

Comportamiento de la aeromicrobiota en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba durante 7 años de estudio

Behavior of the aeromicrobiote in two repositories of the National Archive of the Republic of Cuba during seven years of study

Sofía Borrego Alonso *, Alian Molina Veloso

Palabras clave:

calidad de ambientes interiores, microorganismos en el aire, patrimonio documental, hongos, bacterias

Keywords:

quality of indoor environments, microorganisms in the air, documentary heritage, fungi, bacteria

ABSTRACT

High concentration of microorganisms on air in repositories of archives, libraries and museums can degrade organic material and entails a high risk to cultural heritage preservation. In tropical countries, these harmful effects may be maximized by high values of temperature and relative humidity prevailing during most of the year. The aims of this research were: to study the behavior of air microbial concentration in two repositories of the National Archives of the Republic of Cuba (NARC) in 7 years and to determine the density and relative frequency of fungal genera and species as well as their ecological and environmental impact. The microbiological samples were taken in photo and map libraries by using an appropriate culture media and a sedimentation method. Cellulolytic, proteolytic and amylolytic activities as well as acid and pigment excretion on fungal isolates were qualitatively determined. Fungal concentration inside the photo library was higher than in the map library. The predominant fungal genera on air in both repositories were *Aspergillus*, *Penicillium* and *Cladosporium*, although considerable relative densities of *Curvularia*, *Alternaria* and *Fusarium* were detected in some years, mainly in the photo library. *Aspergillus* and *Cladosporium* genera were the fungal species with the greatest ecological impact on the repositories. Most of the fungi degrade cellulose, gelatin and starch. All strains excrete acids and over 50% of them excrete pigments of various colors. In both repositories, Gram-positive bacteria prevailed and their relative densities were higher in those years when the temperature and the relative humidity were higher (photo library in 2004, map library in 2007 and 2010). Ecologically, *Bacillus* and *Streptomyces* genera prevailed in the photo library and were frequent in the map library. These bacterial genera greatly contributed to biodeterioration because they have cellulolytic activity and so can degrade papers when the relative humidity is maintained at or above 90% during 24 h.

RESUMEN

En países de clima tropical los efectos dañinos que producen los microorganismos en instituciones patrimoniales que conservan documentos pueden potenciarse por los valores altos de humedad relativa y temperatura existentes durante la mayor parte del año. Los objetivos de este trabajo fueron: evaluar el comportamiento de la concentración microbiana aérea en el interior de dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba (ARNAC) en 7 años así como determinar la densidad y frecuencia relativa de los géneros y especies fúngicas para conocer su impacto ecológico y ambiental. Los muestreos microbiológicos se realizaron en la Fototeca y la Mapoteca empleando medios de cultivo apropiados y un método de sedimentación. Se determinó cualitativamente la actividad celulolítica, amilolítica y proteolítica, así como la excreción de ácidos y pigmentos. En la Fototeca la concentración fúngica se mantuvo más alta que en la Mapoteca durante el estudio y los géneros fúngicos predominantes fueron *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cladosporium* aunque en algunos años *Curvularia*, *Alternaria* y *Fusarium* se detectaron a densidades relativas considerables, fundamentalmente en Fototeca. Las especies fúngicas de mayor impacto ecológico en los depósitos correspondieron a los géneros *Aspergillus* y *Cladosporium*. La mayoría de las cepas aisladas degradaron celulosa, gelatina y almidón, todas excretaron ácidos y más del 50% produjeron pigmentos de colores diversos. En ambos depósitos predominaron las bacterias Gram positivas siendo mayores sus densidades relativas en los años donde la temperatura y la humedad relativa ambiental fue más alta (Fototeca en 2004; Mapoteca en 2007 y 2010). Ecológicamente los géneros *Bacillus* y *Streptomyces* resultaron abundantes en la Fototeca y frecuentes en la Mapoteca, ambos con un impacto importante en el biodeterioro porque poseen actividad celulolítica, por lo que pueden degradar el papel si la humedad relativa se mantiene igual o superior al 90% durante 24 h.

INTRODUCCIÓN

El continuo conocimiento y control de las condiciones ambientales en archivo, bibliotecas y museos constituye hoy en día uno de los elementos más importantes a tener en cuenta en la conservación preventiva del Patrimonio Documental para una Nación. La prevalencia de condiciones ambientales inadecuadas junto a la presencia de elevadas concentraciones microbianas en el aire de los depósitos donde se conserva ese patrimonio, viene despertando cada vez la atención de investigadores y especialistas del área de la conservación de bienes patrimoniales, debido al riesgo que esto implica tanto para la integridad del patrimonio que conservan como para la salud del personal que labora en estas instituciones o que recibe servicios sistemáticos en ellas (Borrego *et al.*, 2010a; Sterflinger, 2010; Sterflinger & Pinzari, 2011). Específicamente, la contaminación fúngica es uno de los principales objetos de estudio, ya que las esporas fúngicas constituyen el grupo más numeroso de todo el material biológico que es transportado por el aire además del elevado potencial biodeteriorante y patógeno que posee este grupo microbiano (Florian, 2004; Mesquita *et al.*, 2009; Cappitelli & Sorlini, 2010; Sterflinger & Pinzari, 2011; Michaelsen *et al.*, 2012).

La existencia de valores altos de temperatura y humedad relativa en países de clima tropical, como Cuba, favorece el incremento del polvo y de la concentración de esporas fúngicas en el aire, así como su deposición sobre diferentes materiales facilitando el desarrollo y proliferación de hongos. Estos poseen una potente, versátil y adaptable maquinaria metabólica, que les permite degradar una gran diversidad de sustratos, tanto de origen orgánico como inorgánico, propiciando el biodeterioro de los diferentes soportes atesorados en los depósitos de las instituciones patrimoniales (Florian, 2004; Villalba *et al.*, 2004; Borrego *et al.*, 2010 a,b; Valentín, 2010). Por otra parte, los hongos se caracterizan por poseer diferentes estructuras y mecanismos de patogenicidad, que ocasionan padecimientos específicos en el ser humano (Nevalainen &

Morawska, 2009; Cabral, 2010; Gutarowska *et al.*, 2012; Haleem & Mohan, 2012).

Numerosos estudios han establecido una estrecha relación entre las condiciones ambientales, la presencia de propágulos fúngicos viables o no y la incidencia de los mismos en el desencadenamiento de afecciones respiratorias (Nevalainen & Morawska, 2009; Cabral, 2010), lográndose asociar la presencia de los mismos con el desarrollo de síntomas pertenecientes a estos tipos de patologías y a otras (Cabral, 2010; Guarro, 2012; Rocha *et al.*, 2013). Por ello, múltiples grupos de investigación recomiendan la necesidad de aumentar la frecuencia de estudios de las condiciones ambientales en los locales para evaluar la calidad de los ambientes, en aras de garantizar una caracterización medioambiental de los mismos que permitan solucionar precozmente problemáticas asociadas al desencadenamiento de plagas y/o afecciones a la salud del personal.

De igual manera, el polvo es portador de células y esporas bacterianas que junto a las existentes en el aire, contribuyen a que pueda existir una elevada concentración bacteriana en el bioaerosol de interiores representando un riesgo para la salud humana. Sin embargo, las bacterias juegan un rol más limitado en el biodeterioro de los soportes en relación con los hongos, pues requieren condiciones de humedad muy elevadas (>90%) para degradar los componentes que conforman a los diferentes soportes que forman parte de las colecciones de valor patrimonial.

Las bacterias Gram positivas pueden ingresar al ambiente interior de los locales por dos vías. La primera puede estar asociada a la actividad humana, ya que muchas de ellas pueden formar parte de la piel y las mucosas del organismo (Zhu *et al.*, 2003; Goh *et al.*, 2000) y la segunda puede estar relacionada con la entrada de tierra, polvo y restos de plantas (Tsai & Macher, 2005). Dentro de este grupo bacteriano se encuentran los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Bacillus* donde existen especies que son patógenas al hombre (Nevalainen & Morawaska, 2009) igualmente se conoce desde hace años que el

género *Streptomyces* resulta dañino al sistema respiratorio humano (Rintala *et al.*, 2008).

En cuanto a las bacterias Gram negativas, se sabe que pueden producir endotoxinas que están compuestas por lipo-polisacáridos relacionados con la membrana bacteriana, al inhalarse desencadenan irritación de las mucosas del sistema respiratorio causando fiebre, escalofríos, malestares, dolores de cabeza. Esto ocurre cuando se activan los macrófagos de los pulmones y de otras células respiratorias provocando inflamación del sistema respiratorio. Como consecuencia de una exposición continuada a este tipo de bacterias puede producirse bronquitis y asma (IndoorAirQuality.com, 2004). También se ha visto que estas bacterias pueden exportar informaciones genéticas relacionadas con la resistencia a antibióticos y la expresión de endotoxinas a través del aire en forma de compuestos volátiles, aún después de muertas, lo cual las hace en extremo peligrosas (Heal & Parsons, 2002). Teniendo en cuenta estos aspectos, en el Archivo Nacional de la República de Cuba (ARNAC) se viene investigando la calidad ambiental de los depósitos no solo desde el punto de vista microbiológico sino también químico-físico. Por ello, los objetivos de este trabajo fueron: evaluar el comportamiento de la concentración microbiana aérea en el interior de dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba (ARNAC) en 7 años así como determinar la densidad y frecuencia relativa de los géneros y especies fúngicas para conocer su impacto ecológico y ambiental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características de los depósitos analizados

El estudio se realizó tomando como base a dos depósitos del ARNAC (Fototeca y Mapoteca) que conservan materiales especiales. La Fototeca es un depósito pequeño (7x2x3 m, de largo x ancho x altura) que se encuentra situado en el semisótano del edificio y cuenta con un total de 66340

fotografías pertenecientes a los siglos XIX y XX, fundamentalmente. La mayoría de las técnicas fotográficas se encuentran en soporte papel aunque existen otras técnicas antiguas que emplean hierro, cobre, vidrio como soporte. Dentro del material atesorado se encuentran 220 álbumes con fotografías en papel y cartón, 36 ferrotipos (láminas de hierro como soporte), 6 placas de vidrio, 1 daguerrotipo (lámina de cobre como soporte), 2500 caricaturas y 56 grabados en papel y cartulina cartulina y 3 hojas con imágenes caladas. Es un depósito que se mantiene cerrado lo que impide la entrada de luz solar ya que posee un acondicionador de aire que permanece encendido todo el año así como un deshumidificador para el control de la humedad relativa.

La Mapoteca es un depósito grande (15.2x6.2x5 m, de largo x ancho x altura) ubicado en el primer piso del edificio conserva planos, mapas y privilegios de invención, que ocupan un total de 195 metros lineales; estos en su mayoría están elaborados sobre papel de distintos tipos (lo que se conoce como papel para mapas desde el siglo XVIII (papel de fibras largas, resistente, grueso), papel vegetal de diferentes grosores, papel industrial ordinario de diferentes grosores, papel antiguo o de trapo propio del siglo XVIII, cartón ordinario del siglo XX, etc.), aunque hay algunos que poseen como soporte tejidos tales como algodón, lino y seda. Los originales datan del período de 1747 a 1962 y hay copias de 1975. El depósito normalmente permanece cerrado impidiendo el contacto con el exterior así como la penetración de luz natural debido a que posee un sistema de acondicionadores de aire que controlan la temperatura y la humedad relativa del local y que se mantienen funcionando todo el año.

Muestreo microbiológico del aire

El estudio se llevó a cabo tomando los resultados microbiológicos que se obtuvieron en los muestreos que se realizaron en los meses de septiembre a noviembre de cada año, así como los valores promedios anuales de temperatura

(T) y humedad relativa (HR). Para realizar el muestreo microbiológico ambiental se empleó el método de sedimentación o de placa expuesta propuesto por Omeliansky (Bogomolova & Kirtsideli, 2009; Borrego *et al.*, 2010 b; Guiamet *et al.*, 2011). La cantidad de puntos a muestrear se determinó según Sanchis (2002) que reporta un método sencillo que toma como base la raíz cúbica del volumen del local. Según este criterio, en la Mapoteca se muestrearon cinco puntos y en la Fototeca dos puntos en todos los casos por triplicado.

Para el aislamiento de hongos se emplearon placas Petri de 110 mm con Agar Malta (BIOCEN, Cuba) suplementado con cloruro de sodio (7%) (Rojas *et al.*, 2002) y para bacterias Agar Nutriente (BIOCEN, Cuba) que se colocaron a 2 m del piso y se mantuvieron abiertas por 5 minutos. Posteriormente las placas se incubaron a 30°C durante 72 h para bacterias y por 7 días para hongos.

Determinación de las unidades formadoras de colonias por m³ de aire

Concluida la incubación, se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias para poder determinar la concentración microbiana expresada en unidades formadoras de colonias por m³ de aire (UFC.m⁻³) según la ecuación descrita por Omeliansky (Bogomolova & Kirtsideli, 2009; Borrego *et al.*, 2010 a,b; Guiamet *et al.*, 2011; Borrego *et al.*, 2012):

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

Donde: N- concentración microbiana (UFC.m⁻³), a- número de colonias por placa de Petri, b- superficie de la placa (cm²), t- tiempo de exposición (minutos).

Para determinar el grado de contaminación de un ambiente, Omeliansky propuso una escala y estableció que: concentraciones microbianas ≤ 500 UFC.m⁻³ es propio de un ambiente no contaminado, si la concentración microbiana está 501 – 750 UFC.m⁻³ es un ambiente poco contaminado, si se encuentra entre 751 – 1000 UFC.m⁻³ es ligeramente contaminado, si está entre

1001 – 1500 UFC.m⁻³ es un ambiente contaminado y si es ≥ 1501 UFC.m⁻³ el ambiente está altamente contaminado.

Identificación de microorganismos aislados

Posteriormente se realizó el aislamiento y purificación de las diferentes cepas microbianas que crecieron. Para la identificación de los hongos se realizó la observación de las características culturales y morfológicas de cada colonia tanto en el anverso como en el reverso, así como de las estructuras microscópicas realizando preparaciones en lactofenol y microcultivos (Casadesús & Rojas, 1981). Para la identificación de los hongos hasta género se siguieron los criterios de Barnett & Hunter (1998). Se utilizaron claves taxonómicas específicas para llevar la identificación a especies de *Aspergillus* (Klich & Pitt, 1994), *Penicillium* (Pitt, 2000), *Curvularia* (Ellis, 1976; Mena, 2004), *Cladosporium* (Ellis, 1976; Bensch *et al.*, 2010) y *Fusarium* (Booth, 1977; Seifert, 1996). Para el caso de las bacterias se realizó su agrupación según la tinción de Gram y la morfología celular, así mismo se realizaron las pruebas bioquímicas correspondientes a cada cepa aislada según el Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Holt, 1984; Sneath *et al.*, 1986).

Determinación de la densidad relativa (DR) de los hongos aislados

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

Densidad relativa (%) = (Nº de colonias del género o especie/ Nº total de colonias de todos los géneros o especies) x 100.

Determinación de la frecuencia relativa (FR) de los hongos aislados cada año

Este análisis se realizó de acuerdo a Esquivel *et al.* (2003) donde:

Frecuencia relativa (%) = (Veces que se presenta un determinado taxón / N° de muestreos realizados) x 100

Según la frecuencia relativa, estos autores establecieron cinco categorías ecológicas que son: microorganismos muy comunes o abundantes son los que se encuentran en una frecuencia relativa entre 81 y 100%, comunes los que se encuentran entre 61 y 80%, frecuentes o moderados los que están entre 41 y 60%, ocasionales son aquellos que se encuentran a una frecuencia relativa entre 21 y 40% y raros los que están entre 0.1 y 20%.

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

Para determinar la actividad celulolítica cualitativamente y la producción de pigmentos en los hongos aislados, se procedió a sembrarlos en cuñas de un medio de cultivo cuya composición salina para 1L es: nitrato de sodio 2 g; fosfato de potasio 1g; sulfato de magnesio 0.5 g; cloruro de potasio 0.5 g; sulfato ferroso 0.01 g; extracto de levadura 0.5 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 30°C durante 21 días (Rautela & Cowling, 1986; Borrego *et al.*, 2010 a,b; Borrego *et al.*, 2012).

Determinación de la actividad proteolítica de los hongos

La actividad proteolítica cualitativa fue determinada a través de la hidrólisis de la gelatina en tubos de cultivo implementando una modificación al método de Abrusci *et al.* (2005) y reportada por Borrego *et al.* (2010 a,b). Cada aislado fue inoculado por punción en el medio cuya composición salina para 1litro es: nitrato de sodio 2g; fosfato de potasio 1g; sulfato de magnesio 0.5 g; sulfato ferroso 0.01 g. Se adicionó gelatina a razón de 120 gl⁻¹. Los tubos inoculados fueron

incubados por 7 días a 30°C. Posteriormente fueron encubados a 4°C evidenciándose la reacción de hidrólisis por la liquefacción del medio al mover los tubos.

Determinación de la actividad amilolítica de los hongos aislados

La actividad amilolítica cualitativa fue determinada a través de la hidrólisis del almidón en placas (Borrego *et al.*, 2010 b; 2012).

Determinación de la producción de ácidos de hongos

Suspensiones de esporas de las cepas de hongos aisladas, se sembraron en un caldo de cultivo de composición salina similar al empleado anteriormente, pero con Glucosa al 1%, el pH se ajustó a 7. Los cultivos se incubaron a 30°C por 3 días y posteriormente se midió el pH del medio de cultivo con la ayuda de un metropH (Borrego *et al.*, 2010 b, 2012).

Análisis estadístico

Para detectar diferencias significativas entre las concentraciones microbianas que se obtuvieron en cada depósito analizado se empleó un ANOVA-1 complementado con la prueba de Duncan. Resultados con $p \leq 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de la concentración microbiana ambiental

Como resultado de la medición y el registro de la temperatura y la humedad relativa en la Fototeca y la Mapoteca durante años, se ha podido determinar los valores promedios de ambos depósitos (Figura 1). Como se aprecia en la Fototeca en el año 2004, los valores promedios de estos parámetros se mantuvieron altos y por encima de los

recomendados para la conservación de este tipo de documentos (Walker, 2003; Resolución No. 41/2009, CITMA) debido a que buena parte del año (Julio a Diciembre) el depósito estuvo sin climatización como resultado de la avería del equipo de clima. En el caso de la Mapoteca, en dos años (2007 y 2010) los valores se mantuvieron por encima de lo establecido para estos soportes (Walker, 2003; Resolución No. 41/2009, CITMA) y las afectaciones, igualmente, se debieron a roturas de los equipos de clima.

En la figura 2 se muestran los valores de concentración fúngica, bacteriana y de microorganismos totales en los dos depósitos. Se observa para el caso de la Fototeca que en el 2004 se obtuvieron las concentraciones significativamente mayores de hongos, bacterias y microorganismos totales. Las concentraciones fúngicas de todos los años estudiados oscilaron entre 251 y 1011 UFC.m⁻³, las bacterianas estuvieron entre 812 y 1855 UFC.m⁻³ y la de microorganismos totales entre 1609 y 2866 UFC.m⁻³; sin embargo en el 2004 las concentraciones fúngicas, bacterianas y de microorganismos totales fueron de 1011 UFC.m⁻³, 1855 UFC.m⁻³ y 2866 UFC.m⁻³, respectivamente, coincidiendo con las concentraciones más altas. Para la Mapoteca

en los años 2007 y 2010 se obtuvieron los valores significativamente más elevados de concentración de hongos, bacterias y microorganismos totales (año 2007: hongos = 250 UFC.m⁻³, bacterias = 924 UFC.m⁻³, microorganismos totales = 1174 UFC.m⁻³; año 2010: hongos = 600 UFC.m⁻³, bacterias = 1038 UFC.m⁻³, microorganismos totales = 1637 UFC.m⁻³).

Al analizar el comportamiento de las concentraciones microbianas y las condiciones termohigrométricas, se observa que existe una estrecha relación entre los años de mayores concentraciones microbianas y los de más altos valores de T y HR como consecuencia de la rotura de los equipos de clima, debido a que en esos años los depósitos tuvieron que permanecer buen tiempo con las ventanas abiertas y eso propició la entrada de gran cantidad de polvo y propágulos fúngicos del ambiente exterior que permanecieron en el aire de ambos locales (Figura 1). Por otro lado, se observa que en sentido general las concentraciones de bacterias fueron mayores que las de hongos, lo que concuerda con resultados obtenidos con anterioridad en el ARNAC (Borrego *et al.*, 2010 a,b; Borrego & Perdomo, 2012; Borrego *et al.*, 2012). Al parecer esta es una tendencia que se ha obtenido no solo en Cuba sino también en

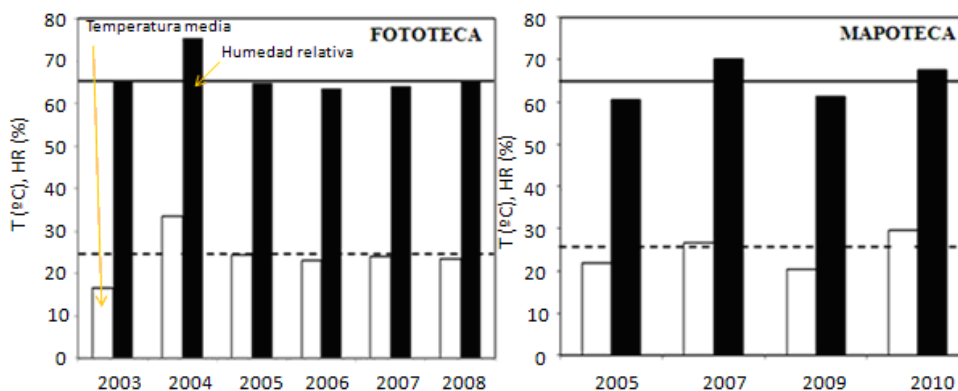


Figura 1. Comportamiento de los valores termohigrométricos promedios en la Fototeca y la Mapoteca del Archivo Nacional de la República de Cuba durante los años analizados. Note con línea negra oscura continua el valor promedio de humedad relativa permisible ($65 \pm 5\%$) y con líneas discontinuas el valor de temperatura permisible ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) para estos tipos de documentos (Walker, 2003; Resolución No. 41/2009 del CITMA).

Figure 1. Behavior of the thermohygrometric median values in the photo and map libraries at National Archive of the Republic of Cuba during the analyzed years. The continuous dark black line the relative indicates the humidity value allowed ($65 \pm 5\%$) and dashed lines indicates the temperature value allowable ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) for these types of documents (Walker, 2003; Resolution No. 41/2009, in Spanish CITMA)

otros países (Chen *et al.*, 2010; Niesler *et al.*, 2010; Gutarowska *et al.*, 2012; Borrego *et al.*, 2012).

El hecho de que se haya detectado una baja concentración de esporas fúngicas en algunos años, puede deberse a que existen algunas de ellas que son muy ligeras y por tanto su sedimentación es difícil, incluso se plantea que esporas $\leq 5\mu\text{m}$ requieren vientos menores de $25 \text{ m}\cdot\text{seg}^{-1}$ o elevada humedad relativa para que puedan sedimentar (Levetin, 2002). Sin embargo, las células bacterianas generalmente se encuentran depositadas sobre el polvo que al sedimentar sobre las placas de Petri, las arrastran (Borrego *et al.*, 2010 a).

Para evaluar el grado de contaminación ambiental de los depósitos es necesario comparar los resultados obtenidos con la escala que propuso Omeliansky. Según ella, la Fototeca solamente mostró un ambiente de contaminado a altamente contaminado en el 2004 cuando ocurrieron las anomalías antes mencionadas; durante los demás años, el ambiente se mantuvo no contaminado para hongos y ligeramente contaminado para bacterias. En cuanto a la Mapoteca, a pesar de que en 2007 hubo afectaciones de la temperatura y la humedad relativa, el ambiente se mantuvo entre no contaminado a ligeramente contaminado, mientras que en el 2010 pasó a estar de poco contaminado a contaminado.

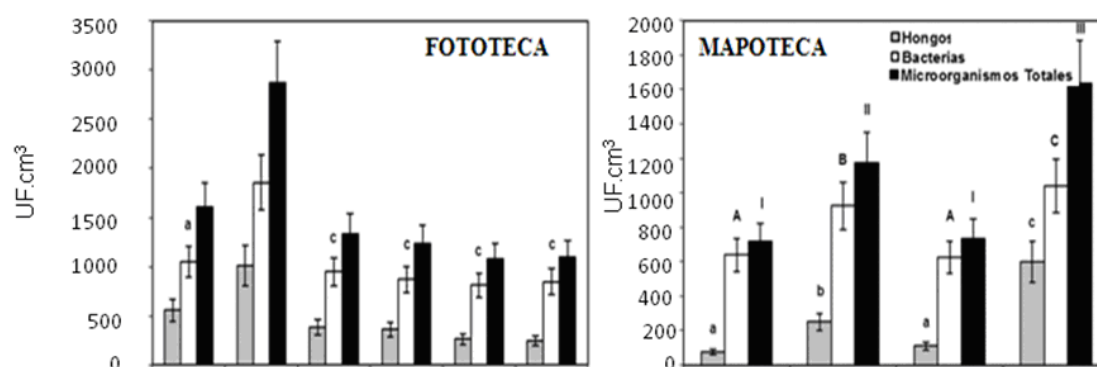


Figura 2. Comportamiento de la concentración fúngica, bacteriana y de microorganismos totales (UFC.m⁻³) en la Fototeca y la Mapoteca del Archivo Nacional de la República de Cuba durante los años analizados. Nota: La concentración de los microorganismos totales es la suma las concentraciones de hongos y bacterias. a, b, c, A, B, C, I, II, III: Indican diferencias significativas al comparar las concentraciones de hongos, bacteria y/o microorganismos totales entre los años analizados, según el test de Duncan ($p \leq 0.05$).

Figure 2. Behavior of fungal, bacterial and total microorganisms' concentrations (CFU.m⁻³) in the photo and map libraries at National Archive of the Republic of Cuba during the analyzed years. Note: The total microorganisms are the sum of the fungal and bacterial concentrations. a, b, c, A, B, C, I, II, III indicating significant differences according to Duncan test ($p \leq 0.05$) to compare de concentrations of fungi, bacteria and total microorganisms of the analyzed years

Aunque no existe una norma internacional que indique cuando un ambiente esta contaminado o no, existen algunos reportes recientes para niveles de contaminación microbiana en ambientes interiores. La Organización Mundial de la Salud (OMS) plantea que un ambiente interior con una concentración mayor a $1000 \text{ UFC}\cdot\text{m}^{-3}$ se clasifica como contaminado (Nevalainen & Morawska, 2009). En Brasil se considera que un ambiente interior con más de $700 \text{ UFC}\cdot\text{m}^{-3}$ de hongos, está contaminado (Radler de Aquino & de Góes, 2000). En Estados Unidos, las normas dispuestas

por la American Conference of Industrial Hygienists y el US Public Health Service proponen que $200 \text{ UFC}\cdot\text{m}^{-3}$ resulta un valor límite para bioaerosoles fúngicos en interiores (InspectaPedia, 2009), mientras que la Unión Europea estableció desde 1998 en las normas SBM (SBM, 2003), que $500 \text{ UFC}\cdot\text{m}^{-3}$ es el valor límite a partir del cual se considera un ambiente interior altamente contaminado. Asimismo, dentro de la Unión Europea autores portugueses plantean que $500 \text{ UFC}\cdot\text{m}^{-3}$ tanto para hongos como para bacterias es el límite permisible para un ambiente interior (Nunes *et al.*, 2013),

en tanto autores italianos refieren que 150 UFC.m⁻³ debe ser el límite de hongos permisibles para que el ambiente interior de locales de instituciones patrimoniales se considere de calidad (Cappitelli *et al.*, 2009). Recientemente, Roussel *et al.*, (2012) en Francia propusieron cuatro niveles para definir el grado de contaminación ambiental donde establece que valores de concentración microbiana inferiores a 170 UFC.m⁻³ es propio de una baja contaminación, 170 - 560 UFC.m⁻³ indica una contaminación moderada, 560 - 1000 UFC.m⁻³ alta contaminación y > 1000 UFC.m⁻³ es una contaminación muy alta. Sin embargo, en Cuba aún no existe una normativa que permita evaluar la calidad microbiológica de los ambientes interiores.

Concentraciones fúngicas ambientales similares a los que se reportan en la tabla 2 se detectaron en Cuba en ambientes interiores de viviendas, archivos, bibliotecas y museos que se analizaron con biocolectores (Rojas *et al.*, 2002; Borrego & Perdomo, 2012;

García & Sánchez, 2012).

Como es sabido, la humedad relativa del aire tiene gran importancia para la contaminación microbiana ambiental (Aira *et al.*, 2006), sobre todo, en el caso de los hongos donde incide en el nivel de esporulación y en el diámetro aerodinámico de las esporas, así como en la deposición de éstas sobre las superficies e incluso en el sistema respiratorio de las personas (Florian, 2004; Rojas & Aira; 2012). Teniendo en cuenta que la HR en la Mapoteca y la Fototeca estuvieron por encima del 65% en el 2004, 2007 y 2010 y que esto resulta estar por encima de lo recomendado para la conservación de fotografías, mapas y planos, se puede afirmar que las condiciones ambientales de estos locales en esos años, facilitaron la presencia de elevadas concentraciones de hongos y bacterias lo cual resulta riesgoso para el buen estado de conservación de los distintos tipos de documentos y para la salud del personal que habitualmente entra y sale de estos depósitos.

Depósito	Año	Hongos	Bacterias
FOTOTECA	2003	Poco Contaminado	Contaminado
	2004	Contaminado	Altamente Contaminado
	2005	No Contaminado	Ligeramente Contaminado
	2006	No Contaminado	Ligeramente Contaminado
	2007	No Contaminado	Ligeramente Contaminado
	2008	No Contaminado	Ligeramente Contaminado
MAPOTECA	2005	No Contaminado	Ligeramente Contaminado
	2007	No Contaminado	Ligeramente Contaminado
	2009	No Contaminado	Poco Contaminado
	2010	Poco Contaminado	Contaminado

Tabla 1. Grado de contaminación ambiental según Omeliansky para las concentraciones de hongos y bacterias obtenida en los depósitos analizados.

Table 1. Environmental pollution degree according to Omeliansky for fungal and bacterial concentration in the analyzed repositories

Géneros fúngicos aislados del aire de los locales

En cuanto a los hongos, del aire de los depósitos se obtuvo un predominio de los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium*, hongos Mitospóricos pertenecientes al orden

Moniliales y a las familias Moniliaceae y Dematiaceae. También se obtuvieron en menor proporción cepas pertenecientes a los géneros *Curvularia*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Syncephalastrum*, *Epicoccum*, *Pestalotia*, *Trichoderma*, *Bipolaris* y *Cephalosporium* (Tabla 2).

Género fúngico	FOTOTECA							MAPOTECA			FR (%)
	Densidad relativa (%)							Densidad relativa (%)			
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2005	2007	2009	2010	
<i>Aspergillus</i>	36.0	41.3	27.4	24.1	10.4	12.8	30.0	35.2	36.3	30.0	100
<i>Cladosporium</i>	24.0	27.6	55.3	49.9	60.3	37.2	15.0	40.2	41.1	7.0	100
<i>Penicillium</i>	9.3	10.3	11.3	9.1	19.3	28.1	32.0	12.6	22.6	22.0	100
<i>Curvularia</i>	12.2	8.7	3.1	6.0	7.5	11.2	0	7.3	0	7.0	50
<i>Alternaria</i>	6.3	8.7	2.9	8.8	2.5	8.3	0	4.7	0	5.0	50
<i>Fusarium</i>	12.2	3.4	0	2.1	0	2.4	0	0	0	0	-
<i>Syncephalastrum</i>	0	0	0	0	0	0	25.0	0	0	0	25
<i>Epicoccum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.0	25
<i>Pestalotia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10.0	25
<i>Trichoderma</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.0	25
<i>Bipolaris</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.0	25
<i>Cephalosporium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.0	25
MSPNE*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.0	25

* MSPNE: Micelio Septado Pigmentado No Esporulado

Tabla 2. Densidad relativa de los géneros fúngicos aislados del aire interior de los dos depósitos en los diferentes años estudiados.
Table 2. Relative density of fungal genera isolated from indoor air in the two repositories in different studied years

Estos resultados concuerdan con estudios anteriores realizados por otros autores en ambientes de archivos, bibliotecas y museos en los que han predominado los hongos mitospóricos y dentro de estos, las familias Moniliaceae y Dematiaceae (Mesquita *et al.*, 2009; Valentín, 2010; Rojas, 2010; Chen *et al.*, 2010; Harkawy *et al.*, 2011; Pinheiro *et al.*, 2011; Borrego *et al.*, 2012; Nunes *et al.*, 2013). Es importante destacar que estos resultados son característicos del método de muestreo empleado pues al utilizar placas con medios de cultivo, se desarrollan con facilidad las fases anamórficas de los hongos que sedimentan y/o impactan sobre ellas (Rojas, 2010).

En la Fototeca los géneros fúngicos de mayor densidad relativa fueron *Aspergillus* y *Cladosporium* indistintamente. En tanto en la Mapoteca fueron los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cladosporium*. Estos resultados concuerdan con los de otros reportes (Rojas, *et al.*, 2008; Borrego *et al.*, 2010 a,b; Borrego & Perdomo, 2012; García & Sánchez, 2012; Borrego *et al.*, 2012) y coincidentemente estos autores y otros muchos plantean también, que los géneros más representativos en el aire tanto de interiores como de exteriores son *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cladosporium*.

Por otro lado, en la Fototeca los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Curvularia* y *Alternaria* mostraron una frecuencia de aparición de un 100%, lo que les confiere la clasificación ecológica de abundantes según la propuesta de Esquivel *et al.* (2003), en tanto el género *Fusarium* sólo tuvo una frecuencia de un 33.3% y por ello resulta ocasional para este depósito (Tabla 2). Mientras que en la Mapoteca los géneros abundantes solo fueron *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cladosporium*, ya que *Curvularia* y *Alternaria* se comportaron como géneros frecuentes (FR = 50%). Cabe destacar que en el año 2010 en este depósito se detectaron un grupo de géneros fúngicos que nunca antes se habían aislado en este u otro depósito del ARNAC considerándose como ocasionales; además, en este año se evidenció una diversidad ecológica grande en este local. Entre los géneros ocasionales se encuentran: *Epicoccum*, *Pestalotia*,

Trichoderma, *Bipolaris*, *Cephalosporium* y un hongo de micelio septado pigmentado y no esporulado (MSPNE).

Varios autores han demostrado que los conidios de *Aspergillus* y *Penicillium* en general son más numerosos en el aire de interiores que de exteriores y que muchos de ellos provienen de los materiales y soportes contaminados (Meklin *et al.*, 2005; Lignell, 2008; Rojas, 2010; Rojas *et al.*, 2012). *Penicillium* es el género más abundante en ambientes interiores de viviendas y *Aspergillus* es el más común en el aire de viviendas húmedas al igual que en archivos y almacenes soterrados seguido de *Penicillium* (Rojas, 2010). Resulta interesante además, el hecho de que numerosos autores han demostrado que los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* son los más frecuentes en ambientes interiores en Cuba (Fernández *et al.*, 1990; Rojas *et al.*, 2007; Borrego *et al.*, 2008; 2010 a,b; Rojas, 2010; Borrego & García, 2011; Guimet *et al.*, 2011; Borrego & Perdomo, 2012; Borrego *et al.*, 2012). En el caso de *Pestalotia* no se encuentra reportado como un género común en ambientes interiores; este hongo es un saprófito de plantas típico de ambiente exteriores por lo que su aislamiento en la Mapoteca fue raro y pudiera deberse a la penetración de sus propágulos por las ventanas del recinto el cual posee en su exterior abundante vegetación.

Se realizó la identificación hasta especie de aquellos géneros que estuvieron en primacía y se calculó la densidad y la frecuencia relativa de aparición de cada una de las especies aisladas dentro de su género (Tabla 3). En la Fototeca las especies consideradas abundantes dentro del género *Aspergillus* fueron *A. niger*, *A. flavus*, *A. terreus* y *A. versicolor*, como especie frecuente se encontró a *A. clavatus*. *Aspergillus fumigatus* resultó ser una especie rara ya que solamente se detectó en la Fototeca en el 2004, cuando en el depósito predominaron condiciones de altos valores de temperatura y humedad relativa, lo que propició la sedimentación de estos conidios que tienden a permanecer en suspensión en el ambiente durante un largo periodo de tiempo debido

Especies	FOTOTECA								FR ⁺ (%)	CE*	MAPOTECA				FR (%)	CE
	Densidad relativa (%)										Densidad relativa (%)					
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010			2005	2007	2009	2010		
<i>A. niger</i> [^]	10.3	7.8	8.4	7.3	5.5	0	83.3	A	30.0	10.3	12.8	0	75	C		
<i>A. clavatus</i>	6.8	5.1	1.5	0	0	0	50.0	F	0	5.2	0	0	25	O		
<i>A. fumigatus</i> [^]	0	10.2	0	0	0	0	16.7	R	0	0	0	0	0	-		
<i>A. flavus</i> [^]	8.1	6.3	4.2	3.8	0	12.8	83.3	A	0	0	0	23.0	25	O		
<i>A. nidulans</i> [^]	0	0	1.1	4.5	0	0	33.3	O	0	3.3	6.8	0	50	F		
<i>A. flavipes</i>	0	3.2	2.9	0	0	0	33.3	O	0	0	0	0	0	-		
<i>A. terreus</i> [^]	5.5	5.5	3.3	6.4	3.8	0	83.3	A	0	5.9	10.0	0	50	F		
<i>A. versicolor</i>	4.1	3.2	3.2	2.1	1.1	0	83.3	A	0	9.2	6.7	0	50	F		
<i>A. sydowii</i>	1.2	0	2.8	0	0	0	33.3	O	0	1.3	0	0	25	O		
<i>A. Auricomus</i>	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	7.0	25	O		
<i>A. alliaceus</i>	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	10.0	25	O		
<i>A. candidus</i>	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	13.0	25	O		
<i>A. japonicas</i>	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	13.0	25	O		
<i>A. oryzae</i>	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	17.0	25	O		
<i>A. ostianus</i>	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	23	25	O		
<i>Cladosporium</i> sp.	0	0	10.3	1.7	0	8.7	50.0	F	5.0	0	10.0	0	50	F		
<i>C. cladosporioides</i> [^]	4.0	0	15.5	8.4	0	5.0	66.7	C	0	0	11.8	100	50	F		
<i>C. herbarum</i>	1.3	8.8	12.8	3.6	10.0	0	83.3	A	6.3	0	0	0	25	O		
<i>C. sphaerospermum</i>	2.0	11.5	5.6	15.9	25.8	0	83.3	A	0	13.7	0	0	25	O		
<i>C. oxysporum</i>	6.5	0	6.0	20.3	17.1	17.1	83.3	A	3.7	0	14.0	0	25	O		
<i>C. fulvum</i>	9.2	0	3.2	0	7.4	3.2	66.7	C	0	11.1	5.3	0	50	F		
<i>C. elatum</i>	1.0	7.3	1.9	0	0	3.2	66.7	C	0	15.4	0	0	25	O		
<i>Penicillium</i> sp.	9.3	10.3	11.3	9.1	19.3	28.1	100	A	32.0	12.6	22.6	22.0	25	A		
<i>P. chrysogenum</i> [^]	1.2	2.0	0	0	5.0	8.4	66.7	C	0	0	0	27.0	25	O		
<i>P. citrinum</i>	0	2.3	0	4.6	0	0	33.3	O	0	0	0	5.0	25	O		
<i>P. canescens</i>	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	18.0	25	O		

⁺ FR: Frecuencia Relativa

^{*} CE: Clasificación Ecológica según Esquivel et al., 2003 (A: Abundante, C: Común, F: Frecuente, O: Ocasional, R: Raro).

[^] Especies de mayor interés clínico (Hedeyati et al., 2007; Nevalainen & Morawska, 2009; Halem & Moham, 2012).

Table 3. Especies de Aspergillus, Cladosporium y Penicillium predominantes en el aire interior de los dos depósitos a los diferentes años de estudio y su significación ecológica.

Table 3. Aspergillus, Cladosporium and Penicillium predominant species isolated from indoor air in the two repositories in different years and their ecological significance

a su pequeño tamaño y a sus características superficiales irregulares (Zumbado, 2004). Dentro del género *Cladosporium*, las especies abundantes fueron *C. herbarum*, *C. sphaerospermum*, *C. oxysporum* y las comunes fueron *C. cladosporioides*, *C. fulvum*, *C. elatum*. Asimismo, dentro del género *Penicillium*, la especie *P. chrysogenum* resultó ser ecológicamente común.

En la Mapoteca no se detectó a ninguna especie del género *Aspergillus* como ecológicamente abundante, solamente *A. niger* se consideró como especie común y *A. nidulans*, *A. terreus*, *A. versicolor* como especies frecuentes. Sin embargo, como especies ocasionales pues solo se aislaron en el 2010, se encontraron *A. sydowii*, *A. auricomus*, *A. alliaceus*, *A. candidus*, *A. japonicus*, *A. oryzae*, y *A. ostianus*. Dentro del género *Cladosporium*, las especies *C. cladosporioides* y *C. fulvum* se consideraron ecológicamente frecuentes. Asimismo, un grupo de especies pertenecientes a los géneros *Cladosporium* y *Penicillium* fueron clasificadas como ocasionales; entre ellos se encuentran *C. herbarum*, *C. sphaerospermum*, *C. oxysporum*, *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. canescens*.

Las especies *P. chrysogenum* y *P. citrinum* fueron detectadas anteriormente por Borrego *et al.* (2008) y Borrego & Perdomo (2012) en estudios realizados en otros depósitos del ARNAC, además de otros estudios realizados en ambientes de archivos y bibliotecas por Rojas (2010).

Las especies *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. terreus* y *P. chrysogenum* resultan de gran interés clínico (Hedeyati *et al.*, 2007; Nevalainen & Morawska, 2009; Halem & Mohan, 2012).

Cladosporium cladosporioides es una especie que se encuentra reportada por diversos autores como una de las que mayor prevalencia dentro del género para ambientes interiores (Payam & Ramanathan, 2004; Paquarella *et al.*, 2012). Además, ha sido mencionada en interiores de viviendas con problemas de humedad en otros países como Bélgica (Beguin & Nolard, 1994). Por otra parte, esta

especie se asocia con infecciones cutáneas, oculares y nasales (Payam & Ramanathan, 2004; Haleem & Mohan, 2012).

La diversidad ecológica que se obtuvo en este estudio demuestra dos cuestiones: primero, la necesidad de realizar muestreos sistemáticos para conocer la variabilidad de la microbiota, y segundo, que esa elevada contaminación del aire de los depósitos pudiera deberse a que el ambiente que rodea al ARNAC posee una elevada contaminación microbiana que se introduce en los depósitos a través de las ventanas cuando es necesario incrementar la ventilación natural o de los conductos de ventilación natural que posee el edificio (Borrego *et al.*, 2008; Borrego *et al.*, 2010 a).

Caracterización fisiológica de algunas especies fúngicas aisladas del aire de los dos depósitos analizados

La caracterización de la fisiología de las especies fúngicas aisladas permite conocer cuáles de ellas poseen actividades metabólicas significativas que pueden resultar potencialmente riesgosas para el patrimonio documental que se encuentra en soportes orgánicos como el papel y el textil, ambos presentes en los tipos documentales que atesoran la Fototeca y la Mapoteca. La tabla 4 muestra los resultados de un grupo de pruebas cualitativas que se realizó a todas las especies de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cladosporium* aisladas, aunque también aparecen otras pertenecientes a otros géneros.

Como se puede apreciar todos las especies fúngicas degradaron celulosa en mayor o menor proporción y excretaron ácidos, en cambio el 93.5% de ellas degradaron el almidón, el 71% de ellas degradaron la gelatina y el 67.7% excretaron pigmentos. Sin embargo, si se analiza el poder degradativo de todas las cepas aisladas se evidencia no solo que las especies de *Aspergillus* fueron las que predominaron sino que también son las de mayor poder degradativo de los componentes del papel y los textiles, tales como la celulosa, el almidón y la gelatina, pues el 78.6% de ellas degradaron en

Cepa	Degradación de celulosa		Producción de ácidos		Producción de pigmento ^a	Actividad amilolítica	Actividad proteolítica
	Crecimiento en papel de filtro	Crecimiento en celulosa cristalina	pH				
<i>Aspergillus auricomus</i>	+++	++	6.07	-	-	+	+
<i>Aspergillus allaceus</i>	+++	+/-	6.19	-	-	+	+
<i>Aspergillus candidus</i>	+++	++	5.91	+	+	+	+
<i>Aspergillus clavatus</i>	+++	++	4.73	+	+	+	+
<i>Aspergillus flavipes</i>	++	+	4.65	-	-	-	+
<i>Aspergillus flavus</i>	+++	+	5.82	+	+	+	-
<i>Aspergillus japonicus</i>	+++	++	4.60	+	+	+	-
<i>Aspergillus niger</i> Cepa 1	++	+	4.50	+	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i> Cepa 2	+++	++	5.80	+	+	+	+
<i>Aspergillus oryzae</i> Cepa 1	+++	++	5.79	+	+	+	+
<i>Aspergillus oryzae</i> Cepa 2	+	+/-	4.16	-	-	+	+
<i>Aspergillus ostianus</i>	+++	+++	5.83	-	-	+	+
<i>Aspergillus terreus</i>	+++	++	4.32	+	+	+	+
<i>Aspergillus versicolor</i>	+++	++	4.22	+	+	+	+
<i>Bipolaris australiensis</i>	+++	+++	5.96	+	+	+	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i> Cepa 1	++	+++	5.09	+	+	+	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i> Cepa 2	+++	+++	5.90	+	+	+	-
<i>Cladosporium herbarum</i>	+++	+++	5.59	+	+	+	+
<i>Cladosporium oxysporum</i>	++	-	5.71	+	+	+	+
<i>Curvularia eragrostidis</i>	+	-	5.71	+	+	+	+
<i>Curvularia pallescens</i>	+++	+++	5.59	+	+	+	+
<i>Epicoccum</i> sp.	+++	++	6.05	+	+	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	+++	++	4.50	-	-	+	+
<i>Fusarium solani</i>	+++	+++	4.22	-	-	+	+
<i>Fusarium</i> sp.	+++	++	4.51	-	-	+	+
MSPNE	+++	+++	6.10	-	-	+	-
<i>Penicillium canescens</i>	+	+/-	5.19	+	+	+	-
<i>Penicillium chrysogenum</i>	+++	++	5.79	-	-	+	+
<i>Penicillium citrinum</i>	++	++	5.43	+	+	+	+
<i>Syncephalastrum</i> sp. Cepa 1	+++	++	5.42	+	+	+	-
<i>Syncephalastrum</i> sp. Cepa 2	++	+	6.11	+	+	+	+

MSPNE: Micelio Septado Pigmentado No Esporulado, + + +: Indica crecimiento abundante, + +: indica crecimiento moderado, +: indica crecimiento pobre, también es indicativo de la presencia de pigmento, degradación de almidón y degradación de gelatina. +/- : indica crecimiento o producción de pigmento muy pobre, - : indica NO crecimiento, NO producción de pigmento y NO degradación de almidón ni de gelatina, a: La producción de pigmentos se evidenció sobre la tira de papel de filtro.

Tabla 4. Pruebas fisiológicas cualitativas realizadas a algunos hongos aislados del aire interior de la Fototeca y la Mapoteca.

Table 4. Qualitative physiological tests made on some fungi isolated from indoor air in the photo and map libraries.

su totalidad al papel de filtro, el 92.9% degradaron almidón, el 85.7% hidrolizaron la gelatina y 81.8% excretaron pigmentos.

La evaluación de las cepas aisladas del aire de los depósitos permitió confirmar que *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cladosporium* son géneros con potencialidades enzimáticas muy amplias. Cuando crecen sobre el papel degradan todos sus componentes y principalmente su fuente carbonada, la celulosa. En la mayoría de las especies evaluadas se evidenció de forma cualitativa, la actividad celulasa sobre papel de filtro, la que se define como actividad global del complejo enzimático que incluye endoglucanasa, exoglucanasa y β -glucosidasa (Cappitelli & Sorlini, 2010). Rojas (2010) ha resaltado la elevada actividad de endoglucanasas de *A. flavus* y *A. niger* respecto a diferentes tipos de papel. En el presente trabajo se observó que diversas especies de *Aspergillus* demostraron gran capacidad para degradar la celulosa, entre ellas se encuentran *A. flavus*, *A. niger*, *A. auricomus*, *A. japonicus*, *A. ostianus*, *A. oryzae*, *A. terreus*, *A. clavatus*, *A. versicolor* y *A. candidus* (Tabla 4). En la literatura especializada, se ha reconocido ampliamente esta potencialidad en dichas especies (Lugauskas *et al.*, 2003; Borrego *et al.*, 2008; Borrego *et al.*, 2010 a,b; Rojas, 2010).

Las especies *Cladosporium cladosporioides* y *Curvularia pallescens* de igual forma, degradaron la celulosa; además de esto se encuentran reportadas por Rojas (2010) como productoras de peroxidasa y/o lacasas, lo que les incluye en el selecto grupo de hongos contaminantes capaces de degradar sustratos lignocelulósicos. Otros géneros, como *Bipolaris* se ha mencionado como fuertemente celulolítico, responsables del deterioro de documentos y bienes culturales de origen vegetal (Valentín, 2010); esto coincide con los resultados que se obtuvieron en este estudio para la especie *Bipolaris australiensis*.

De los aislados del género *Penicillium* destacaron por su actividad celulolítica las especies *P. citrinum* y *P. chrysogenum*, este último además se ha descrito como

causante de la podredumbre blanda en la madera (Rojas, 2010).

Como se mencionó todos los aislados produjeron ácidos orgánicos lo que se evidenció con la acidificación del medio de cultivo. Diversos autores han citado que *Aspergillus niger* produce ácido oleico, linoléico, palmítico esteárico y cítrico (Dai *et al.*, 2004) y también produce ácido oxálico (Santhiya & Ting, 2005). Valentín (2010) aisló de materiales orgánicos e inorgánicos diferentes especies de *Aspergillus*, dicha autora refirió que las especies de este género pueden secretar amilasas, celulasas, glucosa oxidasa, ácido cítrico, láctico, fumárico y málico, que pueden provocar manchas de diferentes colores, así como degradar y acidificar una gran variedad de soportes. Esto permite considerar a este género fúngico de importancia para el biodeterioro de soportes documentales.

El efecto acidogénico en *Cladosporium* ha sido informado en trabajos previos (Rojas, 2010; Borrego 2012), estos ácidos forman sales de calcio o actúan como agentes quelantes de cationes minerales, lo que favorece el biodeterioro.

En la producción de pigmentos destacaron las cepas de *Aspergillus* por mostrar una gama de pigmentos difusivos en el medio. La cepa de *A. flavus* evaluada excretó pigmentos, resultado que coincide con los obtenidos por otros autores (Borrego *et al.*, 2010 b). Según lo planteado por Rehnstrom & Free (1997), *A. niger* produce melanina y otros tipos de pigmentos, esto coincide con los resultados obtenidos para las dos cepas evaluadas en este trabajo que produjeron pigmentos de color pardo.

Del género *Penicillium* resultó significativa la producción de pigmento de color amarillo por parte de los dos aislados de *P. citrinum*, este resultado coincide con lo planteado por Pitt (2000). Las especies aisladas del género *Cladosporium* excretaron pigmentos de color oliváceo; se ha señalado que diversos representantes de este género cuando crecen sobre el papel son capaces de producir manchas pardas a verdes oscura

dada la liberación de pigmentos oliváceos (melagenina) (Payam & Ramanathan, 2004), independientemente de que las hifas que son pigmentadas, al formar la biopelícula sobre un soporte, lo manchan con colores de oliváceos a negros (Borrego, 2012). De forma general, se evidenció que los hongos pueden provocar alteraciones cromáticas debido a manchas de diferentes colores, tonalidades y texturas producto de la excreción de pigmentos y al crecimiento micelial.

La actividad amilolítica se evidenció en la mayoría de las especies aisladas en este trabajo (93.5%); el almidón es un polímero que se asimila de forma relativamente fácil por la mayoría de los microorganismos. Aunque el ensayo realizado fue cualitativo algunos de los géneros detectados como *Aspergillus* y *Penicillium* se encuentran reportados en la literatura científica como buenos degradadores del almidón (Rojas *et al.*, 2009).

En cuanto a la actividad proteolítica, resultó ser la menos potente en los hongos analizados (71%) destacando el género *Aspergillus* donde la mayoría de las especies fueron capaces de licuar la gelatina (85.7%). Rojas *et al.* (2009) y Rojas (2010) reportaron dicho género con una alta actividad proteolítica aunque menor que la amilolítica.

Los hongos que muestran actividad amilolítica y/o proteolítica resultan de suma importancia para el biodeterioro, sobre todo del material documental pues muchos pegamentos y aditivos utilizados en las encuadernaciones tienen almidón y proteínas entre sus componentes principales (Vaillant, 2004; Rojas *et al.*, 2009).

Grupos bacterianos aislados del aire de los locales

En cuanto a las bacterias aisladas, después de agruparlas por sus características culturales y de tinción (Gram), pudimos detectar variedad en las características morfológicas de las colonias (Tabla 5). Como se aprecia, en la Fototeca el predominio fue para bacterias Gram-positivas. Dentro de ellas,

los cocos prevalecieron en 2003 (35.6%), 2004 (56.8%) y 2008 (49%), mientras que las formas bacilares predominaron en 2005 (46.6%), 2006 (41.7%) y 2007 (39.6%). En la Mapoteca también predominaron las bacterias Gram-positivas, dentro de ellas se detectó un predominio de bacilos en 2005 (14.7%), 2007 (37.2%) y 2009 (17.5%), mientras que el 2010 prevalecieron los cocos (33%), aunque también se pudo aislar en este año un porcentaje considerable (33%) de bacterias Gram-variables. Es de destacar el hecho de que en la Fototeca el predominio de las bacterias Gram-positivas fue significativo en el año 2004, igualmente para la Mapoteca en los años 2007 y 2010 que se caracterizaron por valores elevados de temperatura y humedad relativa en los depósitos como resultado de roturas de los sistemas de clima.

En cuanto a las bacterias Gram-negativas, se puede observar que en la Fototeca para el 2004 la densidad relativa resultó significativamente menor que para el resto de los años analizados, en tanto para la Mapoteca la densidad relativa de este grupo bacteriano fue significativamente mayor en el 2007 y 2010, es decir que el comportamiento ecológico de este grupo de bacterias fue contrario al comportamiento de la Fototeca.

Dentro de los géneros Gram-positivos que se detectaron se encontró *Bacillus*, *Streptomyces*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus* y *Corynebacterium*. Entre las bacterias Gram-negativas se identificaron las especies *Serratia marcenscens*, *Serratia* sp., *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter hafniae*, *Hafnia alvei*, *Acinetobacter* sp., *Azotobacter* sp., *Beijerinckia* sp., y *Pseudomonas* sp.

Los resultados que se obtuvieron para las bacterias Gram positivas se corresponden con lo reportado en la literatura para este tipo de ambientes (Niesler *et al.*, 2010; Harkawy *et al.*, 2011; Nunes *et al.*, 2013) y además han sido aisladas en otras ocasiones en depósitos del ARNAC (Borrego *et al.*, 2008; 2010 a,b; Guiamet *et al.*, 2011; Borrego & García, 2011; Borrego & Perdomo, 2012; Borrego *et al.*, 2012), pues independientemente del aporte de

Grupo bacteriano	FOTOTECA						MAPOTECA			
	Densidad relativa (%)									
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2005	2007	2009	2010
Bacilo Gram-positivo esporulado	0	2.7 ^d	13.3 ^e	1.5	0	5.1 ^d	2.2 ^d	1.3 ^d	2.5 ^d	16.0
Bacilo Gram-positivo no esporulado	31.6 ^a	32.5 ^c	33.3	40.2 ^b	39.6 ^b	10.3 ^a	12.5 ^a	35.9	15.0 ^c	0
Coco Gram-positivo	35.6	56.8	20.6	15.9	23.3	49.0	10.9	22.0	10.8	33.0
TOTALES	67.2^A	92.0^B	67.2^A	57.6^A	62.9^A	64.4^A	25.6^C	59.2^E	28.3^C	49^D
Bacilo Gram-negativo	20.0	8.0	15.9	20.3	18.3	5.1	1.8	9.1	0	0
Coco Gram-negativo	5.4	0	20.2	8.9	1.4	20.5	0	12.0	0	17.0
TOTALES	25.4^A	8.0^D	36.1^C	29.2^A	19.7^B	25.6^A	1.8^F	21.1^E	0	17.0^E
Cocos Gram-variables	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33.0

a: Indica que el 1% corresponde al género *Streptomyces*

b: Indica que el 5% corresponde al género *Streptomyces*

c: Indica que el 8% corresponde al género *Streptomyces*

d: Indica que ese valor corresponde sólo al género *Bacillus*

e: Indica que el 8% corresponde al género *Bacillus*

A, B, C, D, E, F: Indica diferencias significativas según test de Duncan ($p \leq 0.05$)

Tabla 5. Grupos bacterianos aislados del aire interior de los dos depósitos estudiados.

Table 5. Bacterial group isolated from indoor air in the two studied repositories

microorganismos que provoca la penetración del polvo en los ambientes interiores, se plantea que este grupo de bacterias también pueden ingresar al interior de los locales, como consecuencia de la actividad humana, ya que muchas de ellas pueden formar parte de la piel y las mucosas del organismo (Tsai & Macher, 2005) y pueden ser transportadas por los zapatos de la 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). En cuanto a las bacterias Gram negativas, resultados similares fueron reportados en ambientes del ARNAC por los autores antes mencionados, y su presencia en el aire interior de locales es un indicio de que el ambiente es poco saludable (IndoorAirQuality.com, 2004).

Al analizar el comportamiento ecológico de los géneros bacterianos detectados en el aire de los depósitos (Tabla 6) se puede apreciar que en la Fototeca *Bacillus*, *Staphylococcus* y *Serratia* fueron abundantes, *Streptomyces*, *Corynebacterium* y *Enterobacter* resultaron ser comunes en el ambiente, *Streptococcus* y *Micrococcus* fueron frecuentes, mientras que los géneros *Acinetobacter*, *Azotobacter*,

Beijerinckia, y *Pseudomonas* clasifican como raros para este tipo de ambiente pues solo fueron identificados en 2008. Para la Mapoteca solo los géneros *Bacillus* y *Streptococcus* fueron frecuentes, *Staphylococcus* y *Serratia* clasifican como géneros comunes, en tanto, *Streptomyces*, *Micrococcus* y *Enterobacter* fueron ocasionales. Cabe destacar el hecho de que en la Fototeca se logró detectar la mayor variabilidad ecológica debido a su ubicación en el edificio (semisótano) que propicia que buena parte del polvo de la calle y la tierra cercana al depósito penetre a pesar de mantenerse todo el año cerrado y climatizado.

Aunque existe un número menor de reportes sobre la composición bacteriana de los ambientes de archivos, bibliotecas y museos en relación al comportamiento de la aeromicota, se pudo apreciar que los géneros *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus* y *Pseudomonas* estuvieron presentes con una representación de varias especies en un estudio que realizó un grupo de investigadores polacos en una biblioteca ubicada en un monasterio (Harkawy *et al.*, 2011), en tanto *Bacillus*, *Micrococcus* y *Staphylococcus* fueron los géneros predominantes en archivos,

Género	FOTOTECA						FR (%)	CE	MAPOTECA				FR (%)	CE
	Densidad relativa (%)								Densidad relativa (%)					
	2003	2004	2005	2006	2007	2008			2005	2007	2009	2010		
<i>Bacillus</i>	x	x	x	x	x	x	100	A	-	x	x	-	50.0	F
<i>Streptomyces</i>	x	x	-	x	x	x	83.3	A	x	-	x	-	50.0	F
<i>Staphylococcus</i>	x	-	x	x	x	x	83.3	A	x	x	x	-	75.0	C
<i>Streptococcus</i>	-	-	x	-	x	x	50.0	F	x	-	x	-	50.0	F
<i>Micrococcus</i>	x	-	-	-	x	x	50.0	F	x	-	-	-	25.0	O
<i>Corynebacterium</i>	-	x	-	x	x	x	66.7	C	-	-	-	-	0	-
<i>Serratia</i>	x	x	x	x	x	x	100	A	x	x	x	-	75.0	C
<i>Enterobacter</i>	-	x	-	x	x	x	66.7	C	x	x	-	-	50.0	F
<i>Hafnia</i>	x	-	-	-	x	x	33.3	O	-	-	-	-	0	-
<i>Acinetobacter</i>	-	-	-	-	-	x	16.7	R	-	-	-	-	0	-
<i>Azotobacter</i>	-	-	-	-	-	x	16.7	R	-	-	-	-	0	-
<i>Beijerinckia</i>	-	-	-	-	-	x	16.7	R	-	-	-	-	0	-
<i>Pseudomonas</i>	-	-	-	-	-	x	16.7	R	-	-	-	-	0	-

Tabla 6. Comportamiento ecológico de los géneros bacterianos que se aislaron del aire interior de los dos depósitos estudiados.

Table 6. Ecological behavior of bacterial genera isolated from indoor air in the two studied repositories

bibliotecas y museos de Polonia (Gutarowska *et al.*, 2012), en otro museo polaco (Niesler *et al.*, 2010) y en el museo Terra-Cotta en China (Chen *et al.*, 2010).

La mayoría de los géneros bacterianos detectados en este estudio no están directamente relacionados con el deterioro del papel sino con las afecciones que pueden provocar a los humanos. Sin embargo, *Bacillus* y *Streptomyces* por su marcada actividad celulolítica (Ramírez & Cocha, 2003), pueden degradar el papel a una humedad relativa del 90% en 24 h, lo cual pudiera llevarse a cabo si la humedad relativa del depósito aumentara bruscamente por cualquier motivo.

Si bien concentraciones de microorganismos medianas o elevadas en el aire pueden ser dañinas al hombre, también resultan perjudiciales al patrimonio documental.

CONCLUSIONES

Aunque en esta investigación la concentración microbiana se determinó empleando un método de sedimentación (Omeliánsky), el cual resulta poco preciso en comparación con los métodos de compactación (biocolector), cabe destacar que fue posible establecer comparaciones entre

los diferentes años analizados y demostrar el comportamiento de la calidad microbiana aérea de la Fototeca y la Mapoteca, dos depósitos del Archivo Nacional de Cuba que conservan documentos especiales.

En el 2004 la Fototeca mostró concentraciones microbianas en el aire que permiten clasificar al ambiente de Contaminado por hongos a Altamente contaminado por bacterias. Para la Mapoteca en el 2007 el ambiente se clasifica de no Contaminado por hongos a Ligeramente contaminado por bacterias y para 2010 el ambiente se catalogó de Poco contaminado por hongos a Contaminado por bacterias.

Las concentraciones más altas de hongos y bacterias se detectaron en los años que mostraron afectaciones importantes de la temperatura y la humedad relativa, donde los valores promedios anuales fueron superiores a los recomendados para la conservación de estos tipos de documentos. *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cladosporium* fueron los géneros fúngicos que se detectaron en todos los años analizados, por lo que ecológicamente se consideran abundantes en el aire de estos depósitos. Dentro de las especies fúngicas abundantes en ambos depósitos se encontró *Aspergillus niger*; además en la Fototeca también resultaron especies abundantes *Aspergillus terreus* y *Aspergillus versicolor*, mientras que éstas fueron frecuentes en la Mapoteca.

Se ha podido determinar, fisiológicamente, la actividad biodegradadora de la mayoría de los hongos aislados en ambos ambientes durante varios años de estudio y se encuentra referida una similar actividad para los géneros bacterianos *Bacillus* y *Streptomyces*, lo cual es indicativo de un gran riesgo de biodeterioro por microorganismos, si las condiciones ambientales imperantes se deterioraran.

En ambos depósitos, predominaron las bacterias Gram positivas siendo mayores significativamente sus densidades relativas en los años de afectaciones climáticas que conllevó a un aumento de los valores de temperatura y humedad relativa ambiental (Fototeca en 2004 y Mapoteca en 2007 y 2010). En cambio, las bacterias Gram-negativas a pesar de encontrarse en densidades relativas menores a las bacterias Gram-positivas, mostraron una disminución significativa en la Fototeca en

el 2004 en tanto en la Mapoteca tuvieron un comportamiento contrario en 2007 y 2010.

El mantenimiento constante de los valores de temperatura y humedad relativa recomendados así como una correcta higiene tanto de los locales como de los documentos son las medidas preventivas más eficientes y baratas para conservar de manera sostenible los documentos que atesoran la Fototeca y la Mapoteca del Archivo Nacional de la República de Cuba.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero recibido del Programa de Ayuda para los Archivos de Iberoamérica ADAI (Proyecto 134/2010).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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 and Biodegradation*, 56 (1): 58-68
- Aira MJ, Rodríguez-Rajo FJ & Jato V. 2006. Comportamiento temporal de las mitosporas de *Cladosporium* en la atmósfera de Galicia (España). *Boletín Micológico* (España), 21: 19-26
- Barnett HL & Hunter BB. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. APS Press. 4th ed, The American Phytopathological Society. USA: 218p
- Beguin H & Nolard N. 1994. Mould biodiversity in homes, I. Air and surface analysis of 130 dwellings. *Aerobiología*, 10: 157-166
- Bensch K, Groenewald JZ, Dijksterhuis J, Starink-Willemse M, Andersen B, Summerell BA, Shin H-D, Dugan FM, Schroers H-J, Braun U & Crous PW. 2010. Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (Davidiellaceae, Capnodiales). *Studies in Mycology*, 67: 1-94
- Bogomolova EV & Kirtsideli I. 2009. Airborne fungi in four stations of the St. Petersburg underground railway system. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63: 156-160
- Booth C. 1977. *Fusarium. Laboratory guide to the identification of the major species*. Commonwealth Mycological Institute, Ferry Lane, Kew, Surrey. England: 58 p
- Borrego S. 2012. *Cladosporium*: género fúngico que deteriora soportes documentales y afecta a la salud del hombre. *Boletín del Archivo Nacional*, No. 18,19 y 20: 104-118. <http://www.arnac.cu/wp-content/uploads/2013/03/Cladosporium.pdf>.
- Borrego S & Perdomo I. 2012. Aerobiological investigation inside repositories of the National Archive of the Republic of Cuba. *Aerobiología*, 28(3): 303-316
- Borrego S, Lavin P, Perdomo I, Gómez de Saravia S & Guiamet P. 2012. Determination of indoor air quality in archives and biodeterioration of the documentary heritage. *ISRN Microbiology*, Volume 2012 (Article ID 680598): 10 p DOI:10.5402/2012/680598
- Borrego S & García M. 2011. Comportamiento de la concentración microbiana aérea en la Fototeca del Archivo Nacional de Cuba. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* (Cuba), 42(2): 61-67
- Borrego S, Perdomo I, Guiamet P & Gómez de Saravia S. 2010 a. Estudio de la concentración microbiana del aire de depósitos del Archivo Nacional de Cuba. *AUGMDOMUS*, 1: 114-133
- Borrego S, Guiamet P, Gómez de Saravia S, Battistoni P, García M, Lavín P & Perdomo I. 2010 b. The quality of air at archives and the biodeterioration of photographs. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 64 (2): 139-145

- Borrego S, Pons V & Perdomo I. 2008. La contaminación microbiana del aire en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba. *Revista CENIC Ciencias Biológicas (Cuba)*, 39 (1): 63-69
- Cabral JPS. 2010. Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions. Review. *Science of the Total Environment*, 408: 4285-4295
- Cappitelli F & Sorlini C. 2010. Paper and manuscripts. P 45-59 En: Mitchell R & McNamara CJ (ed) *Cultural heritage microbiology: Studies in conservation science*. ASM Press, Washington, DC
- Cappitelli F, Fermo P, Vecchi R, Piazzalunga A, Valli G, Zanardini E & Sorlini C. 2009. Chemical-physical and microbiological measurements for indoor air quality assessment at the Ca' Granada Historical Archive, Milan (Italy). *Water, Air & Soil Pollution*, 201: 109-120
- Casadesús L & Rojas TI. 1981. Micología. *Manual Práctico*. Editorial MES, La Habana, Cuba: 125 p
- Chen YP, Cui Y & Dong JG. 2010. Variation of airborne bacteria and fungi at Emperor Qin's Terra-Cotta Museum, Xi'an, China, during the "Oct. 1" Gold Week Period of 2006. *Environmental Science and Pollution Research*, 17: 478-485
- Dai Z, Mao X, Magnuson J & Lasure L. 2004. Identification of genes associated with morphology in *Aspergillus niger* by using suppression subtractive hybridization. *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 2474-2485
- Ellis MB. 1976. *More Dematiaceous hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England: 507 p
- Esquivel PP, Mangiaterra M, Giusiano G & Sosa MA. 2003. Microhongos anemófilos en ambientes abiertos de dos ciudades del nordeste argentino. *Boletín Micológico (Chile)*, 18: 21-28
- Fernández S, Sánchez A, Cabezas A, Medina T, Aguilar A & Novoa G. 1990. Estudio preliminar del grado de contaminación biológica en almacenes soterrados que provocan el biodeterioro de diferentes materiales. *Actas del I Simposio Internacional de Corrosión - Protección y Tropicalización, Quimindustria'90*. La Habana: 232-235
- Florian M-LE. 2004. Fungal facts. *Solving fungal problems in heritage collections*. Archetype Publications Ltd., London, UK: 146p
- García M & Sánchez R. 2012. Estudio de la concentración fúngica de los depósitos del Archivo Municipal de Cárdenas, Cuba. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32: 37-43
- Goh I, Obbard JP, Viswanathan S & Huang Y. 2000. Airborne bacteria and fungal spores in the indoor environment. A case study in Singapore. *Acta Biotechnologica*, 20: 67-73
- Guarro J. 2012. Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (Elsevier, España)*, 30 (1): 33-39

- Guiamet PS, Borrego S, Lavin P, Perdomo I & Gómez de Saravia S. 2011. Biofouling and biodeterioration in material stored at the Historical Archive of the Museum of La Plata, Argentine and at the National Archive of the Republic of Cuba. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 85 (2): 229-234
- Gutarowska B, Skora J, Zduniak K & Rembisz D. 2012. Analysis of the sensitivity of microorganisms contaminating museums and archives to silver nanoparticles. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 68: 7-17
- Haleem AA & Mohan S. 2012. Fungal pollution of indoor environments and its management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19: 405-426
- Harkawy A, Górny RL, Ogierman L, Wlazło A, Ławniczek-WałczykA & Niesler A. 2011. Bioaerosol assessment in naturally ventilated historical library building with restricted personnel access. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 18 (2): 323-329
- Heal RD & Parsons AT. 2002. Novel intercellular communication system in *Escherichia coli* that confers antibiotic resistance between physical separation populations. *Journal of Applied Microbiology*, 92: 1116-1122
- Hedeyati MT, Pasqualotto AC, Warn PA, Bowyerand P & Denning DW. 2007. *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*, 153: 1677-1692
- Holt JG (ed). 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Editorial Williams & Wilkins, Baltimore, London: 2648 p
- IndoorAirQuality.com. 2004. Gram-Negative Bacteria. Bacteria Indoor Air. <http://www.esl.ns.ca/Bacteria.html>.
- InspectaPedia. Mould Exposure Standards. 2009. Levels of allergenic or toxic mould & how much mould means a problem. Building & Environmental Inspection, Testing, Diagnosis, Repair, & Problem Prevention Advice. http://InspectaPedia.com/sickhouse/Mold_Standards.htm.
- Klich MA & Pitt JI. 1994. *A Laboratory guide to the common Aspergillus species and their teleomorphs*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization: 116 p
- Levetin E. 2002. Bioaerosols in agricultural and out door setting. P 884-897 En: Bitton G. (ed). *Encyclopedia of Environmental Microbiology*. John Wiley and Sons, NY
- Lignell U. 2008. *Characterization of microorganisms in indoor environments*. Publications of the National Public Health Institute A3/2008. National Public Health Institute, Department of Environmental Health, Kuopio, Finland: 116 p <http://www.ktl.fi/portal/4043>.
- Lugauskas A, Levinskaite L & Peciulyte D. 2003. Micromycetes as deterioration agents of polymeric material. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 52 (4): 233-242

- Mena J. 2004. Taxonomía del complejo *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechlera* y *Exserohilum* en Cuba. Tesis Doctoral, Instituto de Ecología y Sistemática, Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente, La Habana, Cuba: 100 p
- Meklin T, Putus T, Pekkanen J, Hyvärinen A, Hirvonen M-R & Nevalainen A. 2005. Effects of moisture-damage repairs on microbial exposure and symptoms in schoolchildren. *Indoor Air*, 15 (Suppl. 10): 40-47
- Mesquita N, Portugal A, Videira S, Rodríguez-Echeverría S, Bandeira AML, Santos MJA & Fritas H. 2009. Fungal diversity in ancient documents. A case study on archive of the University of Coimbra. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63: 626-629
- Michaelsen A, Pinzari F, Barbabietola N & Piñar G. 2012. Monitoring the effects of different conservation treatments on paper-infecting fungi. *International Biodeterioration and Biodegradation* (September) DOI:10.1016/j.ibiod.2012.08.005 (En prensa)
- Nevalainen A & Morawaska L (ed). 2009. Biological Agents in Indoor Environments. Assessment of Health Risks. Work conducted by a WHO Expert Group between 2000-2003. http://www.ilaqh.qut.edu.au/Misc/BIOLOGICAL_AGENTS_2009.pdf.
- Niesler A, Górny RL, Wlazło A, Łudzeń-Izbińska B, Ławniczek-Wałczyk A, Gołofit-Szymczak M, Meres Z, Kasznia-Kocot J, Harkawy A, Lis DO & Anczyk E. 2010. Microbial contamination of storerooms at the Auschwitz-Birkenau Museum. *Aerobiologia*, 26: 125-133
- Nunes I, Mesquita N, Cabo Verde S, Bandeira AML, Carolino AM, Portugal A & Botelho ML. 2013. Characterization of an airborne microbial community: A case study in the archive of the University of Coimbra, Portugal. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 79: 36-41
- Pasquarella C, Sacconi E, Sansebastiano GE, Ugolotti M, Pasquariello G & Albertini R. 2012. Proposal for a biological environmental monitoring approach to be used in libraries and archives. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 19 (2): 209-212
- Payam F & Ramanathan K. 2004. Fungus of the month: Cladosporium species. Gallup D. (ed), *The Environmental Report EMLab*, 2(4). <http://www.emlab.com/>
- Pinheiro AC, Macedo MF, Jurado V, Saiz-Jimenez C, Viegas C, Brandão J & Rosado L. 2011. Mould and yeast identification in archival settings: Preliminary results on the use of traditional methods and molecular biology options in Portuguese archives. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 65: 619-627
- Pitt JI. 2000. *A laboratory guide to common Penicillium species*. Third edition. Food Science, Australia: 197 p
- Radler de Aquino F & de Góes LF. 2000. Guidelines for indoor air quality in offices in Brazil. *Proceedings of Healthy Buildings*, 4: 549-553
- Ramírez P & Cocha JM. 2003. Enzymatic degradation of cellulose for thermophilic actinomycete: isolation, characterization and cellulolytic activity determination. *Revista Peruana de Biología*, 10: 67-77

- Rautela GS & Cowling EB. 1986. Simple culture test for relative cellulolytic activity of fungi. *Applied Microbiology*, 14: 892-898
- Rehnstrom AL & Free SJ. 1997. The isolation and characterization of melanin deficient mutants of *Molinia fructicola*. *Physiology and Molecular Pathology*, 49: 321-330
- Resolución No. 41. 2009. Lineamientos para la conservación de las fuentes documentales. Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente (CITMA) de Cuba, Gaceta oficial 9 de mayo 2009. <http://www.gacetaoficial.cu/pp.193>.
- Rintala H, Pitkäranta M, Toivola M, Paulin L & Nevalainen A. 2008. Diversity and seasonal dynamics of bacterial community in indoor environmet. *BMC Microbiology*, DOI:10.1186/1471-2180-8-56.
- Rocha A, Alvarado MA, Gutiérrez R, Salcedo SM & Moreno S. 2013. Variación temporal de esporas de *Alternaria*, *Cladosporium*, *Coprinus*, *Curvularia* y *Venturia* en el aire del área metropolitana de Monterey, Nuevo León, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29 (2): 155-165
- Rojas JA, Cruz C, Mikán JF, Villalba LS, Cepero de García MC & Restrepo S. 2009. Isoenzyme characterization of proteases and amylases and partial purification of proteases from filamentous fungi causing biodeterioration of industrial paper. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63: 169-175
- Rojas TI, Aira MJ, Batista A & Cruz IL. 2012. Fungal biodeterioration in historic buildings of Havana (Cuba). *Grana*, 51: 44-51
- Rojas TI & Aira MJ. 2012. Fungal biodiversity in indoor environments in Havana, Cuba. *Aerobiología*, 28: 367-374
- Rojas TI. 2010. Diversidad fúngica en ambientes exteriores de áreas urbanas de ciudad de La Habana y sus potencialidades en el biodeterioro. Tesis Doctoral de la Facultad de Biología de la Universidad de la Habana: 100 p
- Rojas TI, Martínez E, Aira MJ & Almaguer M. 2008. Aeromicota de ambientes internos: Comparación de métodos de muestreo. *Boletín Micológico (Chile)*, 23: 67-73
- Rojas TI, Llanes N, Benítez M, Aira MJ & Malagón H. 2007. El género *Aspergillus* en la atmósfera de La Habana (Cuba). *Boletín Micológico (Chile)*, 22: 41-46
- Rojas TI, Martínez E, Gómez Y & Alvarado Y. 2002. Airborne spores of *Aspergillus* species in cultural institutions at Havana University. *Grana*, 41: 190-193
- Roussel S, Reboux G, Million L, Parchas M-D, Boudih S, Skana F, Delaforge M & Rakotonirainy MS. 2012. Microbiological evaluation of ten French archives and link to occupational symptoms. *Indoor Air*, 22 (6): 514-522
- Sanchis J. 2002. Los nueve parámetros más críticos en el muestreo biológico del aire. *Revista Técnicas de Laboratorio (España)*, 276: 858-862

- Santhiya D & Ting YP. 2005. Bioleaching of spent refinery processing catalyst using *Aspergillus niger* with high-yield oxalic acid. *Journal of Biotechnology*, 116 (2): 171-184
- SBM. 2003. Standard of Building Biology Testing Methods and Guidelines, Baubiologie, Maes/ / Institut für Baubiologie + Ökologie (IBN)
- Seifert D. 1996. *Fusarium* Interactive Key (Fuskey). Agriculture and Agri-Food Canada. Cat. No. A42-66/1996E-IN. <http://res.agr.ca/brd/fusarium/home1.html>.
- Smith G. 1980. *Ecology and Field Biology*. 2nd ed. Harper & Row, New York: 835 p
- Sneath PH, Mair NS, Sharpe ME & Holt JG (ed). 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Edit. Williams & Wilkins, Vol.2, Baltimore, London: 616 p
- Sterflinger K & Pinzari F. 2011. The revenge of time: fungal deterioration of Cultural Heritage with particular reference to books, paper and parchment. *Environmental Microbiology*, 14 (3): 559-566
- Sterflinger K. 2010. Fungi: their role in deterioration of cultural heritage. *Fungal Biology Reviews*, 24: 47-55
- Tsai FC & Macher JM. 2005. Concentrations of airborne culturable bacteria in 100 large US office buildings from the BASE study. *Indoor Air*, 15: 71-81
- Vaillant M., Doménech MT & Valentín N. 2004. *Una mirada hacia la conservación preventiva del patrimonio cultural*. Editora Universidad Politécnica de Valencia, Valencia: 322 p
- Valentín N. 2010. Microorganisms in museum collections. *COALITION*, 19: 2-5
- Villalba LS, Mikán JF & Sánchez J. 2004. Actividades hidrolíticas y caracterización isoenzimáticas de poblaciones microbianas aisladas del patrimonio documental en el Archivo General de Colombia. *Nova Publicación Científica (Colombia)*, 2: 50-57
- Walker A. 2003. *Basic preservation guidelines for library and archive collections*. National Preservation Office, NPO Preservation Guidance, British Library: 10 p
- Zhu H, Phelan PE, Duan T, Raupp GB, Fernando HJS & Che F. 2003. Experimental study of indoor and outdoor airborne bacterial concentrations in Tempe, Arizona, USA. *Aerobiología*, 19: 201-211
- Zumbado H. 2004. Epidemiología y control microbiológico de infecciones. En: Isenberg HD (ed) *Manual de Procedimientos en Microbiología Clínica*. <http://www.cariari.vcr.ac.cr/~gacetapc/Epidem-→-Control.html>