

Aislamiento y caracterización de hongos en documentos de la Biblioteca Nacional José Martí

Yahumila Hidalgo Cerito

Licenciada en Bioquímica. Especialista del Departamento de Conservación de la Biblioteca Nacional José Martí. E mail: conservacion@bnjm.cu

Sofía Borrego Alonso

Licenciada en Microbiología y doctora en Ciencias Biológicas. Especialista del Laboratorio de Conservación Preventiva del Archivo Nacional de la República de Cuba. E mail: arnac@ceniai.inf.cu

Hidalgo Cerito, Yahumila y Sofía Borrego Alonso. "Aislamiento y caracterización de hongos en documentos de la Biblioteca Nacional José Martí". Bibliotecas. Anales de investigación. 2(2006): 95-101

Resumen

El papel es una fuente rica de carbono para gran variedad de hongos. Condiciones apropiadas de temperatura y humedad permiten el crecimiento y desarrollo de estos microorganismos. Su presencia en los documentos favorece los procesos de deterioro. Este estudio tiene como objetivo caracterizar taxonómica y fisiológicamente algunas de las especies de hongos aisladas en documentos patrimoniales de la Biblioteca Nacional para conocer su potencial deteriorante.

Palabras clave: Hongos; Conservación de documentos; Biblioteca Nacional "José Martí"; Deterioro de documentos

Introducción

El papel es una fuente rica en hidratos de carbono para una gran cantidad de hongos, por lo que constituye una fuente de nutrientes

para este tipo de microorganismos. Esta condición y valores inadecuados de humedad, temperatura, así como la suciedad y la poca ventilación constituyen los factores que propician el crecimiento y desarrollo de numerosas especies fúngicas.¹

Muchos de estos microorganismos son capaces de degradar la celulosa y producir sustancias tales como pigmentos y ácidos, que provocan el deterioro de las colecciones en archivos y bibliotecas.² Además existe una gran variedad de hongos capaces de afectar la salud de las personas que entren en contacto con los documentos infectados.³

Este trabajo tiene como objetivo realizar un aislamiento e identificación de especies fúngicas existentes en documentos que custodia la Biblioteca Nacional "José Martí". También se realizó una caracterización fisiológica mediante pruebas que permiten conocer la capacidad que poseen las cepas aisladas de degradar cualitativamente la

celulosa y producir ácidos y pigmentos. A partir de este estudio se pudo recomendar medidas encaminadas a minimizar los factores que propician el desarrollo de hongos causantes del deterioro de las colecciones.

Materiales y métodos

Toma de muestras: Se tomaron muestras de cuatro documentos utilizando hisopos estériles impregnados en una solución salina estéril (NaCl al 0.9%). De las cuatro muestras tomadas, dos pertenecen a los protectores de periódicos pertenecientes a una colección de los pisos seis y siete respectivamente. Las dos últimas fueron tomadas en dos libros diferentes del piso dieciséis, el cual presenta problemas de hacinamiento, poca ventilación y limpieza.

Procesamiento de las muestras: A cada una de las muestras se le adicionaron dos mililitros de solución salina estéril. De cada disolución se tomaron 100 ml y se pasaron a un tubo con veinte mililitros de medio Agar Sabouraud fundido y mantenido a 40-45°C. El contenido de cada tubo se pasó a una placa de Petri. Para cada una de las muestras se realizaron dos enjuagues sucesivos con veinte mililitros de medio Agar Sabouraud fundido y el contenido también se sembró en placas de Petri logrando diferentes diluciones por muestra. De esta forma finalmente se sembraron tres placas de Petri por cada una de las muestras aisladas. Las placas se incubaron a $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante siete días. Las diferentes colonias obtenidas fueron aisladas, descritas, observadas al microscopio y transferidas a tubos con medio Czapek e incubadas durante siete días en igualdad de condiciones para su conservación.

La clasificación taxonómica de las cepas se realizó empleando claves apropiadas.⁴

Pruebas fisiológicas realizadas

Determinación de actividad celulítica y producción de pigmentos: Se procedió a sembrar los hongos aislados en un medio de cultivo cuya composición salina es similar al del medio Agar Czapek, sólo que la fuente de carbono en un caso fue sustituida por celulosa cristalina al uno por ciento, y en el otro por una tira de papel de filtro de 4,8 cm de largo por un centímetro de ancho (equivalente a cincuenta miligramos de papel de filtro). Esta última variante también se utiliza para determinar la producción de pigmentos. Como control positivo, las cepas también se sembraron en el mismo medio salino, el cual contenía glucosa al uno por ciento como fuente de carbono. Los cultivos se incubaron a $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante tres o cuatro semanas. La lectura de los resultados se realizó mediante inspección visual.⁵

Producción de ácidos: Se sembraron las cepas de hongos aisladas en un medio de cultivo líquido de composición similar al Caldo Czapek, pero con glucosa al uno por ciento con el pH ajustado a siete. Los cultivos se incubaron a la misma temperatura por tres días y posteriormente se midió el pH del medio de cultivo con la ayuda de un pHmetro (PRACITRONIC, Alemania).⁶

Resultados y discusión

De las catorce cepas aisladas (Tabla 1), ocho resultaron ser del género *Aspergillus*. De estas ocho cepas, cinco se identificaron dentro de la especie *Aspergillus niger*. Los otros

géneros identificados fueron *Trichoderma* (una cepa), *Cladosporium* (tres cepas) y *Chaetomiun* (una cepa), por lo que se puede apreciar que el género *Aspergillus* fue el predominante.

En cuanto a las pruebas fisiológicas realizadas (Tabla 1), se obtuvo que *A. niger* presentó una elevada actividad celulolítica pues mostró mayor crecimiento tanto sobre el papel de filtro como en celulosa cristalina. Para las cepas de *Cladosporium* se observó poca actividad degradativa de la celulosa, mientras que para *Trichoderma* y *Chaetomiun* el crecimiento fue de alrededor del cincuenta por ciento en el medio destinado a medir esta actividad, por lo que se considera una actividad moderada.

También *A. niger* resultó el de mayor producción de ácidos, pues se obtuvieron valores de pH entre 1,76 y 3,00, es decir muy bajos.

Los valores de pH obtenidos para *Cladosporium*, *Trichoderma* y *Chaetomiun* fueron más altos y similares entre ellos oscilando alrededor de 5,2 y 5,9. La producción de pigmentos tuvo resultados positivos para algunas de las cepas de *Aspergillus* y *Cladosporium* (Tabla 1).

Es decir que de los hongos aislados, el *A. niger* resultó ser el más agresivo para el papel por su alto potencial degradativo de la celulosa. Los valores de pH también son muy bajos en este caso, lo cual demuestra que este hongo tiene un alto potencial para la producción de ácidos. Además, en varias de las cepas de *A. niger* se observó producción de pigmentos cuyos efectos negativos son conocidos en el deterioro de documentos.

Se debe tener en cuenta que en los depósitos estudiados, pisos seis, siete y dieciséis se han encontrado valores de temperatura y humedad relativa (HR) de alrededor del 30°C y 68 %, respectivamente, según mediciones realizadas en los meses de abril y mayo de 2005. Estos valores constituyen la media para los tres pisos, aunque debemos señalar que no se observa estabilidad en ellos. Por ejemplo, en el piso siete la HR varía entre el 60 y el 74%. Esta situación favorece en gran medida el crecimiento y desarrollo de microorganismos, así como de otros agentes causantes de biodeterioro.

El daño de los hongos no sólo se circunscribe a la documentación, sino que también pueden afectar la salud de las personas que manipulan los documentos infectados.

Es conocido que la pared de las esporas fúngicas esta compuesta por sustancias (b [1-3]-D-glucanos) que desencadenan reacciones tóxicas en el organismo de los seres humanos,⁷ aun cuando estas no son viables, provocando reacciones no específicas como dolor de cabeza, irritación de ojos, nariz y garganta, así como fatiga.

Por otro lado, se ha reportado⁸ que los géneros aislados son capaces de producir compuestos orgánicos volátiles (COV) y micotoxinas. Los COV pueden ser variados, pero los que frecuentemente se han aislado son etanol, acetona y benceno o sus derivados. Están asociados con olores fuertes tales como el olor a humedad y a material (papel o tela) viejo, los cuales son altamente irritantes al sistema respiratorio y a los ojos provocando reacciones no específicas. Además de que ellos pueden proporcionar un ambiente enrarecido de compuestos que podrían reaccionar con el papel u otros soportes de archivo y acelerar su deterioro. Las micotoxinas de muchos hongos, por su parte, pueden provocar afectaciones severas en la piel.

Por ello, cuando afectan la salud de las personas producen reacciones que generalmente se agrupan en tres categorías: reacciones alérgicas (asma, rinitis alérgica, neumonía por hipersensibilidad), infecciones (aspergilosis, micosis cutánea) y respuestas por toxicidad a determinadas sustancias.

Tabla 1. Resultados de la actividad celulítica, producción de pigmentos y ácidos en las cepas aisladas

Especies Celulosa Papel de Filtro Glucosa pH

A. niger 1 ++ +++++ +++++ 2.12

A. niger 2 ++ +++++* +++++ 2.65

A. niger 3 + +++ +++ 2.64

A. niger 4 +++ +++++* +++ 1.76

A. niger 5 ++ +++++* +++++ 3.00

A. niger 6 + + +++ 6.04

Aspergillus sp ++ +++++* +++ 5.83

Aspergillus sp ++ +++++* +++ 5.83

Aspergillus sp ++ +++++* +++ 5.83

Trichoderma ++ +++ +++ 5.92

viridae

Chaetomium ++ +++** +++ 5.98

Cladosporium ± ± ++ 5.88

Cladosporium ± +++*** +++ 5.56

Cladosporium + +++*** +++ 5.27

Nota: Las diferentes cepas de A. niger se diferencian en sus características culturales y de asimilación de los nutrientes estudiados.

++++ Crecimiento en el 100% del área, +++ Crecimiento en el 75% del área, ++ Crecimiento en el 75% del área, + Crecimiento en el 25% del área, ± Crecimiento muy pobre, menos del 25% del área (mínimo).

* Pigmento ámbar muy claro, ** Pigmento ámbar oscuro, *** Pigmento verde olivo

Está reportado que la humedad relativa influye en la deposición de las esporas fúngicas en las vías respiratorias.⁹ Es decir, como las esporas son higroscópicas, su tamaño puede aumentar significativamente en las vías respiratorias si la HR del aire se acerca al 100% aumentando sus efectos negativos en ellas. De ahí que el control de la humedad relativa en los locales no sólo tiene importancia para lograr una disminución del deterioro de una obra por microorganismo, sino para evitar afectaciones a la salud.

Conclusiones

1. De las cepas aisladas predominaron las del género *Aspergillus*, aunque se detectaron de los géneros *Cladosporium*, *Chaetomium* y *Trichoderma*
2. Las cepas de *A. niger* produjeron gran cantidad de ácidos, pues los valores de pH registrados fueron los más bajos. También presentaron el mayor potencial degradativo de la celulosa.
3. Los otros géneros identificados también produjeron ácidos, aunque en menor magnitud y mostraron, en mayor o menor grado, capacidad para degradar la celulosa.
4. Muchas de las cepas aisladas fueron capaces de producir pigmentos.

Recomendaciones

- 1) Adoptar medidas preventivas en los depósitos de la Biblioteca Nacional "José Martí" que minimicen o impidan el crecimiento y desarrollo de hongos, así como de otros organismos causantes de biodeterioro en sus fondos.
- 2) Proveer y exigir el uso de medios de protección tales como batas, tapabocas, espejuelos, gorros y guantes a los trabajadores de la biblioteca, fundamentalmente a los que laboran mayoritariamente en los depósitos o con grandes cantidades de libros, con el fin de prevenir patologías que pueden ser causadas por las especies fúngicas presentes en ellos.
- 3) Continuar los estudios microbiológicos y ambientales en la biblioteca, fundamentalmente en las áreas de almacenamiento.

Bibliografía citada

1. Petushkova, J. and P. Kandyba. "Aeromicrobiological Studies in the Moscow Cathedrals". *Aerobiologia* 15(1999):193-201
2. Sánchez, H. P. A. Política de conservación en bibliotecas. Madrid: Arco/Libro, 1999. 193-237
3. "The Environmental Report EMLab. A Technical Newsletter for IAQ Professionals", July 2003. < <http://www.emlab.com/app/fungi/Fungi.po>>
4. "America's Most Wanted Biological Agents". 2003. <<http://www.aerias.org/jtf-mostwanted.htm>>
5. "Indoor Air Quality. Bacteria / Endotoxin". 2004. <<http://www.indoorallergyrelief.com/index.php/30>>
6. Gilman, J. C. Manual de los hongos del suelo. Editorial Continental, S.A., 1963
7. Barnett, H. L. and B. B. Hunter *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Minnesota: Burgess Publishing Company, 1972
8. Borrego, S. "El edificio de archivo: su influencia en la contaminación microbiana ambiental, el biodeterioro y la salud del personal". IV Coloquio Iberoamericano del Papiro a la Realidad Virtual. 2005. La Habana, Cuba

9. *Ibíd.*
10. "Fungal Fragments as Indoor Air Biocontaminants". *Appl. Environ. Microbiol.* 68(2002):3522-3531
11. "Fungal Production of Volatiles during Growth on Fiberglass". *Appl. Environ. Microbiol.* 60(1994):4172-4173
12. "Volatile Organic Compounds Associated with Microbial Growth in Automobile Air Conditioning Systems". *Current Microbiol.* 41(2000):206-209
13. "Effect of Relative Humidity on the Aerodynamic Diameter and Respiratory Deposition of Fungal Spores". *Atmospheric Environ.* 30(1996):3967-3974