
EL GENERO *Aspergillus* EN LA ATMOSFERA DE LA HABANA (CUBA)

(The Aspergillus genus in the atmosphere of La Habana, Cuba)

* Teresa I. Rojas; *Llanes, N.; *Benitez, M. &
Aira, M.J. y *Malagón, H.

*Departamento de Microbiología y Virología. Facultad de Biología.
Universidad de La Habana (Cuba)

**Departamento de Botánica, Facultad de Farmacia,
Universidad de Santiago (España)

*** Departamento de Agrometeorología, Instituto de Meteorología (Cuba)

Palabras clave: Esporas, atmósfera, *Aspergillus*, La Habana, Cuba.

Key words: Spores, atmosphere, *Aspergillus*, La Habana, Cuba.

RESUMEN

Se ha realizado un estudio de la contaminación fúngica ambiental en la atmósfera de la ciudad de La Habana (Cuba), durante el período de lluvias de los años 2001 y 2002, utilizando un método volumétrico viable, que ha permitido conocer la concentración de unidades formadoras de colonias (ufc/m³) totales y caracterizar los géneros y especies más abundantes, en especial del género *Aspergillus*. Durante el año 2001 las concentraciones más elevadas de hongos se obtuvieron en agosto y septiembre y las más bajas en julio, mientras que en el año 2002 destacan los niveles de septiembre y octubre frente a los escasos niveles del mes de agosto. Al analizar la densidad relativa de los géneros identificados se observa que *Aspergillus* es el género más abundante en la atmósfera seguido de *Penicillium* y *Cladosporium*. Las especies más abundantes en el año 2001 y relativamente constantes en el tiempo fueron *A. japonicus*, *A. niger* y *A. flavus*, mientras en el año 2002, los más abundantes fueron: *A. japonicus*, *A. fumigatus* y *A. niger*, siendo *A. niger* el único constante en el tiempo.

INTRODUCCION

De todos los tipos de microorganismos presentes en la atmósfera, los hongos representan el grupo más numeroso por su gran abundancia en los diferentes hábitat, especialmente el suelo. El pequeño tamaño de sus elementos de propagación y su fácil dispersión ambiental,

ABSTRACT

A study on environmental fungal contamination in the atmosphere of the City of La Habana (Cuba), during the rainy period in 2001 and 2002 was carried out. A viable volumetric method was used, making it possible to ascertain the concentration of units comprising total colonies (ufc/m³), and to characterise the most abundant genera and species, especially *Aspergillus*. Throughout 2001, the highest concentrations of fungi were collected in August and September, and the lowest in July; while in 2002, the highest levels were in September and October, compared to the minimal levels for the month of August. On analysing the relative density of the genera identified, it was found that the most abundant genus in the atmosphere was *Aspergillus*, followed by *Penicillium* and *Cladosporium*. The most abundant species and relatively constant over time in 2001 were *A. japonicus*, *A. niger* and *A. flavus* while in 2002 *A. japonicus*, *A. fumigatus* and *A. niger*; this specie was the only constant in time.

favorecen la presencia de altos niveles de sus esporas en la atmósfera (Rojas & Martínez, 2000).

Las esporas fúngicas alcanzan concentraciones muy significativas en determinadas épocas del año y son las responsables del elevado porcentaje de pacientes sensibilizados a estos aeroalergenos y diagnosticados con problemas de alergia (Eggleston *et al.*, 1998; Hasnain *et al.*, 1998; Mediavilla *et al.*, 1998). En la literatura se reporta que entre los hongos conocidos como alergénicos destacan los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* y *Alternaria* (Andersen, 1985) y las respuestas

Recibido el 19 de Diciembre 2006

Aceptado el 5 de Marzo 2007

alérgicas son generalmente debido más bien a la inhalación de sus esporas que al material derivado del micelio (Dopazo *et al.*, 2001). Esta inhalación puede desencadenar una variedad de síntomas respiratorios, como rinitis alérgica, asma, bronquitis crónica, etc., que dependen de la especie, de las condiciones, tanto del medio en el que se desarrolla el hongo como climáticas, y de la reactividad inmunológica del sujeto.

Son numerosos los trabajos realizados en todo el mundo sobre aeromicrobiología que pretenden conocer el espectro de esporas fúngicas de una localidad, su variación en el tiempo y como pueden influir determinadas condiciones ambientales en su liberación y dispersión (Halwagy, 1994; Mitakakis & Guest, 2001; La-Serna, Dopazo & Aira, 2002; Sabariego, 2003), sin embargo, en Cuba, el recuento e identificación de esporas en ambientes exteriores ha sido poco estudiado (Arnold *et al.*, 1987; Rojas *et al.*, 2003; Llanes *et al.*, 2004), a pesar de que las condiciones climatológicas de países tropicales, especialmente alta humedad y temperatura, son idóneas para el desarrollo de una gran variedad de microorganismos específicamente de hongos. De ahí la importancia de establecer una metodología para este tipo de estudio y demostrar la presencia de estos microorganismos en nuestro medio ambiente.

Este trabajo tiene como objetivos, realizar el monitoreo del aire exterior de la Ciudad de La Habana con el fin de determinar la carga viable fúngica (ufc.m⁻³ de aire) diurna y estacional en la atmósfera durante el período de lluvia de los años 2001 y 2002, aislar, caracterizar e identificar los géneros presentes en el aire, en especial las especies del género *Aspergillus*, relacionando la carga viable y tipo de spora con los parámetros climatológicos (temperatura, humedad relativa, velocidad del viento).

MATERIALES Y METODOS

El muestreo se realizó en la azotea de la Facultad de Biología de la Universidad, situada a una altura de 35 metros del suelo, con un biocolector volumétrico viable (Aeroscopio Chirana), incorporando en la parte superior del mismo una placa con agar Sabouraud +7.5% de NaCl a pH 5 (Rojas y Martínez, 2000). Se siguió un diseño diagonal en tres puntos de la azotea con una réplica de tres placas por punto y cada muestreo tuvo una duración de 1 minuto.

Se realizaron 12 muestreos con frecuencia mensual, entre mayo y octubre de los años 2001 y 2002.

Todas las placas Petri fueron incubadas en la oscuridad de forma invertida a 28°C durante 4-6 días. Transcurrido ese tiempo se realizó el recuento de las colonias emergentes en el medio de cultivo y se

determinaron las ufc/m³ de aire, teniendo en cuenta el coeficiente de cálculo según NRP201 (1987). Los integrantes del género *Aspergillus* fueron estudiados en los medios selectivos de agar malta y Czapeck siguiendo la metodología de Al-Musallam, 1980 y Klich, 2002.

Estudio intradiurno para determinar la mejor hora de muestreo. Con el fin de determinar la hora del día de mayor concentración de esporas, se realizaron tres muestreos con frecuencia horaria, desde las 8:00 hasta las 17:00, (3 placas/hora). Se obtuvieron 30 placas de cultivo por muestreo (con sus respectivas réplicas), en cada una de ellas se contabilizó el número de unidades formadoras de colonias por metro cúbico de aire, tanto las totales como las correspondientes a *Aspergillus*.

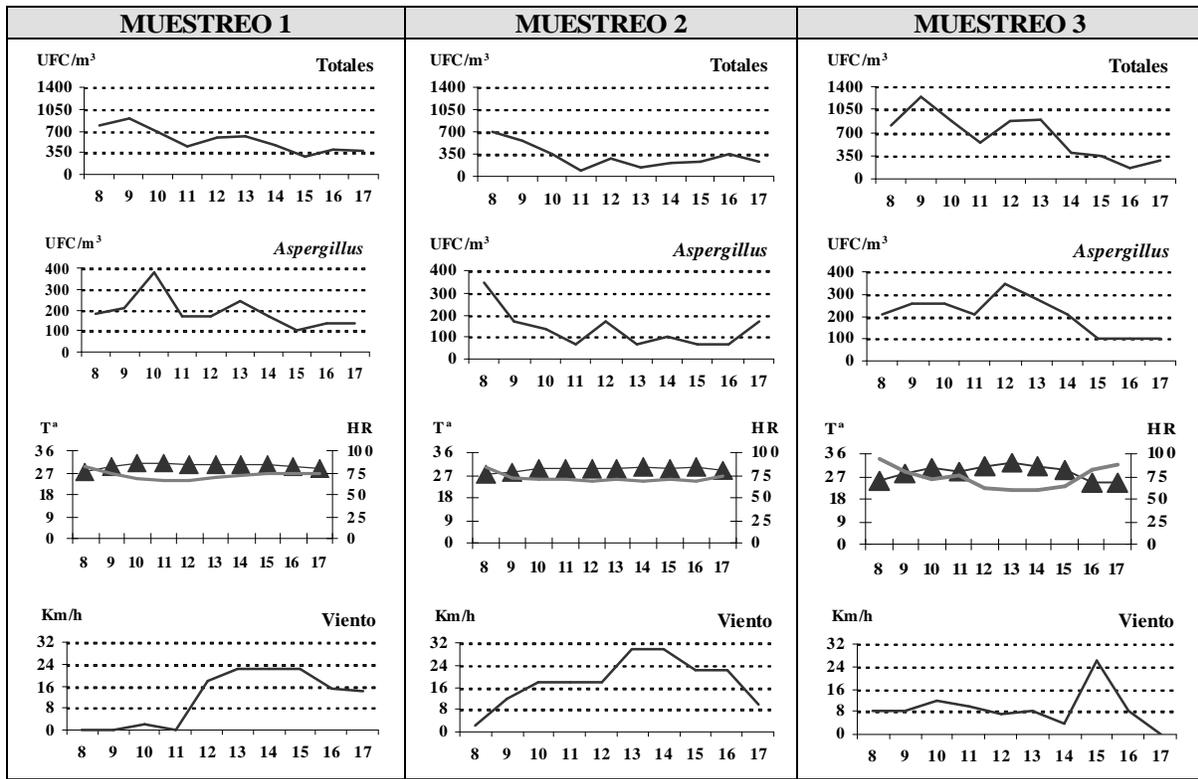
Los registros de humedad relativa (H.R.), temperaturas y velocidad del viento (VV), fueron suministrados por la estación meteorológica de Casa Blanca, perteneciente al Instituto de Meteorología. La densidad relativa de los géneros de hongos detectados se calculó según Smith (1980) y la relación existente entre el número de asilamientos de los hongos más abundantes y los parámetros meteorológicos fueron analizadas con el paquete estadístico TonyStat, aplicando el coeficiente de correlación por rangos de Spearman.

RESULTADOS Y DISCUSION

La concentración total de esporas en el aire varía a lo largo del día recogiendo las concentraciones más elevadas en horas de la mañana (9:00-10:00) y las más bajas durante la tarde. Lo mismo ocurre al analizar el comportamiento de las esporas de *Aspergillus* cuyos máximos se localizan siempre antes del mediodía, por lo que se acuerda fijar la hora de los muestreos del resto del estudio a las 11:00 AM (Figura 1). Resultados similares han sido señalados por Rosas *et al.* (1992), en la ciudad de México, donde las esporas de dicho género se concentran mayoritariamente en horas tempranas de la mañana.

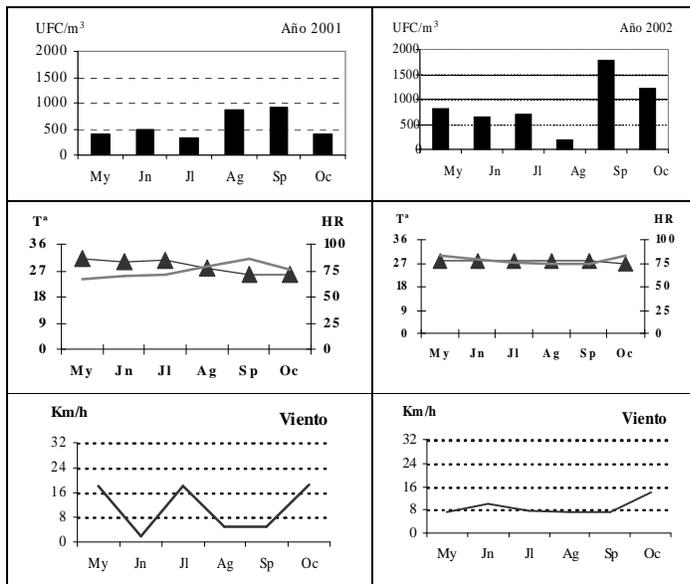
Según Lacey (1981), en la mayoría de los hongos anamórficos, los niveles de concentración de esporas en el aire se relacionan con las condiciones necesarias para su liberación (turbulencias, velocidad del viento, difusión del calor por circulación e inversiones de temperaturas). En nuestros resultados se corrobora que los picos de máxima concentración de hongos coinciden con los mínimos de velocidad del viento, no encontrándose una relación directa con la temperatura ni la humedad relativa dada la homogeneidad de sus valores.

Muestreos mensuales: En el año 2001 las concentraciones más elevadas de hongos se recogieron



— Tª % HR

Figura 1. Variación intradiurna de la concentración de UFC.m³ -totales y *Aspergillus*- y de los parámetros meteorológicos durante tres muestreos.



— Tª % HR

Figura 2.- Variación mensual de la concentración de hongos y de los parámetros meteorológicos en los dos años de muestreo

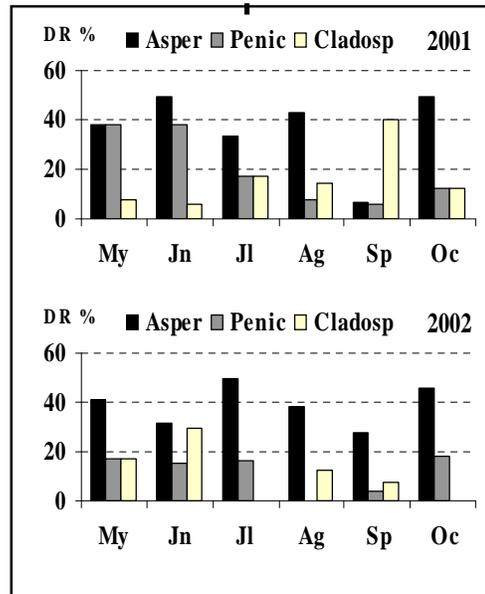


Figura 3.- Variación mensual de la concentración de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cladosporium*

Tabla 1.- Correlación entre el número de aislamientos y los parámetros meteorológicos

* p<0.05 n.s: No significativo	<i>Aspergillus</i>		<i>Penicillium</i>		<i>Cladosporium</i>	
	2001	2002	2001	2002	2001	2002
HR (%)	-0.4857 n.s	0.0000 n.s	-0.2070 n.s	0.7775 *	0.6761ns	-0.1765 ns
T ^a (°C)	0.4286 n.s	-0.1343 n.s	0.2070 n.s	-0.8232 *	-0.5071ns	0.1343 ns
Viento (Km/h)	-0.6000 n.s	-0.4414 n.s	-0.4140 n.s	0.5409 n.s	-0.3719ns	-0.3531 ns

en agosto y septiembre y las más bajas en julio, mientras que en el año 2002 destacan los niveles de septiembre y octubre frente a los escasos niveles del mes de agosto (Figura 2). Estas diferencias pueden relacionarse con las condiciones climáticas, ya que aunque la temperatura y la humedad no sufrieron grandes variaciones, los meses de septiembre y octubre de 2001 fueron más lluviosos que los del 2002 (3,2 y 6,7 mm de precipitación en 2001 frente a 0 y 3,5 mm de precipitación en 2002 respectivamente en dichos meses). Es probable que también la velocidad y la dirección del viento ejerciera una cierta influencia, ya que los meses de mayor concentración de hongos en ambos años coinciden con velocidades bajas y dirección NNE.

Al analizar la densidad relativa (DR %) de los géneros identificados en los diferentes meses se observa que *Aspergillus* es el género más abundante en la atmósfera seguido de *Penicillium* y *Cladosporium* (Figura 3).

Aspergillus está representado en los doce muestreos con una densidad relativa media entre el 37-39% en cada año; *Penicillium* aparece en once muestreos con una densidad media de 20-12% y finalmente *Cladosporium* se representa en nueve muestreos con una densidad media entre 16-11% (Tabla 2).

Si analizamos estos resultados en relación con los parámetros meteorológicos que se han considerado, se observa que los picos máximos de *Aspergillus* en ambos años coinciden con los niveles más bajos de humedad relativa (70-75%) mientras que para *Cladosporium* los niveles de humedad son superiores (90% en el 2001 y 80% en el 2002), lo cual refleja que las esporas de *Aspergillus* se dispersan más fácilmente en ambiente seco mientras las de *Cladosporium* requieren más humedad.

Aplicando el test de Spearman se concluye que el número de aislamientos de los géneros *Aspergillus* y

Tabla 2.- Frecuencia de presencia mensual de todos los géneros y otras categorías durante los años 2001 y 2002

Géneros y otras categorías fúngicas	Mayo		Junio		Julio		Agosto		Septiembre		Octubre	
	2001	2002	2001	2002	2001	2002	2001	2002	2001	2002	2001	2002
<i>Alternaria</i>		17					7					
<i>Aspergillus</i>	38	41	50	31	33	50	43	38	7	28	50	46
<i>Aureobasidium</i>				8								
<i>Chrysonilia</i>							14					9
<i>Cladosporium</i>	8	17	6	30	17		14	12	40	8	13	
<i>Curvularia</i>										4		
Dematiaceae s/c		8										9
<i>Fusarium</i>				16					27	24		
<i>Geotrichum</i>										8		
Levaduras	8				16				7			
Mitospóricos hialinos s/c						25		25		24		9
<i>Penicillium</i>	38	17	38	15	17	17	8		6	4	12	18
<i>Rhizopus</i>								25				25
<i>Syncephalastrum</i>	8		6		17							
<i>Trichoderma</i>						8	14		13			
<i>Ulocladium</i>												9

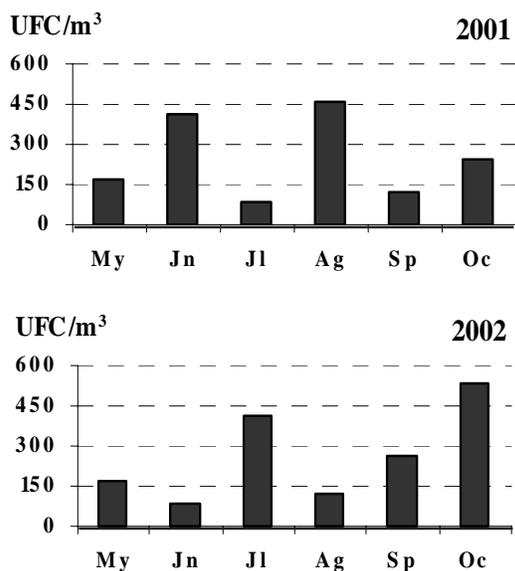


Figura 4.- Variación mensual de los integrantes del género *Aspergillus* en los dos años de muestreo

Cladosporium no muestran una correlación significativa desde el punto de vista estadístico con ninguno de los parámetros meteorológicos, sin embargo, para *Penicillium* la humedad relativa influye positivamente y la temperatura influye de forma negativa, explicando en ambos casos un elevado porcentaje de la variabilidad de los datos con un nivel de confianza del 95% (Tabla 1).

Otros grupos de hongos tales como las levaduras y hongos mitosporicos hialinos (sobre todo *Trichoderma*) muestran una leve representatividad en el año 2001, mientras que en el año 2002 son más abundantes algunos Dematiaceos como *Alternaria* y mitosporicos hialinos como *Fusarium* (Tabla 2).

Al analizar el comportamiento de *Aspergillus* en ambos años, se observa que los meses de máxima concentración son junio y agosto en 2001 y julio y octubre en 2002 (Figura 4). Los resultados promedio de ambos años señalan una concentración máxima en el mes de junio (491 ufc/m³) y de octubre (393 ufc/m³). Las especies de *Aspergillus* identificadas en ambos años han sido *A. fumigatus* Fresenius, *A. niger* van Tieghem var. *niger*, *A. flavus* Link., *A. ornatus* (Grupo) y *A. japonicus* Saito (Tabla 3). En el año 2001 la especie más abundante ha sido *A. japonicus*, con dos picos máximos en julio y agosto y con menor importancia destacaron *A. niger* var. *niger* y *A. flavus*, ambos con valores elevados en el mes de octubre. En el año 2002 los niveles más elevados correspondieron a *A. fumigatus* y *A. japonicus* con máximos en julio y octubre respectivamente. Otras especies identificadas no comunes en el período de

Tabla 3.- Variación mensual de las especies de *Aspergillus*

Año 2001							
Taxa	My	Jn	Jl	Ag	Sp	Oc	Total
<i>A. fumigatus</i>		41					41
<i>A. niger</i>	41				83	124	248
<i>A. flavus</i>		83	41	41		124	289
<i>A. ornatus</i>				41			41
<i>A. japonicus</i>	83	243	41	331			698
<i>A. ochraceus</i>		41		41			82
Otros Asperg.	41				41		82
Año 2002							
<i>A. fumigatus</i>			331				331
<i>A. niger</i>		83	41	41	41	41	247
<i>A. flavus</i>	165						165
<i>A. ornatus</i>					41		41
<i>A. japonicus</i>					138	331	469
<i>A. tamarii</i>			41			41	82
Otros Asperg.				83	41	124	248

muestreo, han sido *A. ochraceus* Wilhem concretamente en los meses de junio y agosto del año 2001 y *A. tamarii* Kita en julio y octubre del año 2002 (Tabla 3).

Como conclusiones de este estudio se puede indicar que los niveles de hongos en el aire exterior de la ciudad de La Habana fueron superiores en el año 2002 frente al 2001 con valores promedios anuales de 897 ufc/m³ frente a 575 ufc/m³. El análisis mensual también es superior en el año 2002 con la excepción del mes de agosto (869 ufc/m³ en 2001 frente a 200 ufc/m³ en 2002). En cualquier caso los niveles son suficientemente elevados para justificar la continuación de estos estudios preliminares, con el fin de obtener una mayor información sobre la calidad del aire.

Dado que el género *Aspergillus* ha sido identificado con elevados niveles en el ambiente, también será necesario continuar con el estudio de caracterización de las especies representadas dado que sus esporas tienen una reconocida implicación con diversas enfermedades respiratorias de tipo alérgico e invasivas.

REFERENCIAS

- AL_Musallam, A. (1980). Revision of the black *Aspergillus* species. Ph.D. Thesis. Utrecht, Netherlands: University of Utrecht.
- Andersen, A. (1985). Microfungi in best and their relation to house dust mites. *Grana* 24:55-59
- Arnold, G.R.W., Guerra, A., Rodríguez, N. (1987). Presencia de hongos en el aire del INIFAT. Reporte de Investigación del Instituto

Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical, N°. 43, 7 pp. INIFAT.

Dopazo, A.; Hervés, M. & Aira, M.J. (2001). Concentración de esporas de *Alternaria*, *Cladosporium* y *Fusarium* en la atmósfera de Santiago de Compostela (1996). *Botánica Complutenses* 25:83-91

Eggleston, P.A.; Rosenstreich, D.; Slavin, R. & Malveaux, F. (1998). Relationship of indoor allergen exposure to skin test sensitivity in inner city asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 102:563-570

Halwagy, M.H. (1994). Fungal airspora of Kuwait City, Kuwait, 1975-1987. *Grana* 33:340-345

Hasnain, S.M.; Al-Frayh, A.; Gad-El-Rab, M.O. & Al-Sedairy, S. (1998). Airborne *Alternaria* spores: potencial allergic sensitizers in Saudi Arabia. *Ann. Saudi. Med.* 18: 497-501

Klich, M. A. (2002). Identification of common *Aspergillus* species. CBS, Utrecht, The Netherlands.

Lacey, J. (1981). The Aerobiology of Conidial Fungi. En: *Biology of Conidial Fungi* 1:373-416. Academic Press, London.

La-Serna, I.; Dopazo, A. & Aira, M.J. (2002). Airborne fungal spores in the Campus of Anchieta (La Laguna, Tenerife/Carary Is.). *Grana* 41:119-123

Llanes, N.; Rojas, T.I.; Benítez, M.; Barrios, L.M.; Malagón, H. (2004). Hongos fitopatógenos detectados en el aire. Memorias del XI Congreso Científico del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (La Habana).

Mediavilla, A.; Angulo, J.; Infante, F.; Comtois, P.; Domínguez, E. (1998). Preliminary statistical modeling of the presence of two conidial types de *Cladosporium* in the atmosphere of Cordoba, Spain. *Aerobiología* 14:229-234

Mitakakis, T.Z. & Guest, D.I. (2001). A fungal spore calendar for the atmosphere of Melbourne, Australia, for the year 1993. *Aerobiología* 17:171-176

NRP201. (1987). Análisis higiénico sanitario y ambiental. Métodos de ensayos microbiológicos, 6pp.

Rojas, T.I.; Benítez, M.; Llanes, N.; Alba, L.; Aira, M.J.; Malagón, H. (2003). Género *Aspergillus* en la atmósfera de la Ciudad de La Habana. VII Simposio de Botánica, Ciudad de La Habana 24-28 de junio.

Rojas, T.I. & Martínez, E. (2000). Monitoreo microbiano del aire: Criterios metodológicos. Contribución a la educación y protección ambiental. VI Taller de la Cátedra de Medio Ambiente. Vol. 1:110-115

Smith, G. (1980). *Ecology and Field Biology*. Harper & Row, New York, 835 pp.

Sabariago, S.; Díaz de la Guardia, C. & Alba, F. (2004). Incidencia de esporas de *Alternaria* y *Cladosporium* en la atmósfera de la ciudad de Almería (SE de España): relación con los parámetros meteorológicos. R.I.A.M

Rosas, I.; Calderón, C.; Escamilla, B. & Ulloa, M. (1992). Seasonal distribution of *Aspergillus* in the air of an urban area: Mexico City. *Grana* 31:315-319