

BIODETERIORO EN ACERVOS DOCUMENTALES: INCIDENCIA DEL AMBIENTE

GUIAMET Patricia^{1,2}, LAVIN Paola^{1,3}, GÓMEZ Analía^{3,4}, GÓMEZ DE SARAIVIA Sandra^{1,5}

¹Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, CCT La Plata- CONICET. C.C. 16, Suc.4 (1900), La Plata. Tel: 54-221-4257430, Fax: 54-221- 4254642 pguiamet@inifta.unlp.edu.ar, ²Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP-CONICET, ³CONICET, ⁴Laboratorio de Arquitectura y Hábitat Sustentable (LayHS), Facultad de Arquitectura y Urbanismo, UNLP. Calle 47 N°162 (1900) La Plata. Tel. 54-221-423-6587 al 90 Int. 255, ⁵Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP-CICBA.

RESUMEN

El biodeterioro conduce a una pérdida histórico-cultural irreparable del patrimonio documental. Objetivos: i) investigar la concentración microbiana del ambiente e identificar los microorganismos; ii) evaluar el riesgo que representan para el biodeterioro del patrimonio documental y iii) estudiar la incidencia de los factores ambientales en el biodeterioro de materiales almacenados. Los archivos estudiados fueron: Archivo Histórico del Museo de La Plata (AHMP); Archivo del Dto de Investigación Histórica y Cartográfica de la Dirección de Geodesia de la Pcia de Bs As (ADIHC) y Archivo del Colegio de Escribanos de la Pcia de Bs As (ACE). La microbiota viable total en el ambiente fue mayor en el ACE. Los recuentos de bacterias en el aire fueron superiores a los de hongos en el ADIHC. En el AHMP y el ACE los recuentos fúngicos fueron superiores. Predominaron los hongos *Aspergillus* y *Penicillium* En el aire predominaron las Gram positivas, en particular el género *Bacillus*. Dos de las cepas fúngicas aisladas (*Fusarium* sp. y *Scopulariopsis* sp.) fueron capaces de producir pigmentos y de utilizar la celulosa como única fuente de carbono en el laboratorio, lo cual implica una amenaza para el acervo documental.

1. INTRODUCCION

El acervo documental, considerado de interés nacional, custodiado en archivos o museos, está expuesto permanentemente a sufrir alteraciones físicas, químicas y/o biológicas. El deterioro biológico "BIODETERIORO", causado por microorganismos (bacterias y hongos) ocasiona cambios no deseados en las propiedades de los materiales [1]. Los microorganismos afectan distintos sustratos orgánicos, naturales o sintéticos (celulosa, policarbonatos), metales y componentes de soportes ópticos y magnéticos (CD, VHS), cartón, rocas, fotografías, textiles, cuero, plásticos, etc Utilizan el papel compuesto de fibras vegetales, aditivos funcionales (encolantes, carga, abrillantadores ópticos, agentes consolidantes) y tintas con aglutinantes orgánicos, como fuente nutricional [2,3]. En los ambientes exteriores e interiores se encuentran 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) [4]. 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 [5,6]. Uno de los problemas que frecuentemente afecta al papel es el desarrollo de "foxing", que consiste en la aparición de puntos marrón-amarillentos. Si bien su origen físico, químico o biológico es discutido, se ha comprobado que los microorganismos iniciarían el daño en el papel. Varias especies fúngicas han sido aisladas y caracterizadas a partir de papel afectado por foxing [7,8].

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 [9].

Los problemas de biodeterioro alcanzan gran importancia económica y social cuando los sustratos colonizados pertenecen al patrimonio cultural [10].

Los objetivos de este estudio fueron determinar los niveles de contaminación microbiana en el aire del AHMP, ADIHC y ACE, e investigar la adherencia microbiana y la formación de biofilms en documentos conservados en estos archivos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los archivos estudiados fueron: Archivo Histórico del Museo de la Plata (AHMP), Archivo del Departamento de Investigación Histórica y Cartográfica de la Dirección de Geodesia del Ministerio de Obras Públicas de la Provincia de Buenos Aires (ADIHC) y Archivo del Colegio de Escribanos de la Provincia de Buenos Aires (ACE)

Los parámetros ambientales temperatura y humedad relativa (HR) fueron medidos mediante microadquisidores HOBOS H08-004-02. Los criterios de referencia [11] fueron los siguientes:

	Temperatura	Humedad relativa
Máximo	22	65
Mínimo	15	45

Para los estudios microbiológicos se colocaron placas de Petri abiertas a 2 m del piso durante 30 minutos en cinco puntos diferentes (Figura 1a) Las mismas contenían diferentes medios de cultivo para bacterias, para mohos y levaduras. Las placas para obtener desarrollo bacteriano se incubaron a 28 °C durante 72 h, las de hongos y levaduras se incubaron a 22 °C durante 7 días (Figura 1b).

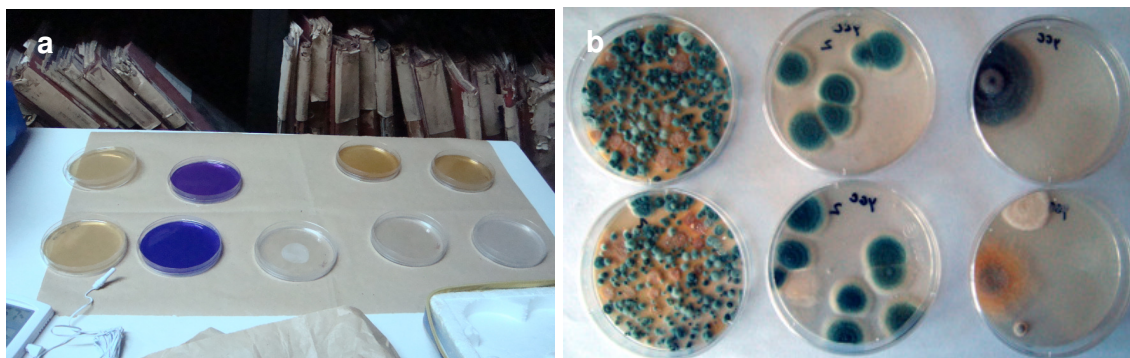


Figura 1. a) Muestreo ambiental; **b)** Crecimiento fúngico luego de 7 días

Las placas de bacterias se incubaron a 30°C por 72 h y las de hongos a 25 °C durante 7 días. Una vez incubadas las placas, se realizaron los recuentos de colonias fúngicas y bacterianas y se determinaron las unidades formadoras de colonia por m³ de aire (UFC/m³), teniendo en cuenta la ecuación descripta por Omeliansky [12]. Se analizaron tres fotos del AHMP, dos en papel (F1 y F2) y una diapositiva en cristal (F3); un mapa (M3) y un libro del ADIHC, dos protocolos del Archivo del Colegio de Escribanos (P1a, P1b y P2); un libro (L1) y. La toma de muestras se realizó con la técnica del hisopado en forma aséptica [13]. Los hisopos fueron sumergidos en solución fisiológica estéril, la muestra se homogeneizó y se procedió al cultivo de la misma.

Se sembraron 1 mL de cada muestra proveniente de los diferentes materiales en medios de cultivos adecuados y se incubaron a 28 °C durante 72 h para bacterias y a 22 °C durante 5 días para hongos y levaduras al cabo de las cuales se realizó el recuento en placa de las colonias [14]. La identificación taxonómica de las cepas se realizó utilizando los manuales de Barnett y Hunter, 1987 [15]. Para la identificación de bacterias se realizaron pruebas bioquímicas descritas en el Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [16].

Las cepas fúngicas ensayadas fueron *Fusarium* sp. y *Scopulariopsis* sp., ambas aisladas de patrimonio documental del ADIHC. Las cepas fueron sembradas en tubos pico de flauta con medio mineral, al cual se le colocó una tira de papel de filtro como única fuente de carbono. El control empleado fue el mismo medio con agregado de glucosa 1%. La adherencia al papel fue observada a través de microscopía electrónica de barrido (MEB). Para su observación en el MEB la muestra fue preparada manteniéndola durante 24 hs en cámara cerrada con alcohol.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Parámetros ambientales.

Tabla 1. Parámetros ambientales medidos en los tres archivos.

Archivo	Temperatura	Humedad relativa
AHMP	19,68 ± 1,42	50,58 ± 5,07
ADIHC	18,69 ± 1,64	50,09 ± 5,19
ACE	18,47 ± 1,94	68,56 ± 1,67

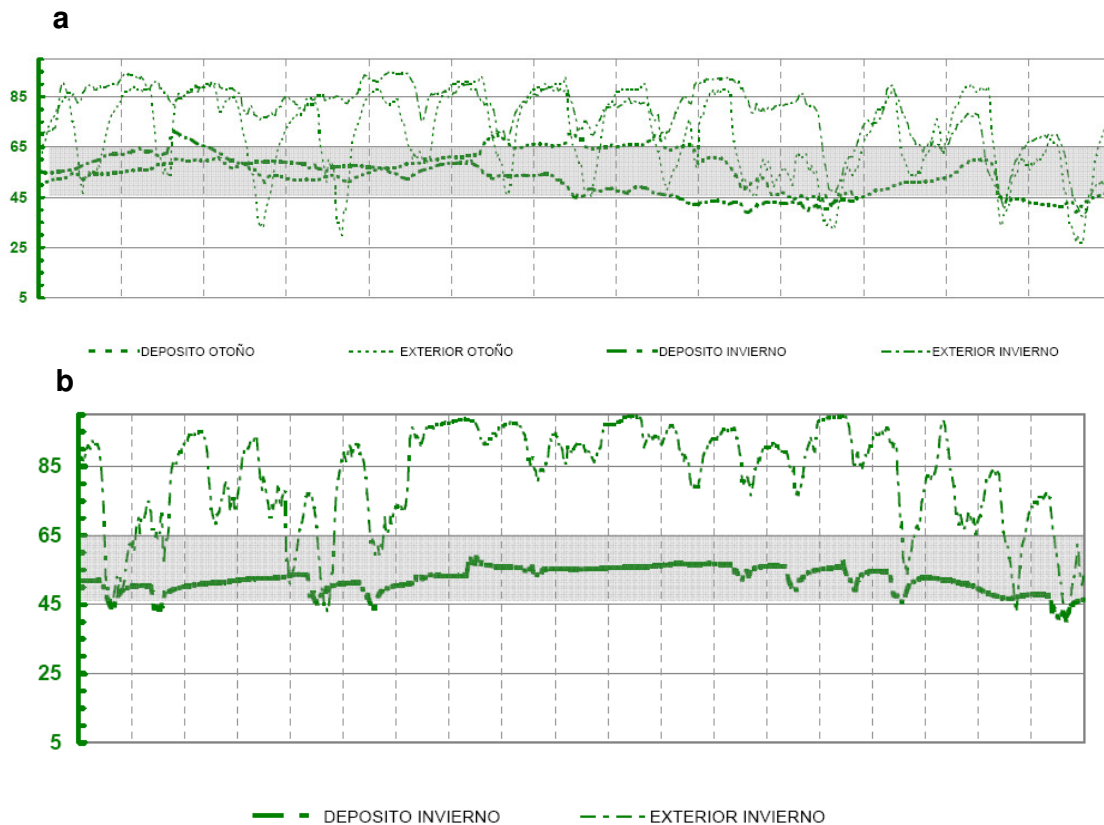


Figura 2. Mediciones de HR en a) ADIHC y b) en AHMP.

3.2. Contaminación microbiana ambiental

a. AHMP. Tanto la concentración fúngica como la bacteriana fueron bajas y oscilaron entre 60 y 200 UFC/m³ (Fig. 3), según la escala de Omeliansky para evaluar el grado de contaminación del aire se considera ambiente no contaminado.

b. ADIHC. Las concentraciones fúngica y bacteriana oscilaron entre 640 y 2720 UFC/m³ (Fig. 3). Se considera que el ambiente está altamente contaminado.

c. ACE. En este archivo se obtuvieron los mayores recuentos de microorganismos, con valores que alcanzaron el orden de 10⁴ UFC/m³. Se lo considera altamente contaminado (Fig. 3).

Cuando se comparan los ambientes de los archivos, se puede apreciar que el AHMP es el único archivo **no contaminado**. En los demás archivos las concentraciones microbianas son significativamente mayores (Fig. 3). Esto podría deberse a la ubicación que presentan cada uno de estos archivos y a las condiciones de mantenimiento existentes en cada uno. El AHMP se encuentra en una zona arbolada, lejana del centro y con escasa contaminación. El ADIHC y el ACE están ubicados en una zona céntrica de la ciudad de La Plata, de gran polución próximos a avenidas transitadas por una gran cantidad de vehículos.

En relación a los parámetros ambientales, los promedios de temperatura fueron similares en los tres archivos, mientras que la HR fue similar para el AHMP y el ADIHC y marcadamente superior para el ACE (Tabla 1). La humedad es uno de los factores más importantes para el desarrollo microbiano, ya que determina el agua disponible para la germinación de esporas y el crecimiento microbiano [17]. En el ACE se halló la mayor carga microbiana total del aire, en relación a la HR promedio de ese archivo, la que se encuentra en el límite de la zona de conservación del papel y fuera de ésta llegando a las zonas de enmohecimiento. Si bien el ADIHC y el AHMP presentan HR similares, en el primer archivo se midieron picos de HR superiores, lo que estaría demostrando la mayor carga microbiana presente en el ADIHC (Fig.2)

Aspergillus resultó el género fúngico que predominó en el aire del ADIHC (60%) en tanto que *Penicillium* predominó en el aire del AHMP (100%). En el ACE ambos géneros estuvieron representados en iguales proporciones (aprox. un 30%). El género *Aspergillus* es uno de los de mayor interés clínico pues posee especies que son capaces de provocar una gran cantidad de afectaciones tales como alergias, sinusitis, otitis, keratitis, etc. [18]. Otros géneros comúnmente aislados fueron *Scopulariopsis* sp., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. y *Cladosporium* sp.

Con relación a las bacterias ambientales (cocos y bacilos) se observó un predominio de las Gram positivas (AHMP: 100%, Archivo de Geodesia: 90%, Archivo del Colegio de Escribanos: 95%). Entre los géneros aislados se encuentran *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Bacillus* sp., y *Streptomyces* sp. y *Serratia* sp., *Serratia marcescens* y *Enterobacter agglomerans* (Gram negativas).

Los géneros *Bacillus*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, y *Streptomyces* han sido aislados por otros autores en ambientes de archivos [19]. Los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* aislados en estos archivos pueden constituir un riesgo significativo para la salud.

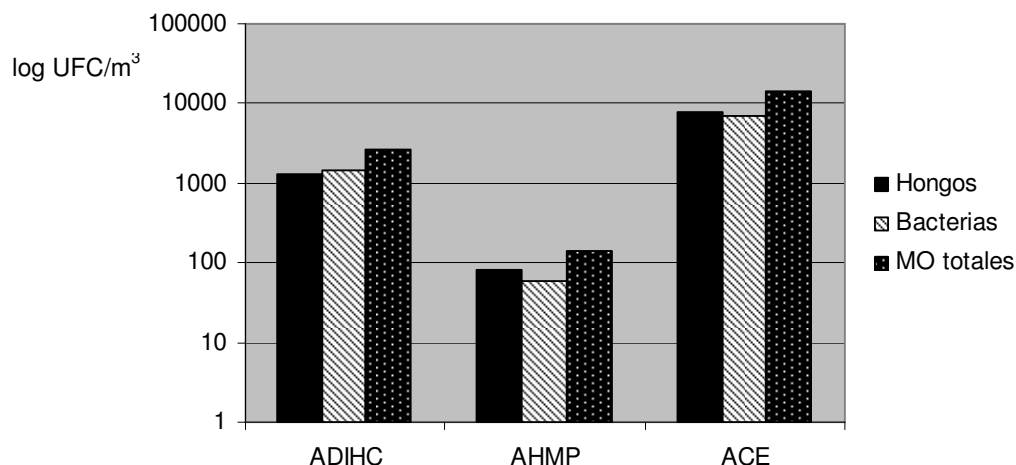


Figura 3. Contaminación microbiana del aire en los diferentes archivos analizados.

3.3. Biofilms: cuantificación microbiana en documentos.

Los resultados de los recuentos obtenidos a partir de los documentos seleccionados se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Recuentos microbianos obtenidos de documentos.

Tipo de documento	Ubicación	Bacterias (UFC/cm ²)	Hongos (UFC/cm 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
Protocolo 1 a (P1a)	ACE	1,3 x 10 ³	1,4 x 10 ³
Protocolo 1 b (P1b)	ACE	4 x 10 ²	5 x 10 ²
Protocolo 2 (P2)	ACE	1,14 x 10 ⁶	2 x 10 ⁴
Libro 1 (L1)	ADIHC	2	1
Mapa 3 (M3)	ADIHC	20	3

Los valores de adherencia mas elevados corresponden a las bacterias Gram positivas. *Bacillus* sp. es una bacteria que puede degradar un amplio rango de sustratos debido a sus características fisiológicas [20] y la mayoría de las especies producen endosporas que son altamente resistentes a condiciones ambientales extremas, a los antibióticos, desinfectantes y otras sustancias químicas, por lo que además son fáciles de diseminar.

En relación a los hongos aislados de documentos se pudo detectar que el género *Aspergillus* fue el de mayor predominio. Se aislaron también *Penicillium* sp. de F3 y F4, Micelia sterilia de F3, *Fusarium* sp. y *Scopulariopsis* sp. de L1 y *Alternaria* sp. de M3.

Gran parte del material almacenado en los tres archivos presentaban alteraciones tipo "foxing" (Fig. 4)

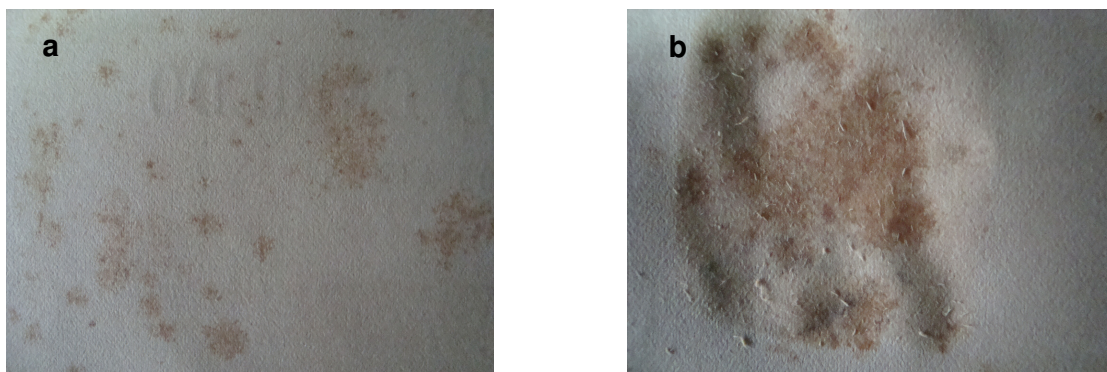


Figura 4. a) Manchas de foxing en documento almacenado en el ADIHC, b) detalle de un sector afectado.

La capacidad celulolítica y la producción de pigmentos de *Fusarium* sp. y *Scopulariopsis* sp. (Fig. 5) fue demostrada mediante ensayos de laboratorio. Se

observaron fibras de celulosa degradadas y sustancias poliméricas extracelulares sobre el papel (Fig. 6)

CONCLUSIONES

- Los recuentos de bacterias en el aire en los depósitos del ADIHC fueron superiores a los de hongos. En el AHMP y el ACE la concentración fúngica fue superior.
- La carga microbiana total en el aire fue mayor para el ACE y el ADIHC que para el AHMP.
- Los valores de adherencia microbiana hallados en la gran mayoría de los documentos fueron mayores para las bacterias que para los hongos.
- Los géneros fúngicos predominantes en el aire de los tres archivos fueron *Penicillium* y *Aspergillus*, lo cual demuestra una correspondencia con los géneros más comúnmente aislados de los documentos analizados.
- Ensayos de laboratorio demostraron la capacidad celulolítica y la producción de pigmentos de algunas de las cepas fúngicas aisladas en estos muestreos (*Fusarium* sp. y *Scopulariopsis*) constituyendo una amenaza para los documentos.
- Los pigmentos producidos por los hongos provocaron daños estéticos en los papeles ensayados.
- Dentro de las bacterias del aire, el predominio correspondió a las Gram positivas.
- La presencia de *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp. y de diversos hongos identificados estaría indicando que los ambientes presentan condiciones higiénicas insalubres.
- Se requiere que equipos interdisciplinarios y especializados realicen estudios de seguimiento y control a largo plazo, que permitan un mayor conocimiento del biodeterioro en este tipo de soportes para minimizar los efectos de pérdida inmensurable que ocasiona el biodeterioro en materiales patrimoniales.
- Los estudios realizados en el laboratorio sobre biodeterioro, control y prevención del mismo, tienden a mantener la integridad de las piezas desde un punto de vista físico, químico e histórico, ese es nuestro objetivo.

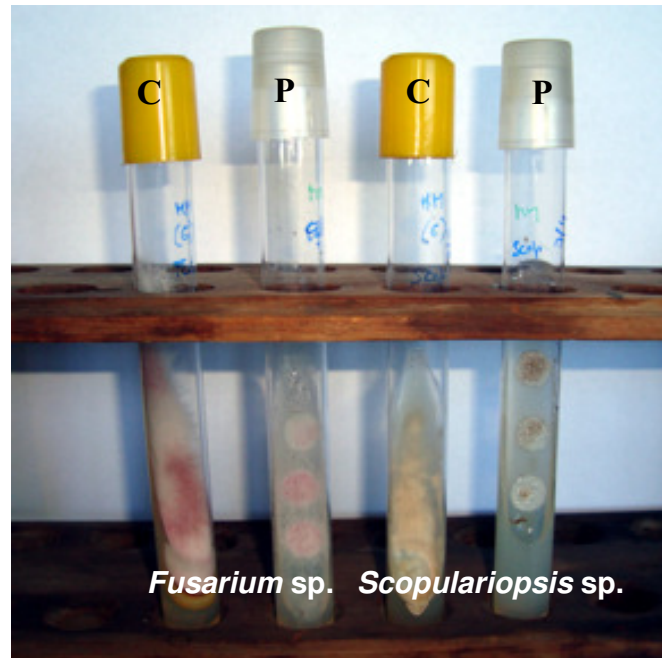


Figura 5. Cepas fúngicas creciendo con papel de filtro como fuente de carbono (P) y con glucosa al 1 % como control (C).

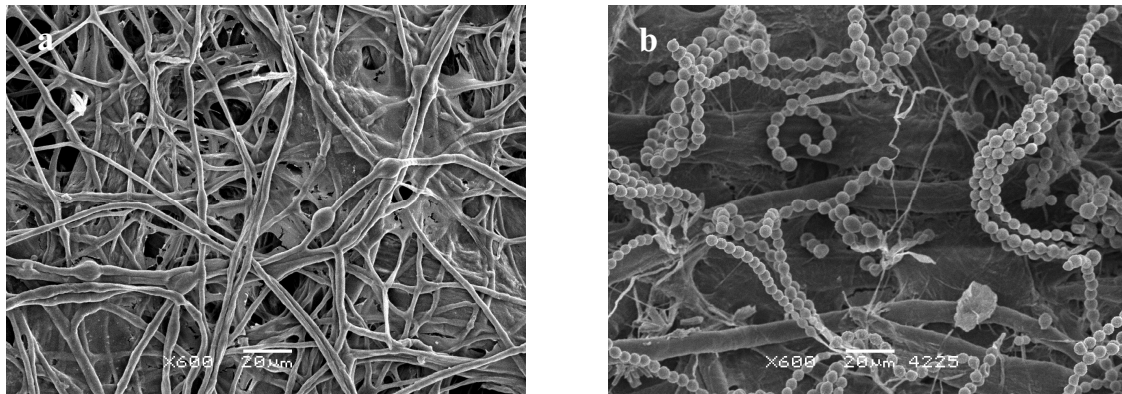


Figura 6. Formación de biofilms fúngicos sobre papel envejecido a) *Fusarium* sp. y b) *Scopulariopsis* sp (X600).

AGRADECIMIENTOS.

Los autores agradecen a la Dra. Silvia Ametrano (Archivo Histórico del Museo de La Plata) y al Lic. Juan Carlos Álvarez Gelves (Archivo del Departamento de Investigación Histórica y Cartográfica de la Dirección de Geodesia del Ministerio de Obras Públicas de la Provincia de Buenos Aires) por la autorización para realizar la toma de muestras. A la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) Proyecto de Incentivos 11N 578 y 11 X 506, a la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (1535/10) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) PIP 0200 por su financiación.

REFERENCIAS

- [1] Hueck, H. (1965), "The biodeterioration of materials as a part of hydrobiology". *Mater Organismen* Vol. 1, pp. 5-34.
- [2] Borrego, S., Guimet, P., Gómez de Saravia, S., Battistoni, P., García, M., Lavin, P., Perdomo, I. (2010), "The quality of air at archives and the biodeterioration of photographs". *International Biodeterioration & Biodegradation*, Vol. 64, pp.139-145.
- [3] Guimet, P., Borrego, S., Lavin, P., Perdomo, I., Gómez de Saravia, S. (2011), "Biofouling and biodeterioration in materials 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*, Vol. 85, pp. 229-234.
- [4] 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.
- [5] Villalba, L, Mikan, J, Sanchez, J. (2004), "Actividades hidrolíticas y caracterización isoenzimática de poblaciones microbianas aisladas del patrimonio documental del Archivo General de Colombia". *NOVA*, Vol. 2, pp. 50-58.
- [6] 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.
- [7] De Paolis, M. R., Lippi, D. (2008), "Use of metabolic and molecular methods for the identification of a Bacillus strain isolated from paper affected by foxing". *Microbiological Research* 163: 121-131.
- [8] Arai, H. (2000), "Foxing caused by Fungi: twenty-five years of study". *International Biodeterioration & Biodegradation* Vol. 46, pp. 181-188.
- [9] Koestler, R., Santoro, E., Druzik, J., Preusser, F., Koepp, L., Derrick, M. (1998), "Ongoing studies of the susceptibility to biodeterioration of stone consolidated to microbiologically induced corrosion". En: Houghton D, Smith R, Eggins H. (eds.). *Biodeterioration 7*. Elsevier Sc., London, UK, 441 pps.
- [10] Guimet, P., Gómez de Saravia, S., Arenas, P., Pérez, M., de la Paz, J., Borrego, S. (2006), "Natural products isolated from plant used in biodeterioration control". *Pharmacologyonline* Vol. 3, pp. 537-544.
- [11] Bell, L. and Faye, B. (1980), "Rango de tolerancia para la conservación de los documentos de papel. La concepción de los edificios de archivos en los países tropicales" (1ª ed.). Paris: Unesco.
- [12] Bogomolova, E.V., Kirtsideli, I. (2009), "Airborne fungi in four stations of the St. Petesburg underground railway system", *International Biodeterioration & Biodegradation* 63:156-160.
- [13] Rempel, S. (1987), "The care of photographs". 1º Edition, Editorial Nick Lyon Books, New York, USA. 117 pps.
- [14] Madigan, M., Martinko, J., Dunlap, P., Clarck, D. (2008), Brock. "Biology of microorganisms". 12ª ed. Benjamin Cumming, 1168 pp.
- [15] Barnett, H., Hunter, B. (1987), "Illustrated genera of imperfect fungi". 3rd Edition, Burgess Publishing Co. Minneapolis.
- [16] Sneath, P., Mair, N., Sharpe, M., Holt, J. (1986), (eds). "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology". Vol. 2, Editorial Williams & Wilkins, Baltimore, London.
- [17] Valentín, N. (2003). "Microbial contamination and insect infestation in organic materials", *Coalition* Vol. 1, No. 6, pp. 2-3.
- [18] Gost, J., Bermejo, B., Rivero, M., Espatolero, M., Polo, I., Sínz de la Murieta, J. (2003), "Vigilancia y control de las infecciones originadas por gérmenes oportunistas: aspergilosis". *Anales*, Vol. 23, pp.185-192.
- [19] Valentín, N., Vaillant, M., Guerrero, H. (1997). "Programa de control integrado de plagas en bienes culturales de países de clima mediterráneo y tropical". *Apoyo*, Vol. 7, pp.13-15.
- [20] Claus, D., Berkeley, R. (1986), "The genus *Bacillus*". En: 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.