

ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS PARA EL MONITOREO AEROMICOLÓGICO EN EL MUSEO DE LA PLATA

Nitíu Daniela S.^{a,b}; Mallo Andrea C.^{a,c}; Elfades Lorena A.^{b,d}; San Martín Cintia^a & Saparrat Mario N.C.^{b,d,e,f}.

^aCátedra de Palinología. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP; ^b CONICET; ^cCIC PBA; ^dInstituto de Botánica Carlos Spegazzini, FCNy M; UNLP, ^e Instituto de Fisiología Vegetal, UNLP-CCT; ^f Cátedra de Microbiología Agrícola. FCAyF. UNLP. 64 N° 3, 1900 La Plata. danielanitíu@yahoo.com.ar

Palabras clave: esporas fúngicas, calidad ambiental, colecciones biológicas, Museo de La Plata.

RESUMEN

La contaminación aeromicrobiológica impacta negativamente en las colecciones que se custodian en los museos afectando la conservación de los ejemplares, soportes, la calidad del aire y la salud del personal y los visitantes. La mayor parte de las colecciones que se preservan y/o exhiben en los museos son de naturaleza orgánica, caracterizándose incluso por su alta capacidad de retención de agua. Ello implica un significativo incremento del contenido de humedad en el material y su soporte, especialmente cuando los objetos están sometidos a una ventilación insuficiente y a una humedad relativa superior al 65%. Bajo estas condiciones y en presencia de agentes causantes de biodeterioro como bacterias y hongos, numerosos materiales están expuestos al desarrollo de microorganismos que pueden contribuir a la pérdida irreparable de piezas históricas. En coordinación con la Unidad de Conservación y Exhibición del Museo de La Plata y en función de la importancia de las colecciones custodiadas en esa Institución, y el riesgo potencial al que se hallan expuestas, se propuso realizar estudios enfocados en la identificación y cuantificación de esporas fúngicas en el aire de dos recintos: 1- Herbario de la División de Plantas Vasculares y 2- depósito de restos humanos momificados "Ex Aula Ameghino". Se utilizó un modelo de estudio que combina una metodología volumétrica tipo Hirst con una técnica adaptada para el cultivo de muestras. Para la toma de muestras no viables se empleó una bomba aspirante Z-lite IAQ Pump® conectada a un cassette para la captura de partículas, que se expuso a la toma de aire durante 5 minutos a un flujo de 15 l/min. El cassette fue procesado según Baxter (2006) y las muestras observadas al MO para la identificación y cuantificación de los propágulos fúngicos con bibliografía especializada. Para el análisis de las muestras viables, se reemplazó el cassette por un portafiltro Millipore con filtros GE Osmonics de 0.45 µm. El portafiltros fue conectado a la bomba mencionada y los filtros sometidos a la toma de aire durante el mismo tiempo y flujo citado previamente. Una vez obtenida la muestra, los filtros fueron lavados en agua bidestilada y alícuotas de la suspensión obtenida fueron sembradas sobre medio de cultivo conteniendo 2% (w/v) Corn Meal Agar (CMA) adicionado con glucosa (2 g l⁻¹), cloramfenicol (50 mg l⁻¹) y estreptomina (100 mg l⁻¹) y se realizó el recuento y determinación de unidades formadoras de colonia. Utilizando ambos sistemas de captura se

identificaron 17 tipos fúngicos cuyos representantes más significativos pertenecen a Ascomycota con el 65 % de esporas asexuales y el 17% de ascosporas. Le sigue en importancia la división Basidiomycota con el 12% y Mycetozoa con 6 % de representación. Con relación a los tipos esporales encontrados, *Aspergillus/Penicillium*, *Alternaria*, *Rhodotorula* y *Epicoccum* caracterizaron ambos sitios de estudio, siendo el primero el que registró mayor frecuencia. Analizando la eficiencia de las dos metodologías de muestreo se encontró un espectro diferencial según el tipo de sitio estudiado. El sistema no viable aporta información acerca de la presencia de esporas inactivas o en estado de dormancia así como del particulado inerte en el aire el cual tiene relevancia a nivel alergénico. Por otra parte, el sistema de cultivo *in vitro* permite la precisa identificación de la carga fúngica y su vitalidad. Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que ambas metodologías resultan complementarias para el adecuado diagnóstico del contenido aeromicológico en ambientes interiores siendo relevantes para la conservación del patrimonio del Museo de La Plata.

INTRODUCCIÓN

Los estudios de biodeterioro y biodegradación y los procesos que los originan, son fundamentales para la preservación del patrimonio histórico y cultural de un país.

El biodeterioro de materiales históricos es un fenómeno multifactorial que abarca alteraciones por acción biológica con efecto perjudicial para los objetos [1]. A ello hay que sumar el impacto estético negativo que produce sobre los bienes afectados. La intensidad del biodeterioro es el resultado de la composición del material, de las condiciones ambientales y de la microbiota involucrada en el proceso.

La mayor parte de las colecciones que se preservan y/o exhiben en los museos son de naturaleza orgánica, caracterizándose incluso por su alta capacidad de retención de agua. Ello implica un significativo incremento del contenido de humedad en el material y su soporte, especialmente cuando los objetos están sometidos a una ventilación insuficiente y a una humedad relativa superior al 65%. Bajo estas condiciones y en presencia de agentes causantes de biodeterioro como bacterias y hongos, numerosos materiales están expuestos al desarrollo de microorganismos que pueden contribuir a la pérdida irreparable de piezas históricas, incluso en un breve período de tiempo [2].

Por lo tanto, es importante tener en cuenta que, sumado al efecto del biodeterioro causado por bacterias y hongos, el manejo de materiales contaminados puede constituir asimismo un serio riesgo para la salud de las personas ya que muchos de estos organismos son patógenos o toxicogénicos [3,4].

El Museo de Ciencias Naturales de La Plata fue originalmente creado como "Museo General de La Plata" el 19 de septiembre de 1884, en base a un proyecto del coleccionista Francisco Pascasio Moreno (1852-1919). Las primeras colecciones provinieron del Museo Antropológico de Buenos Aires con patrimonio donado por el propio Moreno.

En la actualidad, las Colecciones botánicas, entomológicas y de invertebrados, paleontológicas, geológicas, antropológicas, etnográficas y arqueológicas del Museo suman más de 3.000.000 objetos exhibidos en 20 salas y conservados en distintos sectores del edificio. El objetivo de este trabajo fue iniciar procedimientos de monitoreo y diagnóstico de la carga fúngica potencialmente perjudicial presente en el aire interior de los recintos de conservación, tomando como casos de estudio el Herbario de Plantas Vasculares del Museo de La Plata (figura 1A) y el depósito de Antropología "Ex Aula Ameghino" que conserva restos humanos momificados del Noroeste argentino (figura 1B).



Figura 1: A: Depósito de las Colecciones Botánicas, Herbario del Museo de Ciencias Naturales de La Plata; B: Depósito de restos momificados (subsuelo Museo de Ciencias Naturales).

MATERIALES Y METODOLOGIA

Sitios de estudio

1. El Herbario de Plantas Vasculares alberga 500 000 ejemplares botánicos, siendo las Compuestas y los Materiales Tipo, las colecciones más importantes del país y de América Latina. Posee una superficie de 350 m² con diversos espacios de trabajo, incluyendo áreas de investigación y administración y un área exclusiva para la conservación de las colecciones bajo condiciones controladas de temperatura y humedad. El muestreo se realizó el 21 de diciembre de 2011; se analizaron 6 áreas representativas: H1- acceso principal al área de conservación, H2 - pasillo central, H3 - acceso auxiliar, H4 - sala de visita H5 - recepción, H6 - pasillo exterior.
2. El depósito de restos humanos momificados “Ex Aula Ameghino” contiene piezas de distinto origen del Noroeste argentino que se hallaban originalmente en sala de exhibición y fueron trasladadas posteriormente a su ubicación actual. Dicho recinto posee una superficie de 28 m² bajo condiciones controladas de temperatura y humedad. El muestreo se realizó el 12 de noviembre de 2012; se tomaron muestras de aire de: 1- exterior del Aula Ameghino (M1), 2- aire interior del mismo depósito (M2) y de la atmósfera interior de las vitrinas de los siguientes ejemplares: 3 - Interior de la vitrina que contiene materiales asignados a “Serranía de Las Pirguas, Dto. Guachipas Salta. Cadáver de gemelos naturalmente momificados con ajuar funerario. Inv. 50181.” (M3), 4 - Idem “Pampa Grande, Salta: Cadáver momificado naturalmente. S/ Inv.” (M4) y 5- Idem “Pampa Grande, Salta: Cadáver momificado naturalmente. S/ Inv.” (M5).

Técnica de muestreo

El modelo de estudio utilizado (figura 2) combina una metodología volumétrica que emplea una bomba aspirante Z-LitelAQ Pump ® calibrada a un flujo de 15 litros de aire por minuto, para la captura de partículas que impactan en un cubreobjeto revestido con silicona que se halla contenido en un cassette Air O Cell ® proporcionando muestras no viables. Dichas muestras fueron expuestas durante 5 minutos, procesadas en laboratorio y observadas al microscopio óptico, se realizó la identificación de esporas mediante atlas especializados [5,6,7,8,9] el recuento y la estimación de esporas por metro cúbico de aire se calculó según Baxter 2006 [10].

Para la obtención de las muestras viables, se reemplazó el cassette por un portafiltro Millipore con filtros de 0.45 µm. El portafiltros se conectó a la bomba quedando los filtros expuestos a la toma de aire durante 5 minutos. Una vez obtenidas las muestras, los filtros

fueron lavados y agitados (15 minutos a 2000 rpm) y alícuotas de 1 ml de la suspensión obtenida se sembraron en medio de cultivo conteniendo 2% (w/v) Corn Meal Agar (CMA) adicionado con glucosa (2 g l⁻¹), cloramfenicol (50 mg l⁻¹) y estreptomina (100 mg l⁻¹) para el recuento y determinación de esporas fúngicas asociadas. En el momento de la toma de muestras, se registró la temperatura y humedad en cada recinto utilizando HOB0 U14 LCD Datalogger.

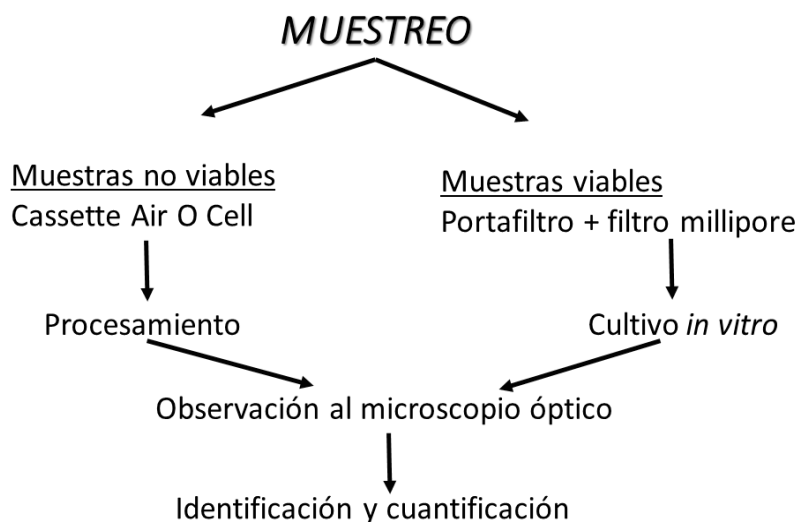


Figura 2: Diagrama de flujo de la secuencia de muestreo de aire interior.

RESULTADOS Y DISCUSION

Utilizando ambos sistemas de captura se identificaron 17 tipos morfológicos en ambos sitios cuyos representantes más significativos pertenecen a Ascomycota con el 65 % de esporas asexuales y el 17% de ascosporas. Le sigue en importancia la división Basidiomycota con el 12% y Mycetozoa con 6 % de representación.

Con relación a los tipos esporales encontrados, *Aspergillus/Penicillium*, *Alternaria*, *Rhodotorula* y *Epicoccum* caracterizaron ambos sitios de estudio, siendo el primero el que registró mayor frecuencia hallándose presente en 4 muestras del Herbario y en todas las muestras del Depósito (tabla 1). Estos resultados han sido corroborados por otros investigadores en estudios de control de bioderiero en el Archivo del Museo de La Plata [11].

En el muestreo del Herbario, se identificaron 12 taxa siendo el pasillo exterior (sector H6), el sitio que presentó mayor la riqueza con 9 tipos esporales.

No obstante, en los accesos al recinto de conservación de plantas vasculares (sectores H1 y H2) se registró un adecuado control ambiental posiblemente garantizado por el equipo de aire acondicionado y por el cuidadoso accionar del personal del Herbario tal como lo revelado por el menor número de taxa presentes (3 y 1 respectivamente) en dichas áreas. Adicionalmente, en sectores adyacentes al recinto de colecciones se identificaron esporas de *Cladosporium*; *Penicillium* sp y *Rhodotorula* sp., en niveles no perjudiciales para la salud humana y la preservación de estas colecciones biológicas.

Por otro lado, en las muestras ambientales del depósito del ex Aula Ameghino se detectaron esporas de *Alternaria*, *Aspergillus*, *Coprinus*, *Penicillium* y *Talaromyces*.

La vitrina perteneciente a los infantes gemelos (muestra II) reveló el mayor número de tipos fúngicos (6). Analizando la diversidad de tipos fúngicos se puede decir que en el ex depósito

Ameghino es menor que en el Herbario y se halla menos afectado por las condiciones en el exterior.

Tipos morfológicos	HERBARIO						DEPOSITO MOMIAS				
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	M1	M2	M3	M4	M5
<i>Acremonium</i>	x										
<i>Alternaria</i> *		x	x			x	x	x			
<i>Arthrinium</i> *						x					
<i>Ascospora</i> *				X	x						
<i>Aspergillus-Penicillium</i> *	x		x	X		x	x	x	x	x	x
<i>Beauveria</i> *									x		
<i>Cladosporium</i> *	x		x	X	x	x	x	x	x		
<i>Coprinus</i> *											
<i>Chaetomium</i> *						x	x		x		
<i>Dreschlera-Bipolaris</i> *					x						
<i>Epicoccum</i> *						x	x		x		
Tipo <i>Leptosphaeria</i>			x		x	x					
Myxomycota				X		x					
<i>Paecilomyces</i>							x	x			
<i>Rhodotorula</i> *			x			x	x		x		
<i>Talaromyces</i>								x	x		x
<i>Torula</i> *										x	

Tabla 1: Morfotipos de esporas fúngicas registrados en cada sitio de muestreo. El signo * corresponde a los tipos esporales citados con propiedades alergénicas.

Analizando la eficiencia de las dos metodologías de muestreo se encontró un espectro diferencial según el tipo de sitio estudiado. El sistema viable permitió la detección de propágulos fúngicos en todos los sitios. Se determinaron a nivel específico los siguientes hongos *Aspergillus niger*, *Epicoccum nigrum* y *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium frequentans*, *P. rubrum* y *P. thomii*, principalmente en la ex Sala Ameghino.

El sistema no viable permitió la detección de esporas fúngicas y de particulado inerte pero presenta limitaciones en cuanto a precisión en la determinación de los taxa ya que la misma se basa solo en características morfológicas de las esporas permitiendo la asignación como máximo a nivel genérico. Sin embargo, este sistema aporta información acerca de la presencia de esporas no viables o en estado de dormancia así como del particulado inerte en el aire el cual tiene mucha relevancia a nivel alergénico [3,12]. En la figura 3 se presentan algunos tipos esporales así como escamas epidérmicas hallados en los muestreos de los distintos sitios.

A pesar de que se identificaron diversos taxa fúngicos o tipos morfológicos con ambos métodos es de destacar que en ninguna muestra se hallaron representantes de *Stachybotrys*, *Fusarium*, *Trichoderma* y *Aspergillus versicolor* [13,14] los cuales son utilizados como agentes indicadores de severos problemas de humedad ambiental y altamente propensos al desarrollo y progreso de biodeterioro en colecciones biológicas. Sin embargo, la presencia de *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium* debe ser

considerada por su importancia como factor de riesgo para la salud del personal a cargo de las colecciones [15,16].

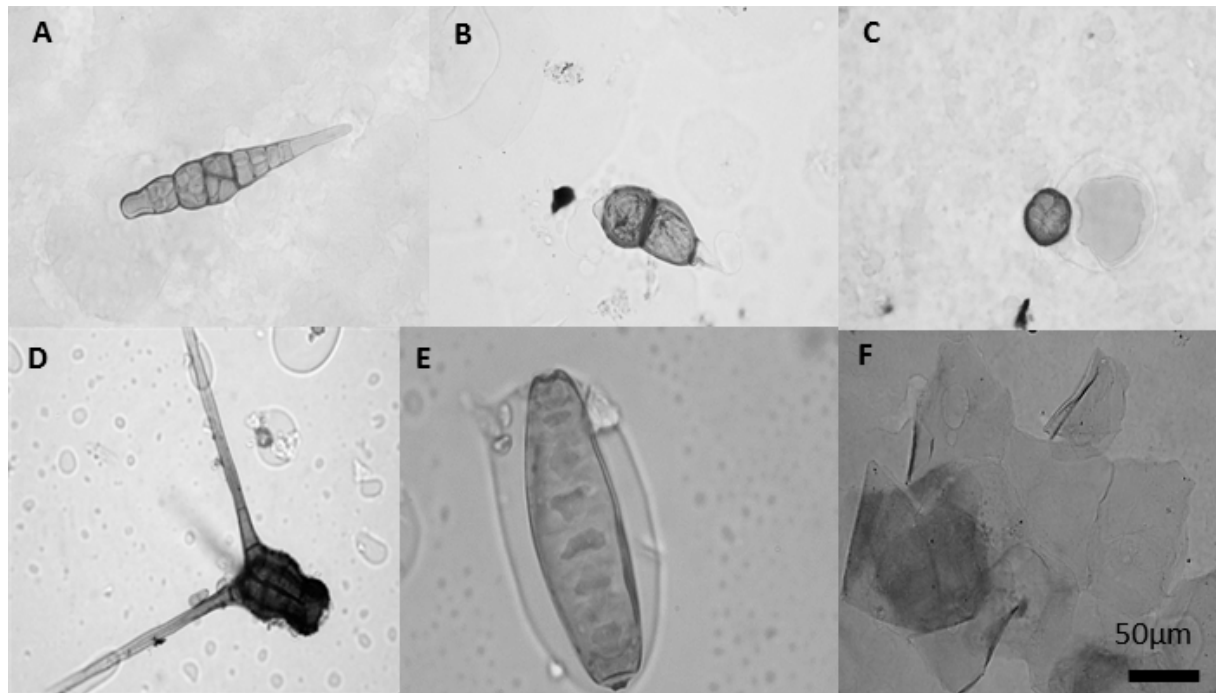


Figura 3: Tipos esporales capturados con el sistema no viable en los sitios de muestreo. A: Tipo *Alternaria*, B: Tipo *Puccinia* (uredospora), C: Tipo *Periconia*, D: Tipo *Tetraploa*, E: Tipo *Helminthosporium*, F: escamas epidérmicas.

CONSIDERACIONES FINALES

Los resultados obtenidos en este estudio de dos casos modelo sugieren que ambas metodologías aplicadas (viable y no viable) resultan complementarias para el adecuado diagnóstico del contenido aeromicológico en ambientes interiores. La falta de información sobre la calidad del aire en museos de referencia y sus bienes patrimoniales condicionan la necesidad de este tipo de estudios de monitoreo.

Nuestros hallazgos son relevantes dado que son nuevos resultados sobre la calidad del aire interior en el Museo de La Plata con referencia a las esporas fúngicas y su posible incidencia en la salud utilizando una metodología innovadora.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Pedro Balatti por su colaboración en aspectos metodológicos. También expresan su reconocimiento a las autoridades del Herbario y de la División Exhibición y Conservación del Museo de La Plata. Este estudio fue financiado mediante los subsidios (CONICET), PIP 112-200801-01422, PIP 112-200801-01085, PIP 112-201101-00391, PIP 112-201101-00087; Foncyt, PICT 501 el Proyecto de Incentivos a la Investigación (N581) FCNyM, UNLP.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Simmons J.E. & Muñoz – Saba Y. Eds. (2005), Cuidado, manejo y conservación de las colecciones biológicas, Serie Manuales de campo, Conservación Internacional. Universidad Nacional de Colombia.
- [2] Ponizovskaya V.A., Antropova A.B., Mokeeva V.L., Bilanenko E.N. & Chekunova L.N. (2011), Effect of water activity and relative air humidity on the growth of *Penicillium chrysogenum* Thom, *Aspergillus repens* (Corda) Sacc. and *Trichoderma viride* Pers. isolated from living spaces, *Microbiología* 3:378-385.
- [3] Borrego S., Guiamet P., Gómez de Saravia S., Batistini P., García M., Lavin P. & Perdomo I. (2010), The quality air at archives and the biodeterioration of photographs. *International Biodeterioration and Biodegradation* 64:139-145.
- [4] Klich M.A. (2009), Health effects of *Aspergillus* in food and air, *Toxicology and Industrial Health* 25 (9-10):657-667.
- [5] Käärik A., Keller J., Kiffer E., Perreau J. & Reisinger O. (1983), In Nilsson, S. Ed. Atlas of airborne fungal spores in Europe. Springer-Verlag, Berlin.
- [6] Barnett H.L. & Hunter BB. (1987), *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, MacMillan Publ. Co. New York.
- [7] Grand Smith E. (1990), *Sampling and identifying allergenic pollens and molds*. Blewstone Press, San Antonio, Texas.
- [8] Lacey M.E. & West J.S. (2006), *The Air Spore*, Springer, Dordrecht, Netherlands.
- [9] Nitiu D.S., Mallo A.C., Gardella Sambeth M.C & Morbelli M.A. (2010), Contribución a la identificación de esporas del Reino Fungi en la atmósfera de La Plata (Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 45(3-4):301-308.
- [10] Baxter D. (2006). Air O Cell Interpretation guide. Environmental Analysis Association. [http://www.ehs.umass.edu/sites/ehs/files/IAQ Interpretation Document](http://www.ehs.umass.edu/sites/ehs/files/IAQ%20Interpretation%20Document.pdf).
- [11] Borrego S., Perdomo I., Guiamet P. & Gómez de Saravia S. (2010). Estudio de la concentración microbiana en el aire de depósitos del Archivo Nacional de Cuba. *AUGMDOMUS*. 1:118-137.
- [12] Simmon Nobbe B., Denk U., Poö Il V., Rid R., Breitenbach M. (2008). The spectrum of fungal allergy. *International Archive Allergy Immunology*. 145:58-86.
- [13] Chapman J.A. (2003). *Stachybotrys chartarum* (chartarum = atra = alternans) and other problems caused by allergenic fungi. *Allergy Asthma Proceed*. 24(1):1-7.
- [14] Michelsen A, Pinzari F, Barbabietola N, Piñar G. (2012). Monitoring the effects of different conservation treatments on paper-infecting fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 30:1-9.
- [15] Burge H.A., Hoyer M.E., Solomon W.R., Simmons E.G. & Gallup J. (1989). Quality control factors for *Alternaria* allergens. *Mycotaxon*. 34(1):55-63.
- [16] López Martínez R., Hernández Hernández F., Millan Chiu B.E., Manzano Gayosso P. & Mendez Tovar L.J. (2007). Efectividad del imazalil en el control del deterioro por hongos de momias del museo de El Carmen, Ciudad de México. *Revista Iberoamericana de Micología*. 24:283-288