para bacterias se incubaron a 30°C durante 72 h y las de hongos y levaduras se incubaron a 28°C durante 7 días.

En los depósitos del ANC, se expusieron placas de Petri abiertas a 3 m del piso durante cinco minutos en cinco puntos diferentes para la Mapoteca y en dos puntos para la Fototeca; las placas contenían los medios Agar Malta (BIOCEN, Cuba) + NaCl (7,5 %) para el aislamiento de hongos (Rojas & Martínez, 2000; Aira *et al.*, 2002) y Agar Nutritivo (BIOCEN, Cuba) para bacterias. Posteriormente las placas que contenían Agar Nutritivo se incubaron a 30°C por 72 h y las de Agar Malta a 28°C durante 7 días.

Determinación de las unidades formadoras de colonias por m³ de aire

Una vez concluida la incubación de las placas, se contaron las colonias fúngicas y bacterianas emergentes en los medios de cultivo y se determinaron las unidades formadoras de colonia por m³ de aire (UFC/m³), teniendo en cuenta la ecuación descrita por Omeliansky (Análisis Ambiental, Norma Ramal de la Pesca NRP-201, 1987).

$$\text{Número de UFC/m}^3 \text{ de aire} = \text{Número de colonias} \times \text{factor K}$$

Donde: Número de colonias, equivale a la media total de las colonias que se contabilizaron por depósito y factor K, en un caso es igual a 100 y en otro igual a 80, pues son los factores que se emplean para placas Petri de 8 y 9 cm de diámetro, respectivamente, que fueron las usadas en los muestreos.

Aislamiento de microorganismos de fotografías y mapas

Todas las fotografías y los mapas seleccionados en este estudio pertenecen al siglo XIX. Se analizaron dos mapas del ANC, uno en papel (M1) y otro en seda (M2), tres fotos del AHMP, dos en papel (F1 y F2) y una diapositiva en cristal (F3), dos fotos del ANC, una en seda (F3A) y una en papel (F4). La toma de muestras se realizó con la técnica del hisopado en forma aséptica (Rempel, 1987). Los hisopos fueron lavados con solución fisiológica estéril, la muestra se homogeneizó en 5 ml de solución salina. Posteriormente se realizaron diluciones seriadas y se procedió a su cultivo.

a. Recuento de bacterias aeróbicas totales

En Agar Nutritivo o Agar CPS (almidón, fosfato de potasio y caseína soluble) se sembraron diluciones (desde 10² a 10⁶) de cada muestra proveniente de los diferentes materiales y se incubaron a 30°C durante 72 h; luego se realizó el recuento en placa de las colonias.

Se realizaron recuentos de bacterias amilolíticas y proteolíticas en medios de cultivos diferenciales (Agar almidón y Agar gelatina de Frazier) y se evaluaron sus porcentajes respecto de las bacterias aeróbicas totales. También se realizaron recuentos de bacterias con actividad acidificante en medios de cultivo diferenciales (caldo para bacterias acidificantes totales).

b. Ausencia /Presencia de bacterias reductoras de sulfato

En medio de Postgate B se sembraron alícuotas de las muestras proveniente del hisopado de los diferentes materiales y se incubaron a 30°C durante 15 días hasta evidenciar ennegrecimiento del medio (Postgate, 1979). En algunos casos se realizaron recuentos por la técnica de dilución por extinción o de las diluciones seriadas (Madigan *et al.*, 2004).

c. Ausencia /Presencia de bacterias reductoras de sulfito (*Clostridium* sp.)

Alícuotas de las muestras provenientes del hisopado de los distintos materiales se sembraron en medio diferencial reforzado para *Clostridium* (DRCM) y se incubaron a 30°C durante 15 días hasta evidenciar ennegrecimiento del medio. En algunos casos se realizaron recuentos por la técnica del Número Más Probable (NMP) (Madigan *et al.*, 2004).

d. Recuento de hongos y levaduras

En Agar Malta suplementado con NaCl (7,5%) y Agar YGC (extracto de levadura, glucosa y cloramfenicol) se sembraron diluciones de cada muestra proveniente del hisopado de los diferentes materiales y se incubaron a 28°C durante 7 días al cabo de los cuales se realizó el recuento en placa (Madigan *et al.*, 2004).

Identificación de las cepas aisladas

Para el caso de las colonias de hongos, se observaron sus características culturales y morfológicas y la identificación se realizó según los manuales de identificación taxonómica (Barnett & Hunter, 1987). Asimismo, se utilizó la información taxonómica de las páginas The *Aspergillus* Website (Image Bank, Species images of *Aspergillus*, 2006) y *Penicillium* (Pitt, 2000). Para la identificación de bacterias se realizaron también pruebas bioquímicas descritas en el Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Holt, 1984; Sneath *et al.*, 1986).

Determinación de la distribución relativa (frecuencia de aparición) de las colonias

Este análisis se realizó de acuerdo a Smith (1980), donde:

$$\text{Densidad relativa} = \frac{\text{Número de colonias del género o especie}}{\text{Número total de colonias de todos los géneros o especies}} \times 100$$

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

Para determinar la capacidad celulolítica y de producción de pigmentos de los hongos aislados, se procedió a sembrarlos en cuñas de un medio de cultivo sólido cuya composición salina para 1L es: nitrato de sodio 2 g; fosfato de dipotasio 1 g; sulfato de magnesio 0,5 g;

cloruro de potasio 0,5 g; sulfato ferroso 0,01 g; agar 20 g; pH = 5,5. Como fuente de carbono se emplearon: una tira de papel de filtro de 4,8 cm de largo por 1 cm de ancho (equivalente a 50 mg), celulosa cristalina (1%) y como control se empleó glucosa (1%). Los cultivos se incubaron a 28°C durante 21 días (Borrego *et al.*, 2005). La producción de pigmento se detecta sobre la tira de papel de filtro que se utiliza como fuente de carbono.

Determinación de la producción de ácidos de hongos

Para determinar la producción de ácidos, se sembraron las cepas de hongos en un caldo de cultivo de composición salina similar al empleado anteriormente para 1L: nitrato de sodio 2 g; fosfato de dipotasio 1 g; sulfato de magnesio 0,5 g; cloruro de potasio 0,5 g; sulfato ferroso 0,01 g; agar 20 g; pH = 5,5, pero con glucosa al 1% y el pH se ajustó a 7. Los cultivos se incubaron a 28°C por 3 días y posteriormente se midió el pH del medio de cultivo con la ayuda de un metropH (Borrego *et al.*, 2005).

Resultados

Niveles de contaminación microbiana ambiental

a. Archivo Histórico del Museo de La Plata (AHMP)

Las concentraciones fúngicas y bacterianas (Tabla 1) fueron bajas y oscilaron entre 60 y 200 UFC/m³ (Unidades Formadoras de Colonias/m³). Al comparar estos valores con la escala que propone Omeliansky para evaluar el grado de contaminación del aire, se aprecia que tanto en hongos como en bacterias, los valores fueron menores que 500 UFC/m³ por lo que el ambiente se clasifica como NO CONTAMINADO.

Tabla 1. Concentración microbiana del aire en el Archivo Histórico del Museo de la Plata. ¹: Indica que es el promedio de cinco determinaciones. ²: Indica la suma de la concentración media de hongos y de bacterias. a: Indica diferencias significativas según DUNCAN ($p \geq 0,05$). Se realizó una comparación con la cantidad de microorganismos totales obtenidos en la Fototeca y Mapoteca del ANC (datos se muestran en Tabla 2).

Concentración	Hongos (UFC/m ³)	Bacterias (UFC/m ³)	T (°C)	HR (%)
Máxima	200	200		
Mínima	0	0		
Media	80	60	23,8 ¹	59 ¹
Microorganismos Totales²	140^a			

b. Archivo Nacional de la República de Cuba (ANC)

Las concentraciones fúngicas y bacterianas alcanzadas en los depósitos estudiados en el ANC (Tabla 2), fueron para la Mapoteca de 78 y 638,6 UFC/m³ respectivamente, en tanto que para la Fototeca fueron muy superiores (260,7 y 2148,7 UFC/m³, respectivamente).

La comparación de estos valores con la escala de Omeliansky muestra para los hongos niveles menores que 500 UFC/m³ en ambos locales, por lo que los ambientes se clasifican como NO CONTAMINADOS. Para las bacterias, en la Mapoteca el valor fue menor que 700 UFC/m³, por lo que el ambiente se clasifica como POCO CONTAMINADO, en tanto que en la Fototeca fue mayor que 1500 UFC/m³ por lo que el ambiente se considera ALTAMENTE CONTAMINADO.

Tabla 2. Concentración microbiana del aire en la Fototeca y la Mapoteca del Archivo Nacional de la República de Cuba. ¹: Indica la suma de la concentración media de hongos y de bacterias. ²: Representa la media de cinco mediciones que se corresponden con los puntos de muestreo microbiológico. ³: Representa la media de dos mediciones que se corresponden con los puntos de muestreo microbiológico. *: Indica diferencias significativas según el test de Student ($p \geq 0,05$). Se realizó una comparación de las concentraciones medias de hongos y bacterias en cada depósito. b y c: Indican diferencias significativas según DUNCAN ($p \geq 0,05$). Se realizó una comparación con la cantidad de microorganismos totales obtenidos en el AHMP (dato se muestra en Tabla 1).

Depósito	Concentración	Hongos (UFC/m ³)	Bacterias (UFC/m ³)	T (°C)	HR (%)
Mapoteca	Máxima	126,0	1827,0		
	Mínima	63,0	126,0		
	Media	78,0	638,6*	23,8²	44²
Microorganismos Totales¹		716,6^b			
Fototeca	Máxima	400,0	2533,0		
	Mínima	120,0	1900,0		
	Media	260,7	2148,7*	23,8³	73³
Microorganismos Totales¹		2409,4^c			

Caracterización microbiana. Géneros fúngicos aislados del aire en ambos archivos

Dentro de los géneros fúngicos aislados, *Aspergillus* predominó significativamente en el aire de la Fototeca del ANC (41,3%) en tanto *Penicillium* prevaleció en el AHMP (100%) y en la Mapoteca (40%) (Figura 1). Como en la Fototeca del ANC el predominio fue del género *Aspergillus*, se realizó la identificación taxonómica a nivel de especies, ya que algunas de ellas poseen un marcado interés clínico.

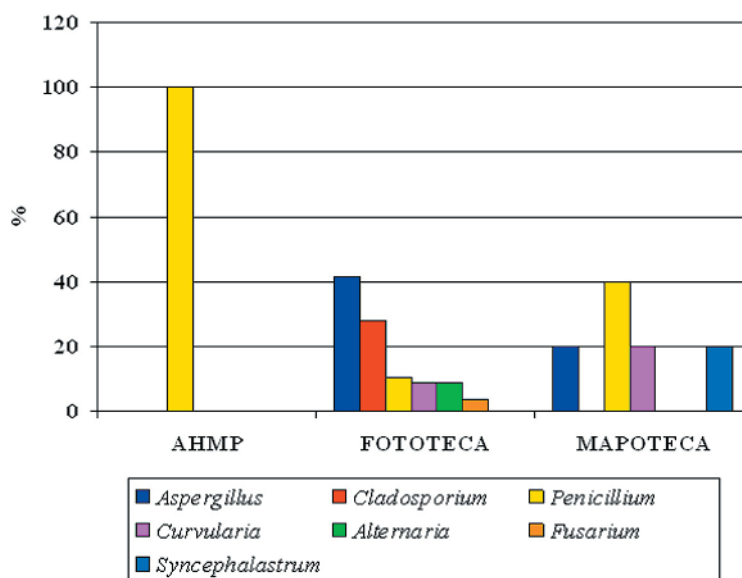


Figura 1. Densidad relativa (%) de los géneros fúngicos aislados en el aire del AHMP y en la Fototeca y Mapoteca del ANC.* Indica diferencias significativas según test de Student ($p \geq 0,05$). Se realizó una comparación de las densidades relativas por géneros entre la Fototeca y la Mapoteca.

La especie que prevaleció significativamente en los dos depósitos del ANC fue *Aspergillus niger* (Figura 2). En la Fototeca del ANC también se detectaron otras especies tales como *Aspergillus flavus* y *Aspergillus fumigatus* que son las de mayor interés clínico (Latgé, 1999; Gost *et al.*, 2003; Ellis, 2006).

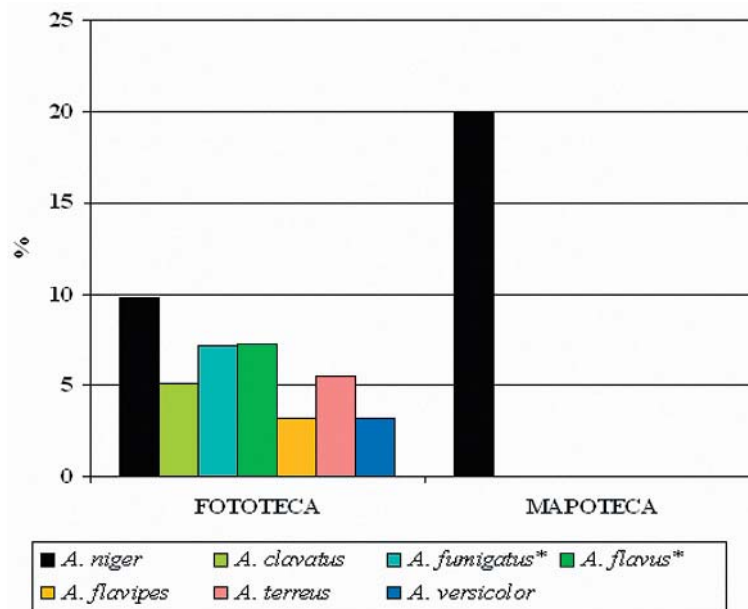


Figura 2. Densidad relativa (%) de las especies de *Aspergillus* encontradas en el aire de los depósitos estudiados en el ANC. *: Especies de mayor interés clínico (Latgé, 1999; Gost *et al.*, 2003; Ellis, 2006). a, b, y c: Indican diferencias significativas según DUNCAN ($p \geq 0,05$).

La caracterización fisiológica de las cepas fúngicas aisladas, evidenció que la mayoría de los hongos fueron capaces de crecer a expensas del papel de filtro como única fuente de carbono (celulosa amorfa, de más fácil asimilación) y de la celulosa cristalina (de difícil asimilación), lo que indica que presentan actividad celulolítica (Tabla 3). También, todas las cepas produjeron ácidos, pues provocaron una disminución marcada del pH del medio de cultivo, y la mayoría excretaron diferentes pigmentos sobre el papel que emplearon como fuente de carbono, abarcando colores desde el amarillo hasta el carmelita intenso pasando por el naranja y tonos rojizos.

Tabla 3. Actividad celulolítica cualitativa, producción de pigmentos y de ácidos por parte de los hongos aislados del aire de los depósitos estudiados. +++: Indica crecimiento abundante, ++: Indica crecimiento moderado, +: Indica crecimiento pobre, también es indicativo de la presencia de pigmento, ±: Indica crecimiento o producción de pigmento muy pobre, -: Indica NO crecimiento y NO producción de pigmento, ¹: La producción de pigmentos se evidenció sobre la tira de papel de filtro que utiliza cada hongo como fuente de carbono para su crecimiento.

Cepa	Crecimiento sobre papel de filtro	Crecimiento en celulosa cristalina	Producción de pigmentos ¹	pH
<i>A. niger</i> 1	+++	++	+	4,5
<i>A. niger</i> 2	+++	++	+	5,8
<i>A. clavatus</i>	++	+	+	4,9
<i>A. fumigatus</i>	++	+	-	6,1
<i>A. flavus</i>	++	++	+	5,0
<i>A. nidulans</i>	++	+	-	4,8

continúa en página siguiente

continúa de página anterior

Cepa	Crecimiento sobre papel de filtro	Crecimiento en celulosa cristalina	Producción de pigmentos ¹	pH
<i>A. flavipes</i>	++	+	-	5,2
<i>A. terreus</i>	+++	++	+	6,2
<i>A. versicolor</i>	+++	++	+	5,1
<i>Cladosporium sp. 1</i>	+++	++	+	3,6
<i>Cladosporium sp. 2</i>	+	±	+	4,7
<i>Cladosporium sp. 3</i>	++	++	+	5,0
<i>P. implicatum</i>	+++	++	-	4,4
<i>P. chrysogenum</i>	++	+	+	5,6
<i>P. commune</i>	+++	++	+	4,5
<i>P. aurantiogrosum</i>	+++	+	+	5,2
<i>P. citrinum</i>	++	+	+	6,0
<i>P. decumbens</i>	++	+	-	5,8
<i>Curvularia sp.</i>	+	+	+	5,5
<i>Curvularia sp. 1</i>	+	+	+	6,0
<i>Curvularia sp. 2</i>	+	±	+	4,5
<i>Alternaria sp. 1</i>	-	-	±	4,8
<i>Alternaria sp. 2</i>	+	±	+	5,4
<i>Fusarium sp. 1</i>	++	+	+	5,7
<i>Syncephalastrum sp.</i>	++	+	-	6,1

La tabla 4 resume las afectaciones que los hongos pueden provocar al hombre.

Tabla 4. Afectaciones a la salud que pueden provocar los géneros fúngicos aislados en mayor proporción en los depósitos (Gallup, 2006; Ellis, 2006).

Género fúngico	Afectaciones que pueden provocar a la salud
<i>Cladosporium</i>	Es un alérgeno potente. Produce alergias del Tipo I (hipersensibilidad inmediata o rinitis alérgica seguida de ataques de asma, son el caso de la fiebre del heno y el asma) y del Tipo III (hipersensibilidad tardía, es el caso de la hipersensibilidad a neumonías). Produce toxinas que provocan serios efectos al hombre. Puede producir micosis severas.
<i>Aspergillus</i>	Es un alérgeno común. Produce alergias del Tipo I y III. Puede producir broncopulmonías alérgicas, aspergilosis y sinusitis alérgica por hongos. Productor de potentes toxinas tales como aflatoxinas B1 y B2, gliotoxinas, fumigotoxinas, etc., que pueden ingresar al cuerpo por las vías respiratorias (Baxter <i>et al.</i> , 1981). Puede provocar infecciones oculares y aspergilosis.
<i>Penicillium</i>	Es un alérgeno común. Produce alergias del Tipo I y III. Produce toxinas dañinas al hombre. Produce compuestos orgánicos volátiles que dan un fuerte olor a moho o algo mohoso y que resultan irritantes. Algunas especies pueden producir infecciones en el hombre (<i>e.g.</i> <i>P. marneffei</i>).
<i>Alternaria</i>	Alérgeno común. También produce alergias del Tipo I y III. Además produce lesiones nasales, subcutáneas, oculares y en uñas. Puede producir toxinas dañinas a la salud y otras que tienen propiedades mutagénicas. Puede producir micosis severas.
<i>Curvularia</i>	Es un alérgeno común. Produce alergias del Tipo I. Produce con mucha frecuencia sinusitis alérgica por hongos. Puede causar queratitis ocular, neumonías y en paciente inmunodeprimidos o con tratamientos de esteroides, puede provocar endocarditis, absceso cerebral y diseminación de la infección. Puede producir micosis severas.
<i>Syncephalastrum</i>	Sólo se ha reportado un caso de infección cutánea por <i>S. ramosum</i> . No se ha estudiado su posible alergenicidad.

Géneros bacterianos aislados del aire en ambos archivos

Se pudo apreciar que las características morfológicas de las colonias bacterianas así como el comportamiento a la tinción de Gram fueron muy variados (Tabla 5). El predominio de bacterias Gram positivas en el AHMP fue de 100% y en la Fototeca fue de 92% (entre cocos y bacilos), mientras que en la Mapoteca predominaron las bacterias Gram negativas en un 77%.

Tabla 5. Densidad relativa de los distintos tipos de bacterias aisladas en el aire de los archivos. ¹: Indica que se incluye un 8 % de cepas del género *Streptomyces* sp. ²: Indica que se incluye un 1% de cepas del género *Streptomyces* sp. a, ab y b: Indican diferencias significativas según DUNCAN ($p \geq 0,05$).

Características morfológicas de las bacterias	ANC		
	AHMP	Fototeca	Mapoteca
	Densidad relativa (%)		
Cocos Gram positivos	40,0 ^a	56,8 ^a	12,0 ^b
Cocos Gram negativos	-	-	55,0
Bacilos Gram positivos no esporulados	20,0 ^{ab}	32,5 ^{a1}	11,0 ^{b2}
Bacilos Gram negativos	-	8,0	22,0
Bacilos Gram positivos esporulados	20,0	2,7	-

Entre las bacterias Gram positivas se aislaron *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Bacillus* sp., y *Streptomyces* sp. Dentro de las Gram negativas se identificaron *Serratia* sp., *Serratia marcescens* y *Enterobacter agglomerans*.

Tabla 6. Afectaciones a la salud que pueden provocar los géneros bacterianos aislados en mayor proporción en los depósitos.

Género bacteriano	Afectaciones que pueden provocar a la salud
Bacterias Gram negativas	Producen endotoxinas que están compuestas por lipopolisacáridos relacionados con la membrana bacteriana; al inhalarse desencadenan irritación de las mucosas del sistema respiratorio causando fiebre, escalofríos, malestares, dolores de cabeza. Como consecuencia de una exposición continuada a este tipo de bacterias puede producirse bronquitis y asma (Yang, 2003).
<i>Staphylococcus</i> y <i>Streptococcus</i>	Tienen la capacidad de provocar en el hombre procesos inflamatorios que se acompañan con la formación de pus y provocan enfermedades.
<i>Streptomyces</i>	Se caracteriza por producir afectaciones alérgicas de los alvéolos por hipersensibilidad (neumonitis). Desde 1988, <i>Streptomyces</i> se consideraba uno de los grupos bacterianos más importantes con relación a los riesgos laborales. Sin embargo, no fue hasta finales de la década de 1990 que Hirvonen <i>et al.</i> (1997) confirmaron experimentalmente la afectación que produce esta bacteria en el sistema respiratorio provocando asma a las personas que la respiran. Similares resultados se han publicado recientemente por otros autores (Jussila <i>et al.</i> , 2001; Reponen <i>et al.</i> , 2001).

Valores de adherencia microbiana detectados en mapas y fotografías

Los niveles de microorganismos aislados de las fotografías y los mapas seleccionados al azar se muestran en la tabla 7. Como se aprecia, se aisló mayor concentración de bacterias que de hongos. Estos resultados muestran correlación con las concentraciones bacterianas detectadas en el aire de los depósitos del ANC que resultaron significativamente superiores a las fúngicas (Tabla 2). Sin embargo, en el AHMP (Tabla 1) no se observa esa correspondencia.

Tabla 7. Concentración microbiana aislada de fotografías y mapas.

Tipo de documento	Ubicación	Bacterias (UFC/cm ²)	Hongos (UFC/cm ²)
Mapa 1 (M1)	Mapoteca (ANC)	3,5 x 10 ⁴	2,2 x 10 ⁴
Mapa 2 (M2)	Mapoteca (ANC)	7,1 x 10 ⁵	2,0 x 10 ²
Fotografía 1 (F1)	AHMP	2,2 x 10 ³	1,0 x 10 ²
Fotografía 2 (F2)	AHMP	3,7 x 10 ⁴	-
Fotografía 3 (F3)	AHMP	3,0 x 10 ⁴	1,0 x 10 ³
Fotografía 3A (F3A)	Fototeca (ANC)	1,2 x 10 ⁵	1,5 x 10 ²
Fotografía 4 (F4)	Fototeca (ANC)	3,9 x 10 ⁴	2,8 x 10 ⁴

Las características fisiológicas que mostraron las cepas bacterianas que se aislaron fueron diversas (Tabla 8) lo que evidencia la variabilidad de la población que coloniza a estos documentos, aunque se demuestra que la microbiota presente en las fotos y mapas del ANC fue más abundante y coincidente con algunos géneros aislados del aire.

Tabla 8. Concentraciones de las bacterias aisladas (UFC/cm²) de fotografías y mapas obtenidas por el crecimiento en diferentes medios de cultivo.

Características fisiológicas de las bacterias aisladas	M1 (papel)	M2 (seda)	F1 (papel)	F2 (papel)	F3 (diapositiva cristal)	F3A (seda)	F4 (papel)
Bacterias Aeróbicas Totales	3,5 x 10 ⁴	7,1 x 10 ⁵	2,2 x 10 ³	3,0 x 10 ⁴	3,0 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁵	3,9 x 10 ⁴
Bacterias amilolíticas	1,1 x 10 ⁴	3,0 x 10 ⁴	3,4 x 10 ³	1,0 x 10 ⁴	2,5 x 10 ⁴	7,2 x 10 ³	-
Bacterias proteolíticas	4,2 x 10 ³	3,0 x 10 ⁵	2,3 x 10 ³	3,7 x 10 ⁴	3,0 x 10 ⁴	2,4 x 10 ⁵	1,6 x 10 ⁴
Bacterias acidificantes	-		+	-	-	-	-
Bacterias Reductoras de Sulfato	-	-	-	-	-	-	-
Bacterias Reductoras de Sulfito (<i>Clostridium</i> sp.)	-	-	+	-	-	+	+

La tabla 9 muestra los diferentes tipos de microorganismos que se aislaron de las fotos y los mapas. Como se puede apreciar dentro de los hongos, *A. niger* se aisló de todos los documentos del ANC, mientras que *A. flavus* se aisló de una fotografía (F3A) y de los mapas (M1 y M2). Asimismo, *Penicillium* sp. se aisló de dos fotos del AHMP (F1 y F3) y de una del ANC (F4),

en tanto que *Talaromyces helicus* Benjamín var. *major* (teleomorfo de *Penicillium*) sólo se halló en un mapa del ANC (M2).

Tabla 9. Concentraciones de las bacterias aisladas (UFC/cm²) de fotografías y mapas obtenidas por el crecimiento en diferentes medios de cultivo.

Tipo de microorganismo y/o características morfológicas	M1 (papel)	M2 (seda)	F1 (papel)	F2 (papel)	F3 (diapositiva cristal)	F3A (seda)	F4 (papel)
Hongos							
<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	-	-	-	+	-
<i>Aspergillus niger</i>	+	+	-	-	-	+	+
<i>Penicillium sp.</i>	-	-	+	-	+	-	+
<i>Talaromyces helicus</i>	-	+	-	-	-	-	-
<i>Micelia sterilia</i>	-	-	-	-	+	-	-
Bacterias							
<i>Cocos Gram positivos</i>	+	+	+	+	+	-	-
<i>Cocos Gram negativos</i>	+	+	-	-	-	-	+
<i>Bacilos Gram positivos no esporulados</i>	-	+ ¹	+	-	+	+	-
<i>Bacilos Gram positivos esporulados</i>	-	-	+ ²	+ ³	+ ³	+ ²	+ ³
<i>Bacilos Gram negativos</i>	-	+	+	-	-	+	+

Discusión

La comparación de la microbiota ambiental de los depósitos estudiados, mostró que en el Archivo de la República de Cuba (ANC), a pesar de haber empleado un tiempo de exposición de las placas de Petri de sólo 5 minutos, las concentraciones microbianas que se obtuvieron en los dos depósitos analizados fueron significativamente mayores a las del Archivo Histórico del Museo de la Plata (AHMP) donde el tiempo de exposición fue de 30 minutos (Tablas 1 y 2).

Al comparar las concentraciones microbianas que se obtuvieron en el ANC con la escala que propone Omeliansky para evaluar el grado de contaminación del aire, se observa un comportamiento variado en la clasificación de los ambientes, de ahí que se seleccione la variante más riesgosa y que está dada por el carácter de ALTAMENTE CONTAMINADO que imponen las concentraciones bacterianas. Estas consideraciones coinciden con reportes más recientes, que plantean que por encima de 1000 UFC/m³ los ambientes se consideran contaminados (Indoor Air Quality, 2000; Eagle Industrial Hygiene Associates, 2004; Cassares, 2007), aunque aún no existe una normativa internacional que establezca los límites para clasificar a un ambiente interior como contaminado o no.

A pesar de lo antes expuesto, los niveles de hongos detectados en los depósitos del ANC fueron bajos, y esto pudo deberse a que algunas esporas fúngicas son muy livianas y por tanto su sedimentación es difícil; incluso se plantea que esporas $\leq 5 \mu\text{m}$ requieren vientos mayores de 25 m/seg para que puedan sedimentar o una humedad relativa muy alta (Leventin, 2002). Sin embargo, las células bacterianas generalmente se encuentran depositadas sobre el polvo que al sedimentar sobre las placas de Petri, las arrastran.

Concentraciones microbianas similares fueron detectadas en Cuba en ambientes interiores de viviendas, archivos, bibliotecas y museos que han sido muestreados con biocoletores

(Rojas & Martínez, 2000; Pons & Rojas, 2003; Borrego, 2005). Sin embargo, en estudios previos que se realizaron en otros depósitos del ANC utilizando un aeroscopio como biolector, se encontraron niveles de contaminación microbianas significativamente menores (Vaillant *et al.*, 1989). Esto demuestra: 1) la necesidad de realizar muestreos sistemáticos para conocer la variabilidad de la microbiota, y 2) que esa elevada contaminación del aire de los depósitos pudiera deberse a que el ambiente que rodea al ANC posee una elevada contaminación microbiana, que se introduce en los depósitos a través de los conductos de ventilación natural.

Con relación a los géneros fúngicos aislados del aire en los locales estudiados (Figura 1), resultados similares han sido obtenidos por otros autores. Asimismo, se ha referido similitud en el comportamiento fisiológico de éstos en cuanto a degradación de celulosa, producción de pigmentos y de ácidos (Tabla 3) (Martínez, 2003; Borrego *et al.*, 2005; Hidalgo & Borrego, 2006).

En lo referente a las potencialidades patogénicas de especies fúngicas (Tabla 4), existe una gran cantidad de publicaciones que refieren estos aspectos (Chapman, 2006; Gallup, 2006). Si bien la mayoría de los hongos aislados son saprófitos, pueden producir enfermedades a personas inmunosuprimidas o desencadenar estados alérgicos debido a la continua estadía del personal en estos ambientes, así como afectaciones dermatológicas por la manipulación excesiva de los documentos.

En particular, el género *Aspergillus* es uno de los de mayor interés clínico, pues posee especies que son capaces de provocar una gran cantidad de afectaciones a las personas tales como alergias, keratitis y aspergilosis severa (Latgé, 1999; Gost *et al.*, 2003). Dentro de ellas *A. fumigatus* y *A. flavus*, especies que fueron encontrados en los depósitos del ANC (Figura 2), son las de mayor importancia patogénica (Kamei Watanabe, 2005; Denning, 2006; Ellis, 2006; del Palacio *et al.*, 2007; Hedayati *et al.*, 2007), de ahí la necesidad de mejorar las condiciones de ventilación de la Fototeca del ANC y de utilizar medios de protección.

Con relación a las bacterias ambientales, se observó un predominio de las Gram positivas (entre cocos y bacilos) en ambos archivos (Tabla 5). Asimismo, los niveles de bacterias Gram negativas fueron menores en la mayoría de los depósitos, a excepción de la Mapoteca que presentó un total del 77%. Además, en los depósitos del ANC se destaca la existencia de un 1% y un 8% de cepas de *Streptomyces* sp., género que se considera desde 1988 uno de los más importantes con relación a los riegos laborales (Dutkiewicz *et al.*, 1988; Jussila *et al.*, 2001; Reponen *et al.*, 2001; Hirvonen *et al.*, 2002).

Otros autores han reportado niveles altos de bacterias Gram positivas en ambientes interiores (Indoor Air Quality, 2000; Tsai & Macher, 2005). Independientemente del aporte microbiano provocado por la penetración del polvo a los ambientes interiores, se plantea que las bacterias Gram positivas también pueden ingresar al interior de los locales como consecuencia de la actividad del hombre, ya que muchas de ellas pueden encontrarse en la piel y las mucosas del organismo (Zhu *et al.*, 2003). Igualmente, pueden ser transportadas por los zapatos de las personas y por el polvo que se encuentra suspendido en el piso y que se remueve cuando las personas caminan sobre él (Goh *et al.*, 2000).

Entre las bacterias Gram positivas se aislaron cepas de *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp. Dentro de las Gram negativas se identificaron *Serratia* sp., *Serratia marcescens* y *Enterobacter agglomerans*.

Bacillus, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Streptomyces* han sido aislados por otros autores en el aire de archivos (Valentín *et al.*, 1997). Sin embargo, en toda la literatura consultada no se encontraron reportes de la presencia de *Enterobacter agglomerans* para este tipo de ambiente, el cual pudiera constituir un riesgo significativo para la salud (Commission of the European Communities, 1993; Yang, 2004; Air Quality Sciences, 2007) (Tabla 8).

Con relación a *Bacillus*, se ha publicado que niveles altos en el aire de interiores es generalmente indicativo de daños provocados por el agua o por la necesidad de realizar un mantenimiento constructivo en el edificio (Indoor Air Quality, 2004). La causa de la existencia de este género

bacteriano en la Fototeca (2,7%) se corresponde precisamente con la necesidad de realizar una reparación del sistema de ventilación, así como con la elevada humedad relativa del local.

La concentración microbiana viable determinada sobre fotografías y mapas mostró diferencias, pues los niveles bacterianos fueron superiores a los fúngicos en la mayoría de estos documentos (Tabla 7). Este efecto fue mayor en M2 (mapa en seda) y F3A (foto en seda), debido probablemente a la elevada concentración de bacterias proteolíticas que poseen, en tanto los niveles de hongos fueron menores al del resto de los documentos analizados en el ANC. Sin embargo, los hongos prevalecieron sobre los documentos de papel y cristal (M1, F1, F2, F3, F4).

En sentido general, se obtuvieron altas concentraciones de bacterias amilolíticas a partir de todos los documentos analizados. Asimismo, se detectó la presencia de bacterias acidificantes y reductoras de sulfito del género *Clostridium* en F1, F3A y F4, género que se caracteriza por una marcada actividad proteolítica.

Dentro de los grupos bacterianos aislados de fotografías y mapas se evidenció un predominio de las Gram positivas (Tabla 9), lo que demuestra una estrecha correlación con el ambiente (Tabla 5). Las cepas identificadas se correspondieron con los géneros *Bacillus*, *Clostridium* y *Streptomyces*. Resultados similares obtuvieron Abrusci *et al.* (2005) al muestrear filmes de diferentes archivos de España.

Bacillus es un género bacteriano que puede degradar un amplio rango de sustratos debido a sus características fisiológicas (Claus & Berkeley, 1986). Al producir endosporas, sus especies son altamente resistentes a condiciones ambientales extremas y a una variada gama de sustancias químicas (incluyendo antibióticos y desinfectantes), por lo que poseen una elevada tasa de supervivencia en el ambiente y son fáciles de diseminar. Por otro lado, se ha reportado que durante el proceso de fabricación del papel de fotografía, bacterias del género *Bacillus* pueden contaminar la gelatina que forma parte de la emulsión (Stickley, 1986). Más recientemente, se demostró que otros géneros no esporulados tales como *Salmonella*, *Kluyvera*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*, también pueden estar contaminando la gelatina y llegar a licuarla cuando las condiciones son favorables (De Clerck & De Vos, 2002). Esto explicaría la presencia en las fotografías estudiadas, de otros grupos bacterianos con formas y respuesta a la tinción de Gram que se corresponden con cualquiera de géneros antes mencionados.

Igualmente, se conoce desde hace años que los géneros *Bacillus*, *Clostridium* y *Streptomyces* tienen una marcada actividad celulolítica, es decir, pueden atacar el papel y degradarlo en 24 horas si el ambiente tiene una humedad relativa de 90% (Zhang & Lynd, 2003; Ramírez & Coha, 2003; Chacón & Waliszewski, 2005; Ágoston-Szabó *et al.*, 2006). Esto podría ocurrir si la humedad relativa de los depósitos estudiados aumentara bruscamente por cualquier motivo y se mantuviera estable por varios días.

En relación con los hongos, se pudo detectar que el género *Aspergillus* fue el de mayor predominio, y dentro de éste, las especies *A. niger* y *A. flavus* se encontraron en la mayoría de los documentos (Tabla 9). Asimismo, se aisló *Penicillium* sp. de F1, F3 y F4; *Micelia sterilia* de F3; y *Talaromyces helicus* Benjamín var. *major* (teleomorfo de *Penicillium*) sólo de M2. Esta composición fúngica sobre los materiales se corresponde en general con la composición del aire en los depósitos analizados, debido a la distribución cosmopolita y la elevada adaptabilidad metabólica que poseen los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* (Florian & Mannigan, 2000; Lugauskas *et al.*, 2003).

Con relación al teleomorfismo en los hongos, se ha podido evidenciar que son difíciles de aislar de la superficie de objetos de arte y documentos (Florian, 2002 b), lo cual resulta un hallazgo novedoso en este trabajo. También se pudo saber que esta forma de *Penicillium* posee actividad celulolítica (Marsh *et al.*, 1949; Wilson, 1973; Brooks *et al.*, 1992; Moloney *et al.*, 2004; Chacón & Waliszewski, 2005; Protein, 2007), de ahí que su presencia en un documento es muy riesgosa para la conservación del mismo.

Conclusiones

- Los niveles de bacterias en el aire en los dos depósitos del Archivo Nacional de La República de Cuba fueron superiores a los de hongos, en tanto que en el Archivo Histórico del Museo de La Plata la concentración fúngica fue superior.
- En el aire del Archivo Histórico del Museo de La Plata predominó el género fúngico *Penicillium*. Sin embargo, en el Archivo Nacional de la República de Cuba existieron diferencias entre los depósitos estudiados, ya que predominó *Penicillium* en la Mapoteca y *Aspergillus* en la Fototeca.
- La mayoría de los hongos aislados degradaron la celulosa, produjeron pigmentos y ácidos.
- *Talaromyces helicus*, que posee actividad celulolítica, constituye el hallazgo novedoso de este trabajo.
- Dentro de las bacterias del aire, el predominio correspondió a las Gram positivas.
- Estos estudios permitieron determinar la presencia de una flora microbiana con actividad enzimática de acuerdo con las características del sustrato investigado (papel, seda o cristal con o sin emulsión de gelatina) que fue registrada en los diferentes medios de cultivo utilizados.
- La presencia de *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp. y de los diferentes hongos identificados, indica que los ambientes son insalubres.
- Las diferencias en las características climáticas no influyeron en el comportamiento general de la microbiota ambiental y de la existente sobre los documentos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), a la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) Proyecto de Incentivos 11N 578 y 11X 506, al Proyecto de Colaboración Científica SECyT/CITMA (Argentina-Cuba) Cu/Pa-Ex/025 y a los proyectos ADAI (090E/2005 y 087E/2005) la financiación del trabajo. Se agradece la colaboración técnica de Paola Lavin (becaria CONICET) y de la Lic. Patricia Batisttoni (profesional principal CONICET), así como a la Directora del Museo de La Plata, Dra. Silvia Ametrano, por permitir el muestreo microbiológico.

Referencias

- Abrusci, C., Martín-González, A., Del Amo, A., Catalina, F., Collado, J. & Platas, G. 2005. Isolation and identification of bacteria and fungi from cinematographic films. *International Biodeterioration & Biodegradation* 56: 58-68.
- Ágoston-Szabó, E., Dinka, M., Némedi, L. & Horváth, G. 2006. Decomposition of *Phragmites australis* rhizome in a shallow lake. *Aquatic Botany* 85: 309-316.
- Aira M.J; Rojas, T.I. Jato, V. 2002. Fungi associated with three houses in Havana (Cuba). *Grana*: 41: 114-118. *International Journal of Palynology and Aerobiology*.
- Air Quality Sciences. 2007. Preocupación de los agentes biológicos en ambientes interiores. <http://www.aerías.org/DesktopDefault.aspx?tabindex=4&tabid=66> (Consultado 17/10/07).
- Análisis Ambiental. 1987. Método de Omeliansky. Análisis higiénico sanitario y ambiental. Métodos de ensayos microbiológicos. 7 pps. *Norma Ramal de la Pesca NRP-201. Ciudad de La Habana. Ministerio de la Industria Pesquera*.
- Barnett, H.L & Hunter, B.B. 1987. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 3rd Edition, Burgess Publishing Co. Minneapolis.
- Baxter, C.S. Wey, H.E. Burg, W.E. 1981. A prospective analysis of the potential risk associated with inhalation of aflatoxin-contaminated grain dusts. *Food Cosmet Toxicol*. 19: 763-769.

- Borrego, S. 2005. El edificio de archivo: su influencia en la contaminación microbiana ambiental, el biodeterioro y la salud del personal. *IV Coloquio Iberoamericano del Papiro a la Realidad Virtual, Casa de las Américas*. La Habana, Cuba.
- Borrego, S., Pons, V. & Perdomo, I. 2005. La influencia de la contaminación microbiana ambiental en el biodeterioro y la salud del personal. *Las Bibliotecas y el Libro en el Siglo XXI. I Evento Científico-Técnico*. La Habana, Cuba.
- Brooks, M.M., Tuohy, M.G., Savage, A.V., Claeysens, M. & Coughlan M.P. 1992. The stereochemical course of reactions catalysed by the cellobiohydrolases produced by *Talaromyces emersonii*. *Biochem J.* 283: 31–34.
- Cassares, N.C. 2007. Calidad del aire interior. *Taller de Preparación para desastres. Recuperación de los daños biológicos en colecciones afectadas por desastres*. Instituto de Historia. La Habana, Cuba.
- Chacón, S.L.O. & Waliszewski, K.N. 2005. Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. *Universidad y Ciencia* 21:113-122.
- Chapman, M.D. 2006. Challenges associated with indoor moulds: Health effects, immune response and exposure assessment. *Medical Mycology* 44:S29-S32
- Claus, D. & Berkeley, R.C.W. 1986. The genus *Bacillus*. In: Sneath, P.H.A., Sharpe, M.E., & Holt, J.G., (eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. 2, pp. 1105–1139. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Commission of the European Communities. 1993. Door Air Quality & Its Impact On. *Report No. 12. Biological In Indoor Environments*. Verhoeff, A. (ed.). EUR 14988. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities. Brussels, Luxembourg.
- De Clerck, E. & De Vos, P. 2002. Study of the bacterial load in a gelatin production process, focused on *Bacillus* and related endospore forming genera, *Systematic and Applied Microbiology* 25:611–618.
- De Clerck, E., Vanhoutte, T., Hebb, T., Geerinck, J., Devos, J. & De Vos, P. 2004. Isolation, characterization and identification of bacterial contaminants in semi-final gelatin extracts. *Applied and Environmental Microbiology* 70:3664–3672.
- del Palacio, A., Alambra, A., Cuétara, A.S. & Pontón, J. 2007. Estado actual del diagnóstico precoz de las infecciones invasoras causadas por *Aspergillus* y otros hongos filamentosos emergentes. *Rev Iberoam Micol* 24: 187-197
- Denning, D.W. 2006. *Aspergillosis*. Schering-Plough Corporation, United Kingdom. 76 pps.
- Dutkiewicz, J., Jablonski, L., & Olenchock, S.A. 1988. Occupational biohazards: a review. *Am. J. Ind. Med.* 14:605-623.
- Eagle Industrial Hygiene Associates. 2004. Biochem Microbial Sampler – Microbial Sample Results. <http://www.eagleih.com/micro.html>. (Consultado 15/11/04).
- Ellis, D. 2006. *Aspergillus. Hyaline Hyphomycetes. Fungal Descriptions*. Mycology Online. School Molecular & Biomedical Science, The University of Adelaide, Australia. [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_\(hyaline\)/Aspergillus/index.html](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Aspergillus/index.html) (Consultado 22/10/06)
- Florian, M.L.F & Manning, L. 2000. SEM analysis of irregular fungal fox spots in an 1854 book: population dynamics and species identification. *International Biodeterioration and Biodegradation* 46:205–220.
- Florian M.L.E. 2002 a. *Fungal Facts. Solving fungal problems in heritage collections*. Archetype Publications Ltd. London.
- Florian, M.L.E. 2002 b. The four components of biodeterioration and of preservation of our collective memory. *International Symposium a Choice and Strategies for Preservation of a Collective Memory*. Dobbiaco, Toblach, Italy.
- Gallo, F., Valenti P., Colaizzi, P., Sclocchi, M.C., Pasquariello, G., Scorrano, M., Maggi, O. & Persiana A.M. 1996. Research on the viability of fungal spores in relation to different microclimates and materials. *International Conference on Conservation and Restoration of Archive and Library Materials*. Vol. I. Erice, pp. 177-193. Roma, Italy,
- Gallup, D. (Chairman). 2006. Fungal Library. *The Environmental Reporter EMLab*. A Technical Newsletter for IAQ Professionals. <http://www.emlab.com/app/fungi/Fungi.po>. (Consultado 21/11/06)
- Goh, I., Obrad, J.P., Viswanathan, S. & Huang, Y. 2000. Airborne bacteria and fungal spores in the indoor environment. A case study in Singapore. *Acta Biotechnológica* 20:67-73.

- Gost, J., Bermejo, B., Rivero, M., Espatolero, M.J., Polo, I. & Sínz de la Murieta, J. 2003. Vigilancia y control de las infecciones originadas por gérmenes oportunistas: aspergilosis. *ANALES* 23:185-192.
- Guiamet, P.S., Gómez de Saravia, S.G., Arenas, P., Pérez M.L., de la Paz, J., Borrego, S.F. 2006. Natural products isolated from plant used in biodeterioration control. *Pharmacologyonline* 3:537-544.
- Hedayati, M.T., Pasqualotto, A.C., Warn, P.A., Bowyer, P. & Denning, D.W. 2007. Review *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Mycology* 153:1677-1692.
- Hidalgo, Y. & Borrego, S. 2006. Aislamiento y caracterización de hongos en documentos de la Biblioteca Nacional "José Martí". *Revista Biblioteca*. http://www.bnjm.cu/rev_biblioteca/bibliotecas_2006/pages/articulo6.htm (Consultado 18/12/06).
- Hirvonen, M.R., Huttunen, K., Jussila, J., Murtoniemi, T., Iivanainen, E., Komulainen, H., Nevalainen, A. & Roponen, M., 2002. 3B1o5 Bacterial strains from moldy building are highly potent inducers of inflammatory and cytotoxic effects. *Indoor Air 2002 Abstracts by Hal Levin* (ed.)
- Holt, J.G (editor-in-chief). 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore, London.
- Hueck, H.J. 1965. The biodeterioration of materials as a part of hydrobiology. *Mater Organismen* 1: 5-34.
- Image Bank. Species images of *Aspergillus*. 2006. *The Aspergillus Website*. <http://www.aspergillus.man.ac.uk/index-home.htm> (Consultado 17/05/06).
- Indoor Air Quality. 2000. General considerations for the sampling of viable bacteria in air. *Environmental Health Resources Inc*. <http://www.chiac.com/iaq/testing.htm>. (Consultado 5/9/03).
- Indoor Air Quality. 2004. Bioaerosols: Bacteria/Endotoxin. <http://www.indoorallergyrelief.com/index.php/30>. (Consultado 23/11/04)
- Jussila, J, Komulainen, H, Huttunen, K, Roponen, M, Hälinen, A, Hyvärinen, A, et al. Inflammatory responses in mice after intratracheal instillation of spores of *Streptomyces californicus* from indoor air of moldy house. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001; 171:61-91.
- Kamei, K. Watanabe, A. 2005. *Aspergillus* mycotoxins and their effect on the host. *Medical Mycology Supplement* 1, 43:S95 – S99.
- Koestler, R.J., Santoro, E.D., Druzik, J., Preusser, F., Koepf, L. & Derrick M. 1988. Ongoing studies of the susceptibility to biodeterioration of stone consolidated to microbiologically induced corrosion. In: *Biodeterioration 7*. Houghton, D.R., Smith, RN, Eggins, H.O.W. (eds.) Elsevier Sc. London, UK, 441 pps.
- Latgé, J.P. 1999. *Aspergillus fumigatus* and aspergilosis. *Clinical Microbiol. Rev.* 12:310-350.
- Levetin, E. 2002. Bioaerosols in agricultural and out door setting. In: Bitton, G. (ed.): *Encyclopedia of Environmental Microbiology*. John Wiley and Sons, NY.
- Lugauskas, A., Levinskaitė, L. & Peciulytė, D. 2003. Micromycetes as deterioration agents of polymeric materials, *International Biodeterioration and Biodegradation* 52: 233–242.
- Mandrioli, P. 2002. Bioaerosol and Biodeterioration. *Science and Technology for Sustainable Protection of Cultural Heritage. Technical Notes for Session 78*. UCL Center for Sustainable Heritage London, UK.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. & Parker J. 2004. *Biología de los microorganismos*. 10ª edición. Pearson Educación, S.A., Madrid. 1011 pps.
- Marsh, P.B., Bolleebacher, K., Butler, W.L. & Raper, K.B. 1949. The fungi concerned in fiber deterioration 2. Their ability to decompose cellulose. *Text. Res. J.* 19: 462-484.
- Martínez, P. 2003. Determinación de la acidez producida por hongos contaminantes en bienes culturales. *Boletín Patrimonio y Desarrollo* 9: 34-35.
- Moloney, A.P., Considine, P.J. & Coughlan, M.P. 2004. Cellulose hydrolysis by the cellulases produced by *Talaromyces emersonii* when grown on different inducing substrates. *Biotechnology and Bioengineering* 25:1169-1173.

- Petushkova, J. & Kandyba, P. 1999. Aeromicrobiological studies in the Moscow cathedrals. *Aerobiologia* 15:193-201.
- Pitt, J.I. 2000. A laboratory guide to common *Penicillium* species. Color Appendix. *Third edition published by Food Science Australia*. http://www.dehs.umn.edu/iaq_fib_fg_gloss_penicillium.htm. (Consultado 29/07/07).
- Pons, V. & Rojas, T. I. 2003. Micobiota contaminante en el Museo Antropológico Montané. *Tesis de Diploma, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba*, 150 pp.
- Postgate, J.R. 1979. *The sulphate reducing bacteria*. Cambridge, 151 pp.
- Protein: Cellobiohidrolase I (cellulase, Endoglucanase I, CBH1) from *Talaromyces emersonii*. <http://scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/scop/data/scop.b.c.eh.b.bh.g.html>, 2007. (Consultado 12/10/07)
- Ramírez, P. & Cocha, J.M. 2003. Degradación enzimática de celulosa por actinomicetos termófilos: aislamiento, caracterización y determinación de la actividad celulolítica. *Rev. peru. biol.* 10: 67-77.
- Rempel, S. 1987. *The care of photographs*. 1° Edition, Editorial Nick Lyon Books. New York, USA. 117 pps.
- Reponen, M., Toivola, M., Meklin, T., Ruotsalainen, M., Komulainen, H., Nevalainen, A. & Hirvonen, M.R. 2001. Differences in inflammatory responses and cytotoxicity in RAW264.7 macrophages induced by *Streptomyces anulatus* grown on different building materials. *Indoor Air* 11:179-84.
- Rojas, T.I. & Martínez, E. 2000. Monitoreo microbiano del aire: Criterios metodológicos. *IV Taller de la Cátedra de Medio Ambiente, CITMA. Contribución a la Educación y la Protección Ambiental*, Vol. 1.
- Smith, G. 1980. *Ecology and Field Biology*. Harper & Row, New York.
- Sneath, P.H., Mair, N.S., Sharpe, M.E. & Holt, J.G. (eds). 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 2, Editorial Williams & Wilkins, Baltimore, London.
- Stickley, F.L. 1986. The biodegradation of gelatin and its problems in the photographic industry, *The Journal of Photographic Science* 34:111-112.
- Tsai, F.C. & Macher, J.M. 2005. Concentrations of airborne culturable bacteria in 100 US office buildings from the BASE study. *Indoor Air* 15:71-81.
- Vaillant, M., Chi, L. & Sánchez AI. (1989). Sobre la contaminación microbiológica existente en depósitos del Archivo Nacional. *Documentos* 2:44-65.
- Vaillant, M. & Valentín, N. 1996. *Principios básicos de la conservación documental y causas de su deterioro*. Ministerio de Educación y Cultura. Instituto del Patrimonio Histórico Español, Madrid.
- Valentín, N., Vaillant, M. & Guerrero, H. 1997. Programa de control integrado de plagas en bienes culturales de países de clima mediterráneo y tropical. *Apoyo* 7:13-15.
- Villalba, L.S., Mikan, J.F. & Sanchez, J. 2004. Actividades hidrolíticas y caracterización isoenzimática de poblaciones microbianas aisladas del patrimonio documental del Archivo General de Colombia. *NOVA* 2:50-58.
- Wilson, T. 1973. Studies on wood degradation and cellulolytic activity for microfungi. *Studia For. Suec.* 104:5-40.
- Yang, C.S. 2004. Endotoxins. *Aerotech P & K (Aerotech Laboratorios, Inc. and P & K Microbiology Services, Inc.)* Version 2003-1.
- Zhang, Y. & Lynd, L. 2003. Bioenergetics of Microbial Cellulose Utilization of *Clostridium thermocellum*. *25th Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*, Breckenridge, Colorado.
- Zhu, H., Phelan, P.E., Duan, T., Raupp, G.B., Fernando, H.J.S., & Che, F. 2003. Experimental study of indoor and outdoor airborne bacterial concentrations in Tempe, Arizona, USA. *Aerobiologia* 19:201-211.

Recibido: mayo-08
Aceptado: diciembre-09