

ESTUDIO DE CARGA FÚNGICA AL INTERIOR DEL ARCHIVO NACIONAL. EVALUACIÓN DEL RIESGO POTENCIAL EN LA CONSERVACIÓN DE COLECCIONES Y EN LA SALUD DE TRABAJADORES

Catalina Zúñiga Taulis¹, Cecilia Rodríguez Moreno² y Fernanda Espinosa Ipinza³

RESUMEN

La carga microbiológica de aire en áreas cerradas puede ser un riesgo de contaminación para objetos y trabajadores. En este trabajo, junto con parámetros ambientales que son registrados de manera habitual, como humedad relativa y temperatura, se incluyó la carga fúngica en diferentes depósitos del Archivo Nacional (Chile). Utilizando un muestreador microbiano de aire MAS-100 ECO® se midió la fracción cultivable de hongos en dos muestreos intensivos (invierno/primavera). Se observó una mayor concentración fúngica en primavera respecto del invierno, clasificada en niveles bajos, medios y altos, según los estándares establecidos por la Comisión de las Comunidades Europeas (CEC 1993). Además se identificaron géneros usualmente documentados en museos, depósitos y exhibiciones, los que podrían ser peligrosos para la salud humana.

Palabras clave: carga fúngica, biodeterioro, aeromicrobiología, salud.

¹ Dra. en Ciencias mención Microbiología, Universidad de Chile. catazt@gmail.com

² Centro Nacional de Conservación y Restauración, Laboratorio de Papel y Libros, Chile. cecilia.rodriguez@cnrc.cl

³ Centro Nacional de Conservación y Restauración, Laboratorio de Análisis, Chile. maria.espinosa@cnrc.cl

STUDY OF THE FUNGAL LOAD INSIDE THE NATIONAL ARCHIVE. EVALUATION OF THE POTENTIAL RISK IN THE CONSERVATION OF COLLECTIONS AND IN THE HEALTH OF WORKERS

ABSTRACT

The microbial load in the air of confined areas can be a risk of contamination to objects and workers. In this work, along with the usual parameters registered, such as relative humidity and temperature, the environmental fungal load in different storage units of the National Archive (Chile) was also included. Using a microbial air sampler MAS-100 Eco®, the cultivable fungal fraction was determined in two intensive samplings (winter/spring). Higher fungal concentrations were observed in spring in relation to winter, classified into low, medium, and high levels, according to the standards set by the Commission of the European Communities (CEC 1993). In addition, fungal genera usually documented in museums, exhibitions, and storage rooms, which might be pathogenic to humans, were identified.

Keywords: fungal load, biodeterioration, aeromicrobiology, health.

ESTUDO DA CARGA FÚNGICA NO INTERIOR DO ARQUIVO NACIONAL. AVALIAÇÃO DO RISCO POTENCIAL PARA A CONSERVAÇÃO DE COLEÇÕES E A SAÚDE DOS TRABALHADORES

RESUMO

A carga microbiológica do ar em áreas fechadas pode ser um risco de contaminação para objetos e trabalhadores. Neste trabalho, a partir de parâmetros ambientais registrados rotineiramente tais como a umidade relativa e a temperatura, incluiu-se a carga fúngica em diferentes depósitos do Arquivo Nacional (Chile). Utilizando uma amostra microbiana de ar MAS-100 ECO® mediu-se a fração cultivada de fungos e das amostras intensivas (inverno/primavera). Observou-se uma maior concentração fúngica na primavera em relação ao inverno, classificada em níveis baixos, médios e altos, segundo os parâmetros estabelecidos pela Comissão das Comunidades Europeias (CEC 1993). Além disso, foram identificados gêneros usualmente documentados em museus, depósitos e exposições que podem ser perigosos para a saúde humana.

Palavras chaves: carga fúngica, biodeterioração, aeromicrobiologia, saúde.

INTRODUCCIÓN

Las bibliotecas y archivos han servido durante siglos para la preservación de una amplia variedad de materiales y el resguardo de información (Cappitelli et al. 2009). El papel, principal soporte utilizado para contener dicha información, se considera dentro de los materiales más susceptibles de sufrir daños químicos, físicos y biológicos, debido a su naturaleza orgánica. En el caso de daños biológicos se utiliza el término “biodeterioro”, definido como “(...) cualquier cambio indeseable en las propiedades de un material causado por las actividades vitales de los organismos” (Hueck 1965: 7).

La causa de biodeterioro más recurrente en soportes de papel es el ataque de microorganismos, en especial de hongos (Kalwasinska et al. 2012, Sterflinger y Piñar 2013). Las alteraciones causadas por estos últimos pueden ser de tipo químico o físico, provocando alteraciones cromáticas y de textura del soporte a causa de la secreción de enzimas. A ello se suma la acidificación del papel por la excreción de ácidos orgánicos, e incluso la degradación de la celulosa (Gallo et al. 1985, Borrego et al. 2010). Además, se ha descrito que podrían jugar un rol clave en el fenómeno conocido como *foxing* de origen biológico (Choi 2007, Sterflinger y Piñar 2013).

El asentamiento de hongos sobre los objetos tiene una gran influencia en el biodeterioro y es quizás la causa más difícil de detectar de modo anticipado. Los hongos presentes en ambientes interiores provienen por lo general del exterior, ingresando por medio de diversas vías de ventilación, materiales contaminados, o bien, transportados por las personas (Pasquarella et al. 2011, Mahmood y Mari 2013, Lazaridis et al. 2015). Sin embargo, la presencia de estos microorganismos no implica necesariamente su crecimiento, pues las condiciones ambientales y la naturaleza del sustrato donde se depositan son elementos claves en la posibilidad que se desarrollen y puedan causar biodeterioro (Sterflinger y Pinzari 2012). Factores como la temperatura (T) y la humedad relativa (HR) influyen de forma directa en el desarrollo del proceso, así como también en

la tasa a la que este ocurre (Zotti et al. 2008). Más aún, se ha descrito que una aireación escasa junto con la falta de homogeneidad en la temperatura de las superficies puede producir, por ejemplo, puntos de condensación de agua y microclimas con una disponibilidad de agua más alta que en el resto del ambiente, lo que genera mayores crecimientos biológicos (Mahmood y Mari 2013, Sterflinger y Piñar 2013, Camuffo 2014 [1998]).

En el caso de los hongos, las esporas se mantienen suspendidas en el aire hasta que las condiciones de temperatura y humedad relativa sean adecuadas para su crecimiento. Así, la presencia de hongos en las colecciones sería un indicador indirecto de parámetros ambientales no adecuados. De no tomarse medidas de control inmediatas, estos podrían llegar a digerir los materiales en los que se han comenzado a desarrollar (Mahmood y Mari 2013, Sterflinger y Piñar 2013, Camuffo 2014 [1998]).

Por una parte, el pH, la composición del material, la iluminación y exposición del objeto, así como la manera y frecuencia del aseo de las superficies, junto con las condiciones de ventilación de los espacios, son también factores importantes a considerar (Florian 2002, Sterflinger y Piñar 2013). Es por ello que el control climático constante de los recintos, procedimientos de limpieza frecuentes y el monitoreo de las colecciones son las medidas de prevención más utilizadas. No obstante, tanto para poder desarrollar métodos y tratamientos adecuados, así como para generar planes de conservación preventiva, es de gran utilidad conocer el funcionamiento de las comunidades fúngicas presentes.

Junto con los daños que los hongos pueden causar a los materiales, existen también riesgos asociados a la salud de operarios y usuarios de colecciones, debido a sus potencialidades alergénicas, a la producción de micotoxinas y a su capacidad de causar infecciones sistémicas en humanos (Bush et al. 2006). Más aún, se ha reportado que las esporas fúngicas en depósitos pueden alcanzar niveles elevados, llegando a superar las 8.000 Unidades

Formadoras de Colonia⁴ (UFC) por m³, dentro de las que se incluyen especies patógenas (Sterflinger y Pinzari 2012). Estudios en bibliotecas y archivos revelan la presencia frecuente de hongos de los géneros *Aspergillus*, *Mucor*, *Alternaria* y *Penicillium*, entre otros, todos géneros con representantes que, bajo determinadas condiciones, serían de forma potencial nocivos para la salud humana (Apetrei et al. 2009, Sterflinger y Pinzari 2012).

En síntesis, además del monitoreo de las condiciones ambientales, el muestreo directo en la superficie de los objetos y en el aire circundante es esencial para generar un mapa de contaminación biológica y evaluar posibles riesgos (Pasquarella et al. 2011). Los efectos en los objetos y las personas, causados por el hecho de estar en ambientes contaminados, justifican la necesidad de realizar muestreos sistemáticos para estimar el peligro de contaminación microbiológica, ayudando a generar acciones para el manejo de archivos ante situaciones de riesgo, y un mejor entendimiento de los peligros a los que el personal podría estar expuesto (Borrego et al. 2010).

En consideración que la mayoría de las instituciones en el país no cuentan con sistemas de control de las condiciones ambientales, ni con una herramienta que permita el diagnóstico oportuno y objetivo del nivel de riesgo que presenta una colección frente a ataques microbiológicos, la prevención toma especial relevancia. Conforme con lo anterior, el objetivo principal de esta investigación fue determinar y evaluar la carga fúngica ambiental presente en dos dependencias del Archivo Nacional de Chile, utilizados como caso de estudio, para generar una metodología que complemente los parámetros de HR y T, con el estudio aeromicrobiológico de los espacios. Así se espera que se puedan tomar medidas tempranas sobre datos objetivos (cuantitativos y contrastados con estándares) para prevenir y controlar los riesgos de contaminación microbiológica, tanto para los objetos como para la salud de las personas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de muestreo

Las muestras se colectaron entre julio y diciembre de 2012 en dos dependencias del Archivo Nacional de Chile en Santiago: (1) Archivo Nacional de la Administración (ARNAD) y (2) Archivo Histórico Nacional (AHN). Los puntos de muestreo escogidos y sus principales características se muestran en la Tabla 1. En el caso de los depósitos 2, 3 y 6 (D2, D3 y D6), que presentaban una superficie cercana a los 500 m², se fijaron dos puntos de registro, mientras que en la Bóveda de Soportes Especiales (BSE), la Bóveda Subterránea (BS), la Bóveda (B) y la Antebóveda (AB), cuya superficie se encontraba entre 15 y 40 m², se definió un único punto de medición.

Los depósitos escogidos se clasificaron de modo cualitativo, según su nivel de riesgo aerobiológico en: zonas críticas, zonas de cuidado y zonas control. Para ello se consideró su historial de eventos (daños por efecto de terremotos, ocurrencia de filtraciones de agua, etc.), frecuencia de limpieza, condiciones de ventilación, cantidad visible de polvo depositada en las superficies y desarrollo perceptible de hongos.

Así, se establecieron como zonas críticas: el Depósito 2 (D2) del AHN, que presentaba una aislación del techo deficiente incluyendo algunas zonas abiertas al exterior producto del terremoto del año 2010; la bóveda subterránea (BS) del ARNAD, ya que se había almacenado en ella material contaminado con hongos y registraba además antecedentes de alta humedad relativa por filtraciones en el pasado; y el Depósito 6 (D6) del ARNAD, en el que se habían producido eventos de filtración de agua lluvia en el invierno de 2010 y 2011, lo que provocó la proliferación de hongos en algunos volúmenes.

Como zona de cuidado se consideró el Depósito 3 (D3) del ARNAD, ya que este se ubica en el primer piso, con ventanas orientadas al exterior, las que se encuentran cerradas, mas no selladas de forma hermética. Por último, como espacios control o “ideales”, se definieron tres depósitos con ambientes más controlados, dada la sensibilidad o importancia de los materiales que ahí se almacenan: la Bóveda (B)

⁴ Una Unidad Formadora de Colonias (UFC) corresponde a una célula viva (a veces grupos de dos o más) que al ser sembrada en un medio de cultivo sólido se replica, dando origen a una masa celular visible de límites definidos, denominada colonia.

y Antebóveda (AB) del AHN, que cuentan con ventilación mecánica como estrategia de regulación de las condiciones ambientales, y la Bóveda de Soportes Especiales (BSE) del ARNAD, que tiene un equipo de aire acondicionado instalado.

Monitoreo de condiciones ambientales

En cada punto de muestreo (Tabla 1) se instaló un *datalogger* (EXTECH RHT20), con el fin de registrar la humedad relativa (HR) y temperatura (T). Las mediciones se llevaron a cabo entre julio y principios de diciembre en forma diaria cada una hora. Luego se analizaron los valores extremos de ambos parámetros, sus variaciones durante el período de medición mensual y las variaciones diarias. Como el riesgo de deterioro de los materiales es mayor a temperaturas y humedades altas, se consideraron

como críticos valores sobre 22° C y 65% (Michalski 2000, 2010a, 2010b), respectivamente.

Medición de la carga fúngica en el ambiente

Toma de muestras

Se realizaron dos muestreos intensivos: uno durante el período de invierno (agosto/septiembre) y otro durante primavera (noviembre). Para la toma de muestras de aire se utilizó un método de impacto dependiente del cultivo, que consiste en generar la aspiración de un volumen conocido y constante, haciéndolo impactar sobre una superficie receptora (Hirst 1952). Esta metodología entrega información acerca de la concentración de partículas viables presentes en el ambiente (Pasquarella et al. 2011), ya que la muestra se deposita de modo directo sobre

Tabla 1. Características de los puntos de muestreo seleccionados.

Characteristics of the selected sampling sites.

Caraterísticas dos lugares de amostragem selecionados.

Ubicación (1)	Depósitos (2)	Clasificación (3)	Material almacenado
ARNAD	BSE	Zona control	Microfilmes, microfichas, DVD, cintas de respaldo.
	D3-NO D3-SO	Zona de cuidado	Fondos antiguos (desde siglo XVII hasta mitad siglo XX).
	BS	Zona control	Material documental a eliminar, material con evidencia de ataque fúngico.
	D6-NP D6-SP	Zona crítica	Documentación siglo XX.
AHN	D2-1 D2-2	Zona crítica	Documentación siglo XIX.
	B	Zona control	Materiales más importantes: archivos coloniales, republicanos y colecciones particulares.
	AB	Zona control	

(1) ARNAD: Archivo Nacional de la Administración; AHN: Archivo Histórico Nacional. (2) BSE: Bóveda de Soportes Especiales; D3-NO: Depósito 3, nororientado; D3-SO: Depósito 3, surorientado; BS: Bóveda Subterránea; D6-NP: Depósito 6, norponiente; D6-SP: Depósito 6, surponiente; D2-1: Depósito 2, primer nivel; D2-2: Depósito 2, segundo nivel; B: Bóveda; AB: Antebóveda. (3) Clasificación cualitativa a base de una inspección visual de los depósitos.

una placa Petri dispuesta en el interior del equipo, previamente preparada con el medio de cultivo seleccionado. Para ello se utilizó un muestreador MAS-100 ECO® (N3V), que posee un flujo activo de 100 L min⁻¹. En todos los muestreos se realizaron dos réplicas paralelas.

Cultivo y conteo de microorganismos

Se utilizaron dos medios de cultivo sólidos preparados en placas Petri, ambos adecuados para el crecimiento de hongos. El primero fue el medio nutritivo Sabouraud-Cloranfenicol (SC; AppliChem), con el fin de evaluar el riesgo de contaminación fúngica ambiental en los usuarios. El segundo, un medio mínimo salino (0,2% NaNO₃; 0,1% K₂HPO₄; 0,05% MgSO₄; 0,05% KCl; 0,2% CMC; 0,02% Peptona; 2,0% agar) con carboximetilcelulosa (CMC; Sigma) como única fuente de carbono, para evaluar el riesgo de las colecciones de papel. Ambos medios fueron suplementados con el antibiótico cloranfenicol, que inhibe el crecimiento bacteriano. Todas las placas se incubaron a 25 °C por cinco días, para el posterior recuento del número de colonias, expresado en UFC por metro cúbico de aire (UFC·m⁻³). El crecimiento se registró utilizando un scanner HP Scanjet G3110.

Identificación de microorganismos

Con la finalidad de identificar los principales géneros fúngicos presentes en las muestras, se escogió un representante de cada tipo diferente de colonia, considerando parámetros como textura, color y tamaño relativo de estas. Cada colonia seleccionada se aisló en una nueva placa mediante el uso de un mondadientes estéril. Estas placas se incubaron bajo las mismas condiciones ya mencionadas, y a partir de las colonias aisladas se prepararon muestras para su visualización en microscopio óptico, utilizando el método de cultivo de Riddell (1950), teñidas con azul de metileno. La identificación de los microorganismos se realizó a partir de la caracterización de sus estructuras reproductivas en un microscopio óptico, a aumentos de 100X y 400X. Las diferentes estructuras se registraron mediante fotografía digital utilizando una cámara Canon EOS

Rebel T3. Para la identificación se compararon las estructuras observadas con aquellas descritas por Piontelli (2011).

Análisis estadísticos

Para las evaluaciones se utilizó un diseño factorial completamente aleatorizado, con estructura 6 x 2 x 2 (depósito x medio de cultivo x temporada). Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y, cuando se detectaron diferencias estadísticas, las medias se separaron con la prueba de Tukey al 5%. Todos los análisis se realizaron en el software estadístico InfoStat v.2015 (InfoStatGroup, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

RESULTADOS

Condiciones ambientales en los depósitos

Los valores de T y HR registrados en la mayoría de los depósitos se presentaron en el rango de bajo riesgo de causar daños (Michalski 2000, 2010a, 2010b). Para la HR, los índices más altos no superaron el 60%, salvo en D2 donde llegaron a cerca del 70% en julio, en ambos niveles. En el caso de la T, las más altas también se registraron en D2 en noviembre, alcanzando valores por sobre los 28 °C en el nivel superior. Todos los demás depósitos registraron T no mayores a 22,9 °C en el mismo mes.

En relación con las fluctuaciones de ambos parámetros, y debido a las características de los materiales resguardados en estos recintos (Tabla 1), estas se clasificaron dentro de registros de media y baja vulnerabilidad (Michalski 2000). En la mayoría de los depósitos las variaciones máximas diarias de HR fueron inferiores al 10%, a excepción de D2 donde se presentaron los diferenciales más altos en los meses de primavera, llegando a 24,9% en octubre, pero estas fueron puntuales. Esto fue más pronunciado en el nivel superior del recinto, que es el sector que recibe en forma más directa

la influencia de las condiciones externas, por la aislación deficiente del techo. En cuanto a la T, las variaciones más altas también se registraron en el segundo nivel de D2, alcanzando a más de 5 °C en noviembre en mediciones puntuales. Todos los demás espacios estudiados tuvieron oscilaciones máximas diarias inferiores a 2 °C.

Análisis de crecimiento fúngico

Recuento de colonias

Todas las placas analizadas presentaron crecimiento. La Figura 1 muestra el crecimiento fúngico en ambos medios de cultivo, a modo de ejemplo, mientras que la Figura 2 muestra los resultados del recuento de colonias en los períodos de invierno y primavera para las placas con medio SC y CMC.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la abundancia de colonias entre ambos medios de cultivo ($p=0,073$). En cambio, respecto de su apariencia física, sí hubo distinciones entre ambos medios, siendo el desarrollo de las colonias más pronunciado en el medio SC (Figura 1).

Considerando los depósitos en conjunto, se observaron diferencias significativas en la abundancia de esporas o partículas viables entre los períodos de invierno y primavera ($p=0,0001$), siendo los niveles de contaminación más altos para esta última estación.

Analizando los datos de manera particular, se observó que en el invierno (Figura 2, columnas grises) los depósitos más contaminados fueron D2 (ambos niveles) y D3-SO, mientras que el resto no presentó diferencias significativas entre sí.



Figura 1. Colonias fúngicas crecidas en medio CMC (superior) y medio SC (inferior). Las dos placas por tipo de medio corresponden a duplicados paralelos (Fotografía: Espinosa, F. 2012. Archivo CNCR).

Fungal colonies grown in CMC medium (above) and SC medium (below). The two dishes per culture media correspond to parallel duplicates (Photograph: Espinosa, F. 2012. CNCR Archive).

Colônias de fungos cultivadas em meios CMC (superior) e SC (inferior). As duas placas correspondem a um ensaio duplicado em paralelo por meio de cultivo (Fotografia: Espinosa, F. 2012. Arquivo CNCR).

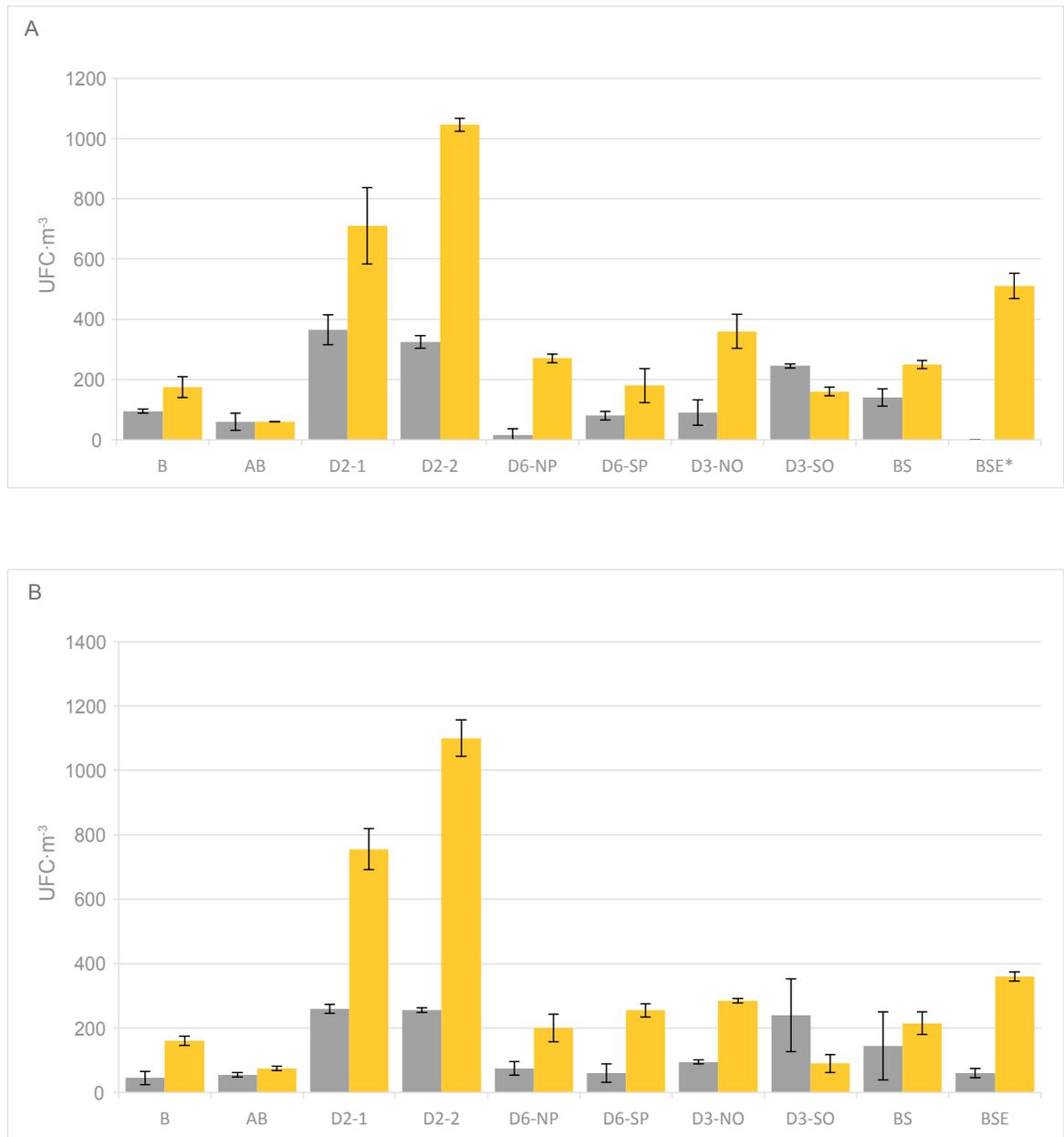


Figura 2. Recuento total de esporas viables (UFC·m⁻³) en invierno (gris) y primavera (naranja) para los diferentes depósitos. A. Medio SC; B. Medio CMC. Las barras negras corresponden a la desviación estándar de los datos. El asterisco indica que en ese depósito no se realizó el conteo de colonias debido a un crecimiento excesivo de los hongos (césped). B: Bóveda; AB: Antebóveda; D2-1: Depósito 2, primer nivel; D2-2: Depósito 2, segundo nivel; D6-NP: Depósito 6, norponiente; D6-SP: Depósito 6, surponiente; D3-NO: Depósito 3, nororienté; D3-SO: Depósito 3, surorienté; BS: Bóveda Subterránea; BSE: Bóveda de Soportes Especiales (Elaboración propia, 2016).

Count of the total viable spores (CFU·m⁻³) in winter (grey) and in spring (orange) for the different deposits. A. SC medium; B. CMC medium. The black bars correspond to the standard deviation of the data. The asterisk indicates that in that deposit the colony count was not performed because of an excessive growth of the fungi (lawn). B: Vault; AB: Pre-Vault; D2-1: Deposit 2, first level; D2-2: Deposit 2, second level; D6-NP: Deposit 6, northwest; D6-SP: Deposit 6, southwest; D3-NO: Deposit 3, northeast; D3-SO: Deposit 3, southeast; BS: Underground Vault; BSE: Special Supports Vault (Own elaboration, 2016).

Contagem total de esporas viáveis (UFC·m⁻³) no inverno (cinza) e na primavera (laranja) para os diferentes reservatórios. A. Meio SC; B. Meio CMC. As barras pretas correspondem ao desvio padrão dos resultados. O asterisco indica que nesse reservatório não se realizou a contagem total de colonias pelo crescimento excessivo de fungos (césped). B: Bóveda; AB: Antebóveda; D2-1: Reservatório 2, primer nivel; D2-2: Reservatório 2, segundo nivel; D6-NP: Reservatório 6, norponiente; D6-SP: Reservatório 6, surponiente; D3-NO: Reservatório 3, nororienté; D3-SO: Reservatório 3, surorienté; BS: Bóveda Subterránea; BSE: Bóveda de Soportes Especiales (Elaboração própria, 2016).

Por su parte, en primavera (Figura 2, columnas naranjas) los más contaminados fueron D2, seguido por BSE y D3-NO; y los menos contaminados: B, AB y D3-SO. Es importante aclarar que la ausencia de datos para BSE en el período de invierno fue producto de un crecimiento fúngico excesivo en esas placas, impidiendo la visualización y el recuento individual de las colonias.

Por último, al analizar los cambios en la carga fúngica de cada depósito, de modo individual, entre ambos períodos (Figura 2) se determinó que B, AB y BS no presentaron diferencias estadísticas significativas entre las dos épocas, mientras que el resto de los depósitos tuvo una mayor concentración de esporas fúngicas en el período primaveral. Un caso

excepcional fue D3-SO, que presentó niveles de contaminación levemente superiores en los meses de invierno.

Identificación de hongos

Una vez cuantificadas las UFC totales se realizó la identificación de los diferentes tipos de hongos presentes en las muestras mediante la caracterización morfológica de sus estructuras reproductivas (Figura 3). Así, se distinguieron cuatro géneros principales: *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Alternaria*, además de otros hongos menos representados que no pudieron ser identificados debido a la ausencia de estructuras reproductivas, y numerosas levaduras.

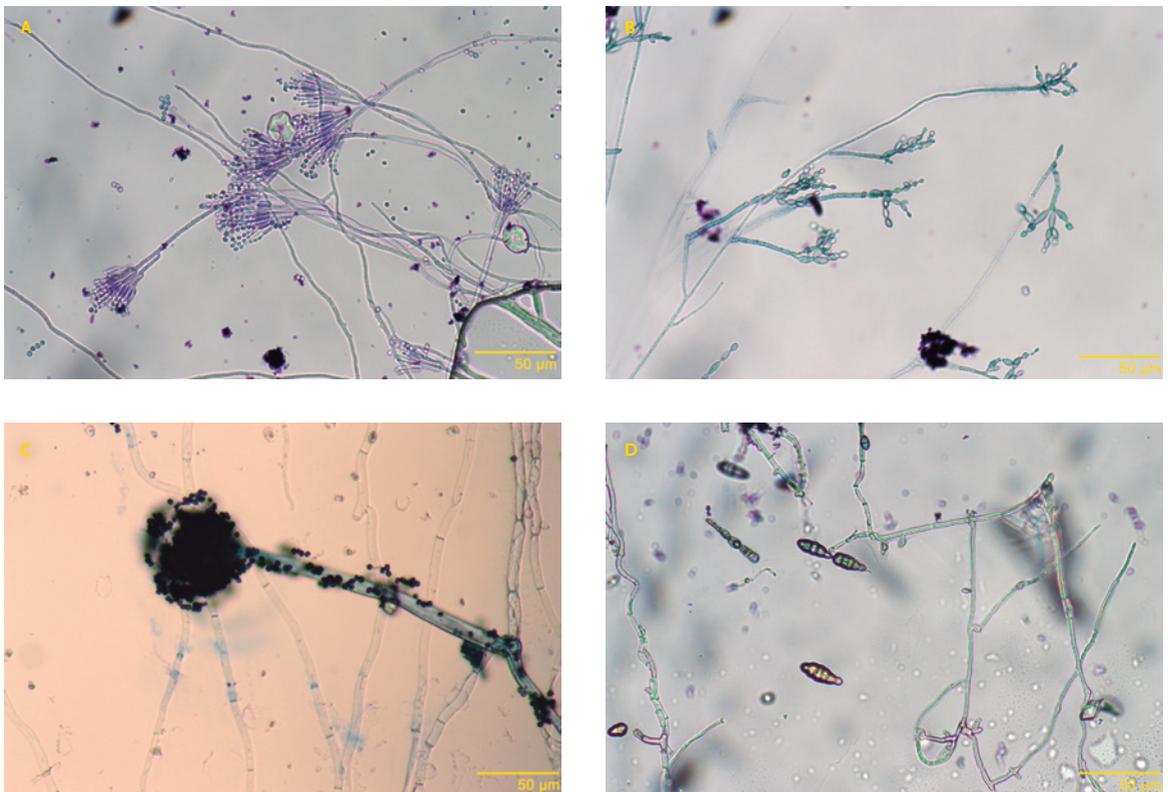


Figura 3. Microfotografías de las estructuras identificadoras de los hongos. A. *Penicillium* sp.; B. *Cladosporium* sp.; C. *Aspergillus* sp.; D. *Alternaria* sp. Las imágenes corresponden al campo visual observado a un aumento de 400X (Fotografía: Espinosa, F. 2012. Archivo CNCR).

Microphotographs of the fungal identifying structures. A. Penicillium sp.; B. Cladosporium sp.; C. Aspergillus sp.; D. Alternaria sp. The images correspond to the visual field observed at a 400X magnification (Photograph: Espinosa, F. 2012. CNCR Archive).

Microfotografías de estruturas características dos fungos. A. Penicillium sp.; B. Cladosporium sp.; C. Aspergillus sp.; D. Alternaria sp. As imagens correspondem a um campo visual com ótica de aumento de 400x (Fotografia: Espinosa, F. 2012. Arquivo CNCR).

La Figura 4 muestra la abundancia relativa de los diferentes tipos de hongos encontrados en cada depósito para los períodos de invierno y primavera. Considerando que ambos tipos de medio (SC y CMC) presentaron resultados estadísticos similares, solo

se muestran los obtenidos en las placas con medio SC.

Los resultados indican que en invierno los géneros más frecuentes fueron *Penicillium* (azul oscuro),

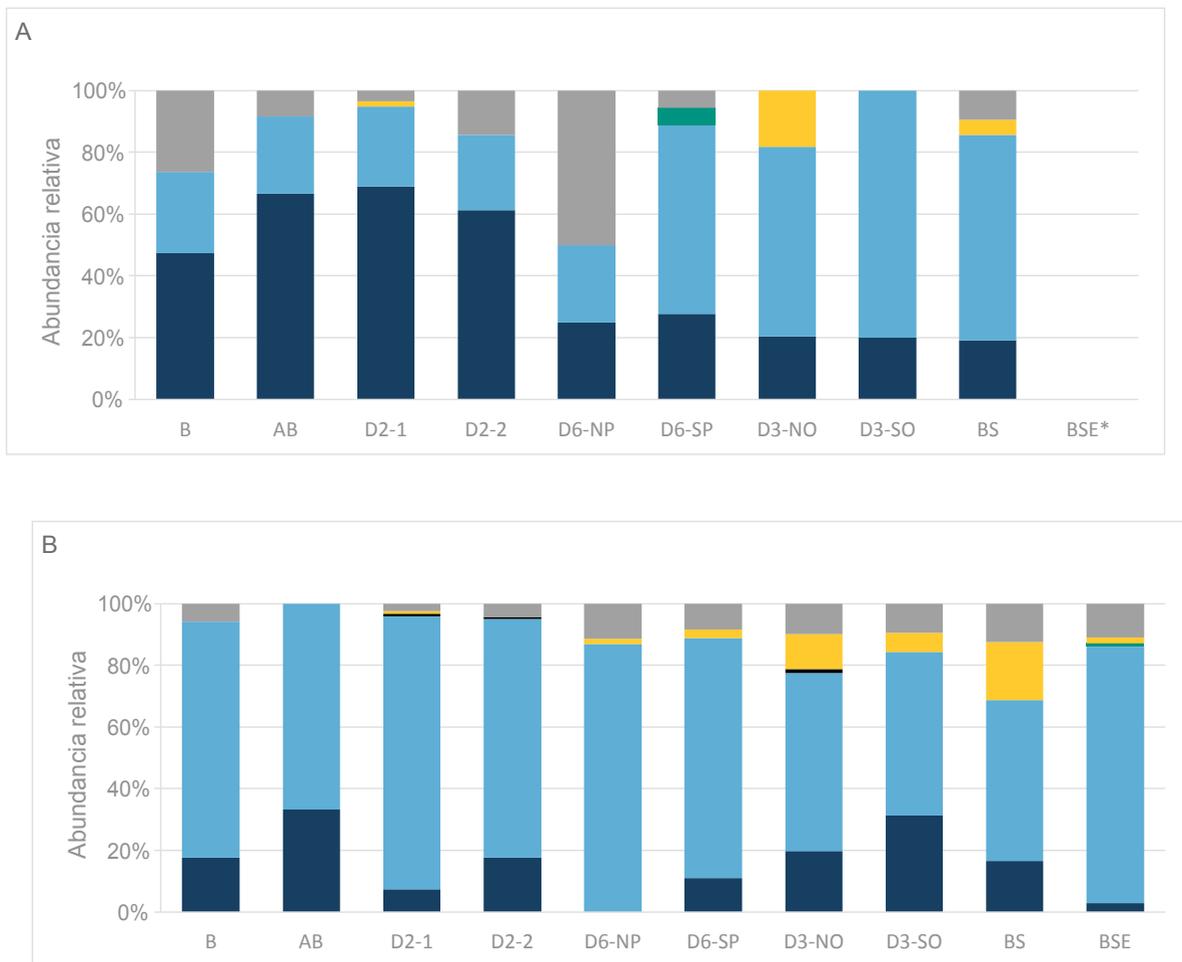


Figura 4. Abundancia relativa de los diferentes géneros de hongos identificados en invierno (A) y en primavera (B). El asterisco indica que en ese depósito no se realizó el conteo de colonias, debido a un crecimiento excesivo de los hongos (césped). Azul oscuro: *Penicillium* spp.; Celeste: *Cladosporium* spp.; Verde: *Alternaria* spp.; Negro: *Aspergillus* spp.; Naranja: Levaduras; Gris: Otros. B: Bóveda; AB: Antebóveda; D2-1: Depósito 2, primer nivel; D2-2: Depósito 2, segundo nivel; D6-NP: Depósito 6, norponiente; D6-SP: Depósito 6, surponiente; D3-NO: Depósito 3, nororientado; D3-SO: Depósito 3, surorientado; BS: Bóveda Subterránea; BSE: Bóveda de Soportes Especiales (Elaboración propia, 2016).

Relative abundance of the different fungal genera identified in Winter (A) and spring (B). The asterisk indicates that in that deposit the colony count was not performed because of an excessive growth of the fungi (lawn). Dark Blue: *Penicillium* spp.; Light Blue: *Cladosporium* spp.; Green: *Alternaria* spp.; Black: *Aspergillus* spp.; Orange: Yeasts; Grey: Others. B: Vault; AB: Pre-Vault; D2-1: Deposit 2, first level; D2-2: Deposit 2, second level; D6-NP: Deposit 6, northwest; D6-SP: Deposit 6, southwest; D3-NO: Deposit 3, northeast; D3-SO: Deposit 3, southeast; BS: Underground Vault; BSE: Special Supports Vault (Own elaboration, 2016).

Abundância relativa dos diferentes gêneros de fungos identificados em inverno (A) e em primavera (B). Azul Escuro: *Penicillium* spp.; Azul Claro: *Cladosporium* spp.; Verde: *Alternaria* spp.; Preto: *Aspergillus* spp.; Laranja: Leveduras. Gris: Outros. B: Bóveda; AB: Antebóveda; D2-1: Reservatório 2, primeiro nível; D2-2: Reservatório 2, segundo nível; D6-NP: Reservatório 6, norponiente; D6-SP: Reservatório 6, surponiente; D3-NO: Reservatório 3, nororientado; D3-SO: Reservatório 3, surorientado; BS: Bóveda Subterránea; BSE: Bóveda de Soportes Especiales (Elaboração própria, 2016).

seguido por *Cladosporium* (celeste), registrándose además la presencia, en baja proporción, del género *Alternaria* (verde) y de numerosas levaduras y hongos sin identificar. En primavera, en cambio, el género más abundante fue *Cladosporium* y luego *Penicillium*. Esta vez el género *Alternaria* solo se encontró en BSE en muy baja proporción. Se detectó también la presencia del género *Aspergillus* (negro) en D2 y en D3-NO.

Nivel de contaminación de los espacios muestreados

Con la finalidad de determinar si los valores registrados en los distintos depósitos corresponden a niveles peligrosos de contaminación fúngica, estos se compararon con estándares establecidos (CEC 1993). El nivel de contaminación se definió según la

concentración de esporas (UFC·m⁻³) en los espacios muestreados, utilizando los datos obtenidos a partir de los cultivos en medio SC (Figura 2A), ya que, como se mencionó anteriormente, no hubo diferencias significativas entre ambos medios.

La Tabla 2 muestra la clasificación de los depósitos en diferentes niveles (Muy bajo; Bajo; Medio; Alto; Muy alto), tomando como guía los estándares sanitarios dispuestos por la Comisión de las Comunidades Europeas (CEC 1993) para ambientes no industriales. Se observa que en invierno la concentración de esporas varió desde niveles muy bajos, en D6-NP, hasta niveles medios en D2, D3 y BS. En primavera, en cambio, la contaminación aumentó en casi todos los depósitos, llegando a niveles clasificados como altos en D2 y BSE. En ningún caso se alcanzó el nivel máximo de contaminación (Muy alto).

Tabla 2. Evaluación de la calidad del aire en los diferentes depósitos de acuerdo con los estándares sanitarios europeos para espacios no industriales.

Evaluation of the air quality in the different deposits according to the European sanitary standards for non-industrial premises.

Avaliação da qualidade do ar nos diferentes reservatórios de acordo as normas sanitárias europeias para espaços não industriais.

Depósito	Grado de contaminación (1)	
	Invierno	Primavera
B	Bajo	Medio
AB	Bajo	Bajo
D2-PN	Medio	Alto
D2-SN	Medio	Alto
D6-NP	Muy bajo	Medio
D6-SP	Bajo	Medio
D3-NO	Medio	Medio
D3-SO	Medio	Medio
BS	Medio	Medio
BSE	ND (2)	Alto

(1) Rango de valores (UFC·m⁻³): Muy bajo = <25; Bajo = 25-100; Medio = 100-500; Alto = 500-2.000; Muy alto = >2.000 (CEC 1993).
 (2) ND: Datos no determinados.

DISCUSIÓN

Los principales parámetros ambientales que se determinan con regularidad en archivos, bibliotecas y museos de Chile son la T y HR, pues su control permite prevenir y reducir los riesgos de daño físico, químico y biológico de los materiales, que se podrían generar si estos no se encuentran dentro de condiciones adecuadas para la conservación, reduciendo con ello sus expectativas de vida (Michalski 2000, 2010a, 2010b).

En el presente estudio se propuso agregar la medición de la carga fúngica ambiental a los parámetros habituales de registro, debido al riesgo de deterioro microbiológico que podrían sufrir las colecciones si esta carga fuese alta, así como también al posible riesgo que ello conlleva para la salud de los trabajadores y usuarios de dichas colecciones. Con este fin, la contaminación fúngica del aire se evaluó en diferentes espacios, utilizando una estrategia de muestreo por impacto dependiente del cultivo, la que entrega información acerca de la concentración de partículas viables (cultivables) presentes en el ambiente (Pasquarella et al. 2011, 2013).

Si bien los valores de HR y T a lo largo del estudio se mantuvieron dentro de los rangos de bajo riesgo, en el caso de D2 se observaron aumentos relevantes de humedad durante el período de primavera, debido posiblemente a la influencia directa del ambiente externo en un recinto que presenta problemas de aislación. Más aún, este depósito fue uno de los que presentó mayores niveles de contaminación fúngica, durante ambos períodos de muestreo. Estos resultados concuerdan con la evaluación cualitativa de este espacio, realizada al comienzo del estudio (Tabla 1), donde D2 se clasificó como zona crítica debido a la deficiente aislación del techo, lo que supone un mayor ingreso y acumulación de partículas de polvo; siendo estas uno de los principales vehículos de microorganismos y

alérgenos en ambientes interiores, almacenando altas concentraciones de esporas fúngicas (Karakainen et al. 2009, Pasquarella et al. 2013). Esta situación se encuentra agravada por la ubicación céntrica que tiene el depósito en la ciudad que, con un alto tráfico vehicular, contribuye a la generación de un escenario propicio para la dispersión y asentamiento de microorganismos.

Estos resultados demuestran la importancia de una aislación adecuada de los depósitos, ya que al estar en contacto directo con el ambiente externo no es posible controlar los parámetros físicos como T y HR, así como tampoco el ingreso de polvo y material biológico, aumentando con ello la posibilidad de que estos organismos se desarrollen producto de valores altos de HR.

Con la finalidad de determinar si los hongos presentes en los diferentes depósitos eran de forma potencial nocivos para las colecciones, para las personas o para ambos, se utilizaron dos medios de cultivo. Por una parte, el medio SC, que al ser rico en nutrientes permite el desarrollo de una alta diversidad de estos organismos heterotróficos. Por esta razón, aquellos capaces de crecer en este medio serían un reflejo de la mayoría de los especímenes presentes en el aire de los espacios en estudio. Esta información permitiría reconocer a los eventuales organismos que podrían causar daños a las personas. Por lo demás, el medio CMC, al ser un medio salino pobre en nutrientes orgánicos, cuya única fuente de carbono corresponde a la carboximetilcelulosa⁵, posibilitaría distinguir a aquellos hongos capaces de consumir celulosa, reflejando con ello el peligro de biodegradación para las colecciones de papel.

Considerando que no se observaron diferencias significativas en la carga fúngica total (Prueba de ANDEVA; Figura 2) ni tampoco en la abundancia relativa de cada uno de los diferentes organismos, entre los distintos medios (Figura 4), se concluye que los hongos detectados en los depósitos son capaces de crecer utilizando ambas fuentes de carbono (orgánicas e inorgánicas), siendo entonces

⁵ Derivado de la celulosa soluble en agua.

potencialmente nocivos para la salud de las personas y para las colecciones.

Las variaciones entre estaciones (Figura 2) concuerdan con otros estudios que han dado cuenta de amplias diferencias estacionales en el crecimiento de hongos (Medrela-Kuder 2003, Adams et al. 2013, Taylor et al. 2014). Si bien ninguno de los depósitos alcanzó el nivel máximo de contaminación (Muy alto = $>2.000 \text{ UFC}\cdot\text{m}^3$), se ha descrito que los mayores niveles de contaminación ocurren en los períodos de verano y otoño; por tanto, es posible que los valores registrados en este estudio aumenten durante las estaciones antes mencionadas (Adams et al. 2013, Taylor et al. 2014).

Otro de los depósitos clasificados como zona crítica fue D6 (Tabla 1), debido a su historial de eventos de filtración de agua lluvia y proliferación de hongos en años anteriores al estudio. Sin embargo, los resultados mostraron que sus niveles de contaminación fúngica se encontraron dentro de los más bajos, en especial en invierno, donde los niveles se clasificaron en Muy bajos (Figura 2; Tabla 2). Esto se podría explicar debido a la extensa superficie de este depósito (500 m^2), cuyas puertas permanecían siempre abiertas favoreciendo la ventilación del espacio. Además, luego de las inundaciones sufridas en 2010 y 2011, se realizó un trabajo de conservación que implicó la limpieza y desinfección de los ejemplares con crecimiento fúngico.

En el caso de BS, también considerada como zona crítica (Tabla 1), se registraron niveles de contaminación intermedios y no mostró diferencias significativas entre invierno y primavera (Prueba de ANDEVA; Figura 2; Tabla 2), como sería esperable. Una posible explicación se encontraría en la baja influencia del ambiente externo sobre esta bóveda, ya que se ubica en el nivel subterráneo, sin conexión directa con el exterior, que es la principal fuente de hongos al interior de los depósitos, aunque no la única (Adams et al. 2013). Una explicación similar podría inferirse para el caso B y AB del AHN, las que tampoco presentaron variaciones estacionales

y se encontraron dentro de los niveles más bajos de contaminación (Figura 2; Tabla 2). Hay que considerar, además, que estos espacios cuentan con un sistema de extracción y recambio de aire, cuya fuente está ubicada también en la parte subterránea del edificio, por tanto, este no proviene de manera directa desde el exterior.

Por el contrario, BSE, que se pensaba podría corresponder a una zona “ideal” (Tabla 1) debido a su regulación de las condiciones ambientales, resultó ser uno de los espacios con mayores recuentos de $\text{UFC}\cdot\text{m}^3$ en primavera (Figura 2; Tabla 2). Es posible que estos altos niveles de contaminación se deban a que el sistema de aire acondicionado allí utilizado era un equipo portátil de tamaño pequeño, poco adecuado para las dimensiones de la bóveda. A ello se suma que este se encontraba conectado de modo directo con el exterior. Además, el recinto en cuestión no presentaba otras vías de ventilación, y por razones de seguridad permanecía herméticamente cerrado.

Todas las condiciones antes descritas favorecen el ingreso y desarrollo de microorganismos. De hecho, se sabe que la ventilación es un parámetro relevante que debe ser considerado dentro de los planes de conservación, ya que evita el aumento de T y HR, permite disminuir la sedimentación de partículas biológicas en las superficies y reduce además la concentración de estos organismos en el aire. Esto, sumado a otras acciones simples como una mayor frecuencia en el aseo de los espacios, pueden llegar a ser estrategias muy eficientes de prevención en ambientes cerrados. Incluso más que la instalación de equipos de regulación de T y HR, los que deben ser adecuados al tamaño de los recintos y controlados de forma periódica, de lo contrario, su uso no resulta apropiado para fines de conservación, pudiendo aún ser fuente de hongos y bacterias que utilizan para crecer y desarrollarse la materia orgánica que se acumula en su interior (CEC 1993, Pasquarella et al. 2013).

Respecto de la identidad de los hongos cultivados, la Figura 4 indica que los géneros que dieron cuenta

de la mayor abundancia relativa fueron *Cladosporium* y *Penicillium*. Además se detectaron los géneros *Aspergillus* y *Alternaria*, aunque en menor proporción. Estos resultados son consistentes con la literatura. Por ejemplo, Mandrioli et al. (2003 [1998]) señalan la presencia de especies pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Alternaria* y *Penicillium* en archivos y bibliotecas, mientras que Borrego et al. (2010) indican que tanto *Cladosporium*, *Aspergillus* como *Penicillium* son de forma habitual encontrados en ambientes de interior como casas, bibliotecas, archivos y museos.

Considerando el posible efecto de los géneros detectados en el biodeterioro de las colecciones, se han reportado diversas especies pertenecientes a *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Aspergillus*, como las de mayor frecuencia en la colonización de los soportes de papel (Lynd et al. 2002, Giraldo-Castrillón et al. 2009, Sterflinger y Pinzari 2012). Por lo demás, en cuanto al riesgo para la salud, todos los géneros identificados en este estudio tienen especies que han sido definidas como causantes de diversas afecciones, en especial respiratorias. Algunas especies de *Alternaria* y *Cladosporium*, por ejemplo, pueden causar reacciones de hipersensibilidad inmediatas como alergias, rinitis y asma; mientras que otras especies patógenas pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* podrían ocasionar reacciones tardías más severas, como alveolitis y neumonitis (De la Rosa et al. 2002, Reijula et al. 2003, Bush et al. 2006, Sharpe et al. 2015).

En virtud de lo señalado en el presente acápite se destaca la importancia de incluir el monitoreo de la carga fúngica en la evaluación de las condiciones ambientales de espacios cerrados. Si bien la presencia de esporas viables no indica que sea inevitable su germinación, se sabe que la HR y la T se encuentran dentro de los parámetros ambientales que influyen en mayor medida en la concentración y tipo de hongos presentes en el aire (De la Rosa et al. 2002). Por tanto, el desarrollo de hongos en los materiales almacenados es un indicador de condiciones de HR y T poco adecuadas para su preservación (Mahmood y Mari 2013). En consecuencia, la importancia de monitorear estos parámetros no radica solo en la prevención de daños físicos y químicos, sino que

está relacionada de modo directo con el crecimiento y proliferación de partículas biológicas, lo que hace aún más indispensable su control y mantención dentro de rangos adecuados.

En cuanto a la metodología utilizada es necesario resaltar que, si bien esta permitió detectar espacios con distinto nivel de contaminación y de riesgo potencial para colecciones y personas, no fue posible alcanzar una mayor especificidad. En tal sentido, trabajos basados en técnicas moleculares de investigación de la microbiota fúngica responsable del biodeterioro en el papel, muestran que los resultados obtenidos con aproximaciones dependientes del cultivo solo cubren cerca del 5% del total de hongos que en realidad se encuentran presentes en ambientes cerrados (Michaelsen et al. 2009, Pangallo et al. 2009). Por tanto, se sugiere complementar el uso de metodologías convencionales, como la microscopía óptica y las pruebas fisiológicas, con la utilización de estas herramientas moleculares en estudios futuros, con el fin de no subestimar los datos y poder identificar los hongos a nivel de especie, para valorar de manera más certera su efecto en la salud de colecciones y personas.

CONCLUSIONES

1. Una alta concentración de esporas fúngicas en el aire de archivos y depósitos, junto con condiciones de T y HR no adecuadas, aumentan el riesgo de desarrollo de hongos en los materiales. Por ello, agregar la medición de carga fúngica a los parámetros que son registrados de modo habitual en estos espacios, permitiría su detección temprana, reduciendo así su efecto en el deterioro biológico de las colecciones y en la salud de los trabajadores y usuarios.
2. Los estudios han demostrado que una circulación de aire adecuada, junto con prácticas de limpieza regulares de los espacios, favorecerían un ambiente con menores niveles de contaminación fúngica, así como se observó en D6, que presentó los valores más bajos de esta investigación.

Además, una mejor aislación de los depósitos podría disminuir la influencia del ambiente exterior al interior de estos recintos, reduciendo con ello no solo los niveles de contaminación fúngica, sino que también sus variaciones estacionales.

3. Los hongos detectados en los depósitos fueron capaces de desarrollarse en ambos medios de cultivo, SC y CMC, lo que sugiere que podrían crecer utilizando fuentes de carbono orgánicas, con posible daño a las personas, pero también en medios inorgánicos como la celulosa, afectando a las colecciones de papel.
4. Considerando que dentro de los géneros fúngicos detectados existen especies potencialmente patógenas para los humanos, es necesario evitar el aumento de los niveles de contaminación por sobre los rangos establecidos como aceptables para espacios interiores (niveles medios, bajos y muy bajos, CEC 1993).
5. Si bien la inclusión de la carga fúngica en el aire de los depósitos no constituye una novedad metodológica, es de vital importancia su detección temprana, más aún cuando en la mayoría de las instituciones en Chile este tipo de estudio no es

una práctica común. En tal sentido la presente investigación cobra una especial relevancia, al establecer un precedente que podría estimular la incorporación de este parámetro como una variable regular de monitoreo en los depósitos y archivos del país.

6. Por último, el impacto generado por esta investigación interdisciplinaria permitió, mediante la entrega de datos, apoyar la gestión y toma de decisiones, lo que resultó en la reparación del techo dañado del Depósito 2.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo de Apoyo a la Investigación Patrimonial (FAIP) de la Dirección de Bibliotecas, Archivos y Museos (DIBAM) por financiar esta investigación. Al Centro Nacional de Conservación y Restauración (CNCR) y al Archivo Nacional de Chile por permitir la realización de este trabajo en sus dependencias. Reconocemos además la colaboración de Gina Fuentes y Loreto Contador en la toma de muestras y en los análisis estadísticos, respectivamente.

REFERENCIAS CITADAS

ADAMS, R., MILETTO, M., TAYLOR, J. y BRUNS, T. 2013. Dispersal in microbes: fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances. *The ISME Journal*, 7: 1262-1273. DOI: 10.1038/ismej.2013.28.

APETREI, I., DRAGANESCU, G. y POPESCU, I. 2009. Possible cause of allergy for the librarians: books manipulation and ventilation as sources of fungus spores spreading. *Aerobiologia*, 25(3): 159-166. DOI: 10.1007/s10453-009-9121-y.

BORREGO, S., GUIAMET, P., GÓMEZ DE SARAVIA, S., BATISTINI, P., GARCÍA, M., LAVÍN, P. y

PERDOMO, I. 2010. The quality of air at archives and biodeterioration of photographs. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(2): 139-145. DOI: 10.1016/j.ibiod.2009.12.005.

BUSH, R., PORTNOY, J., SAXON, A., TERR, A. y WOOD, R. 2006. The medical effects of mold exposure. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117(2): 326-333. Disponible en: <https://www.aaaai.org/Aaaai/media/MediaLibrary/PDF%20Documents/Practice%20and%20Parameters/Mold-2006.pdf>

- CAMUFFO, D. 2014 [1998]. *Microclimate for Cultural Heritage* (2ª ed.). Amsterdam, Holanda: Elsevier.
- CAPPITELLI, F., FERMO, P., VECCHI, R., PIAZZALUNGA, A., VALLI, G., ZANARDINI, E. y SORLINI, C. 2009. Chemical-physical and microbiological measurements for indoor air quality assessment at the Ca'Granda Historical Archive, Milan (Italy). *Water, Air & Soil Pollution*, 201(1): 109-120. DOI: 10.1007/s11270-008-9931-5.
- CHOI, S. 2007. Foxing on paper: a literature review. *Journal of the American Institute for Conservation*, 46(2): 137-152. DOI: 10.1179/019713607806112378.
- COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES (CEC). 1993. *Report No. 12: Biological Particles in Indoor Environment* (EUR 14988 EN). European collaborative action "Indoor Air Quality and its Impact on Man" (formerly COST Project 613). Luxemburgo: CEC. Disponible en: <https://bookshop.europa.eu/en/european-collaborative-action-indoor-air-quality-and-its-impact-on-man-formerly-cost-project-613--pbCLNA14988/>
- DE LA ROSA, M.C., MOSSO, M.A. y ULLÁN, C. 2002. El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio Medioambiental*, 5: 375-402. Disponible en: <http://revistas.ucm.es/index.php/OBMD/article/view/22909>
- FLORIAN, M. 2002. *Fungal Facts. Solving Fungal Problems in Heritage Collections*. Londres, Reino Unido: Archetype.
- GALLO, F., O'LEARY, S. y QUAIX, A. 1985. *Biological Factors in Deterioration of Paper*. Serie Technical Notes. Roma, Italia: ICCROM.
- GIRALDO-CASTRILLÓN, M., TORRES-GONZÁLES, C. y DÍAZ-ORTIZ, J. 2009. Aislamiento de hongos celulolíticos causantes del biodeterioro de la Biblioteca Central de la Universidad del Valle (Cali-Colombia). *Revista Mexicana de Micología*, 29: 9-14. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802009000100003
- HIRST J.M. 1952. An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology*, 39(2): 257-265. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1952.tb00904.x.
- HUECK, H. 1965. The biodeterioration of materials as part of hylobiology. *Material und Organismen*, 1(1): 5-34.
- ICCROM. 2009. *Manual de gestión de riesgo de colecciones*. Recuperado de: <http://unesdoc.unesco.org/images/0018/001862/186240s.pdf> [15 enero 2016].
- KAARAKAINEN, P., RINTALA, H., VEPSALAINEN, A., HYVARINENE, A., NEVALAINEN, A. y MEKLIN, T. 2009. Microbial content of house dust samples determined with qPCR. *Science of the Total Environment*, 407(16): 4673-4680. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2009.04.046.
- KALWASINSKA, A., BURKOWSKA, A. y WILK, I. 2012. Microbial air contamination in indoor environment of a university library. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 19(1): 25-29. Disponible en: <http://agro.icm.edu.pl/agro/element/bwmeta1.element.agro-c9c57b9d-bf92-4d98-a8e3-48215f964a3e>
- LAZARIDIS, M., KATSIVELA, E., KOPANAKIS, I., RAISI, L. y PANAGIARIS, G. 2015. Indoor/outdoor particulate matter concentrations and microbial load in cultural heritage collections. *Heritage Science*, 3: 1-13. DOI: 10.1186/s40494-015-0063-0.
- LYND, L., WEIMER, P., VAN ZYL, W. y PRETORIUS, I. 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(3): 506-577. DOI: 10.1128/MMBR.66.3.506-577.2002.
- MAHMOOD, Z.U. y MARI, H.M. 2013. Deterioration of library resources and its causes: theoretical review. *International Journal of Basic and Applied Science*, 1(4): 773-778. Disponible en: [http://insikapub.com/Vol-01/No-04/071JBAS\(1\)\(4\).pdf](http://insikapub.com/Vol-01/No-04/071JBAS(1)(4).pdf)
- MANDRIOLI, P., CANEVA, G. y SABBIONI, C. (eds.). 2003 [1998]. *Cultural Heritage and Aerobiology. Methods and Measurement Techniques for Biodeterioration Monitoring* (F. Sofri, Trad.). Dordrecht, Holanda: Kluwer Academic Publishers.
- MEDRELA-KUDER, E. 2003. Seasonal variations in the occurrence of culturable airborne fungi in outdoor and indoor air in Craców. *International*

- Biodeterioration & Biodegradation*, 52(4): 203-205. DOI: 10.1016/S0964-8305(02)00167-1.
- MICHAELSEN, A., PIÑAR, G., MONTANARI, M. y PINZARI, F. 2009. Biodeterioration and restoration of a 16th-century book using a combination of conventional and molecular techniques: a case-study. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63(2): 161-168. DOI: 10.1016/j.ibiod.2008.08.007.
- MICHALSKI, S. 2000. *Guidelines for Humidity and Temperature in Canadian Archives*. Technical Bulletin No. 23. Ottawa, Canadá: Canadian Conservation Institute. Recuperado de: <http://publications.gc.ca/site/eng/9.810471/publication.html> [07 marzo 2017].
- MICHALSKI, S. 2010a. *Temperatura incorrecta*. Canadian Conservation Institute (ediciones en inglés y francés), ICCROM (edición en español). Recuperado de: http://www.cncr.cl/611/articles-56474_recurso_9.pdf [07 marzo 2017].
- MICHALSKI, S. 2010b. *Humedad relativa incorrecta*. Canadian Conservation Institute (ediciones en inglés y francés), ICCROM (edición en español). Recuperado de: http://www.cncr.cl/611/articles-56474_recurso_10.pdf [07 marzo 2017].
- PANGALLO, D., CHOVANOVA, K., SIMONOVICOVA, A. y FERIANC, P. 2009. Investigation of microbial community isolated from indoor artworks and their environment: identification, biodegradative abilities, and DNA typing. *Canadian Journal of Microbiology*, 55(3): 277-287. DOI: 10.1139/w08-136.
- PASQUARELLA, C., SANSEBASTIANO G., SACCANI, E., UGOLOTTI, M., MARIOTTI, F., BOCCUNI, M., SIGNORELLI, C. et al. 2011. Proposal for an integrated approach to microbial environmental monitoring in cultural heritage: experience at the Correggio exhibition in Parma. *Aerobiología*, 27(3): 203-211. DOI: 10.1007/s10453-010-9189-4.
- PASQUARELLA, C., PASQUARIELLO, G., BALOCCO, C., SACCANI, E., UGOLOTTI, M., MAGGI, O. y ALBERTINI, R. 2013. An integrated approach to the preventive conservation of cultural heritage: indoor biological environmental monitoring. *Actas Built Heritage 2013: Monitoring Conservation Management*, pp. 1149-1155. International Institute for Conservation of Historic and Artistic Works, Milán, Italia. Disponible en: http://www.bh2013.polimi.it/papers/bh2013_paper_246.pdf
- PIONTELLI, E. 2011. *Manual de microhongos filamentosos comunes I. Claves, descripciones, imágenes y literatura*. Viña del Mar, Chile: [s.e.].
- REIJULA, K., LEINO, M., MUSSALO-RAUHAMAA, H., NIKULIN, M., ALENIUS, H., MIKKOLA, J., ELG, P. et al. 2003. IgE-mediated allergy to fungal allergens in Finland with special reference to *Alternaria alternata* and *Cladosporium herbarum*. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 91(3): 280-287. DOI: 10.1016/S1081-1206(10)63531-4.
- RIDDELL, R. 1950. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia*, 42(2): 265-270. DOI: 10.2307/3755439.
- SHARPE, R.A., BEARMAN, N., THORNTON, C.R., HUSK, K. y OSBORNE, N.J. 2015. Indoor fungal diversity and asthma: a meta-analysis and systematic review of risk factors. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 135(1): 110-122. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.07.002.
- STERFLINGER, K. y PINZARI, F. 2012. The revenge of time: fungal deterioration of cultural heritage with particular reference to books, paper and parchment. *Environmental Microbiology*, 14(3): 559-566. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02584.x.
- STERFLINGER, K. y PIÑAR, G. 2013. Microbial deterioration of cultural heritage and works of art-tilting at windmills? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(22): 9637-9646. DOI: 10.1007/s00253-013-5283-1.
- STRANG, T. y KIGAWA, R. 2009. Combatiendo las plagas del patrimonio cultural. Canadian Conservation Institute (ediciones en inglés y francés), ICCROM (edición en español). Recuperado de: http://www.cncr.cl/611/articles-56474_recurso_6.pdf [07 marzo 2017].

TAYLOR, M., GASKIN, S., BENTHAM, R. y PISANIELLO, D. 2014. Airborne fungal profiles in office buildings in metropolitan Adelaide, South Australia: background levels, diversity and seasonal variation. *Indoor and Built Environment*, 23(7): 1002-1011. DOI: 10.1177/1420326X13499172.

ZOTTI, M., FERRONI, A. y CALVINI, P. 2008. Microfungal biodeterioration of historic paper: preliminary FTIR and microbiological analyses. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62(2): 186-194. DOI: 10.1016/j.ibiod.2008.01.005.