

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Contaminación fúngica ambiental en las líneas de
transporte público urbano de la ciudad de
Ayacucho, 2017.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA EN LA ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGÍA

Presentado por la:
Bach. VILCHEZ MALCA, María Victoria

AYACUCHO – PERÚ
2018

A Dios, a mis padres Alejandro y Clementina que siempre me brindan su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, *Alma Mater* de mi formación profesional.

A los profesores de la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a los del área académica de Microbiología, por su contribución en mi formación profesional.

Al Blgo. Serapio Romero Gavilán, por su apoyo en el asesoramiento y orientación en la elaboración del presente trabajo de investigación.

Al Ing. Guillermo Carrasco Aquino, por su apoyo en la confirmación de la identificación de los géneros de hongos aislados.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Base Teórica	5
2.2.1. Aeromicología	5
2.2.2. Hongos	7
2.2.3. Hongos Contaminantes	9
2.2.4. Transporte Público	10
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Características de la zona en estudio	13
3.2. Variables e Indicadores	13
3.3. Población muestral en estudio	13
3.4. Metodología	13
3.4.1. Procesamiento y recolección de datos	14
IV. RESULTADOS	17
V. DISCUSIÓN	21
VI. CONCLUSIONES	27
VII. RECOMENDACIONES	29
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
IX. ANEXOS	33

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Clasificación de los phyla (divisiones) y clases de los hongos	8
Tabla 2 Carga fúngica ambiental aéreo en las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho. 2017	19
Tabla 3 Densidad y frecuencia relativa de los géneros de hongos aislados del ambiente aéreo de las líneas de transporte urbano de la ciudad de Ayacucho. 2017	20

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.	
Anexo 1	Flujograma del trabajo	35
Anexo 2	Método de Omelianski	36
Anexo 3	Flujograma de la técnica de Microcultivo	37
Anexo 4	Tabla de clasificación del grado de contaminación según a lo propuesto por Wanner y otros en 1993 (citado por Moreno y Paxtor 2014)	38
Anexo 5	Características macroscópicas y microscópicas de los géneros de hongos identificados.	39
Anexo 6	Fotografías tomadas durante la realización del trabajo	43
Anexo 7	Fotografías de los géneros de hongos encontrados	45
Anexo 8	Matriz de consistencia	48

RESUMEN

El presente trabajo se desarrolló con el objetivo de describir la contaminación fúngica ambiental en las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho. Se llevó a cabo en la ciudad de Ayacucho, el tipo de investigación fue descriptiva, los contaminantes fúngicos se detectaron mediante el método gravimétrico de sedimentación en placa conteniendo agar Sabouraud propuesto por Omeliansky, luego de incubar a 25°C hasta por una semana, se anotaron las características macroscópicas de las colonias de hongos que desarrollaron y se repicaron en viales conteniendo agar Sabouraud para su posterior identificación. El proceso de identificación se realizó por observación de las características macroscópicas y microscópicas tomando como base las claves propuestas por Barnett. Se han encontrado ambientes internos en las líneas de transporte urbano en un rango de contaminación que va desde niveles intermedios a altos, en la línea 20 se contaron 1496 ufc/m³, seguido de la línea 2 con 1176 ufc/m³, línea 14 con 1040 ufc/m³, línea 10 con 936 ufc/m³, entre las más contaminadas; las menos contaminadas fueron, la línea 13 con 480 ufc/m³, líneas 9 y 11 con 560 ufc/m³, el resto de las unidades presentaron una carga fúngica de 600 a 700 ufc/m³. De un total de 165 colonias de hongos filamentosos aislados, en orden de frecuencia, el 28% correspondió al género *Aspergillus*, 27% a *Penicillium*, 18% a *Rhizopus*, 12% a *Alternaria*, mientras que los géneros *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Cephalosporium*, *Paecilomyces* y las levaduras fueron identificados en menores porcentajes.

Palabras clave: Contaminación fúngica, líneas de transporte.

I. INTRODUCCIÓN

El conocimiento y control de las infecciones respiratorias producidas por hongos es importante debido los problemas que estos ocasionan, tales como, alergias y enfermedades crónicas.

La evolución social del hombre conlleva a una transformación del ambiente, así como los procesos de urbanización y avance industrial que juntamente con el desarrollo económico han causado trastornos en la salud ya sea de manera directa o indirecta.

Hoy en día las alteraciones ambientales son cada vez más graves por la expansión de las zonas de hábitat para el hombre y la contaminación indirecta a través del agua y aire. El ambiente está contaminado con sustancias químicas, físicas y biológicas; dentro de estas últimas sobresalen los hongos por su fácil propagación y supervivencia¹.

El medio ambiente que nos rodea puede actuar como vehículo para la propagación del agente causal para el desarrollo futuro de una enfermedad.

A decir de muchos investigadores de la salud humana, las alergias han incrementado su incidencia de manera alarmante, como alérgenos son considerados como factores de riesgo; y se ha convertido en un problema a nivel mundial nacional y local por lo que, el trabajo de investigación ha sido planificado con el objetivo de describir los contaminantes fúngicos del ambiente interno de las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho, ya que existe alto grado de probabilidad de contaminación en este medio de transporte¹.

Esta realidad no escapa a las líneas de transporte público urbano de nuestra ciudad, en los que los hongos bajo sus formas de espora o hifas encuentran las condiciones favorables para su supervivencia y de esta manera muchos de estos comportarse como nocivos para la salud de los usuarios, cuando las líneas de transporte no realizan la limpieza y desinfección del ambiente interior, la

sobrecarga de dichas unidades por los usuarios y su equipaje, aumentan las condiciones para que los propágulos fúngicos circulen¹.

Para el desarrollo del presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

Describir los contaminantes fúngicos del ambiente interno de las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho 2017.

Objetivos específicos

- Determinar la carga fúngica del ambiente interno de las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho 2017.
- Calcular la densidad relativa de los hongos aislados a partir del ambiente interno de las líneas de transporte urbano de la ciudad de Ayacucho.
- Identificar el género de los contaminantes fúngicos del ambiente interno de las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho 2017.
- Determinar la frecuencia de hongos contaminantes del ambiente interno de las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho 2017.

II. MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes

En vista de que luego de una búsqueda exhaustiva de literatura, no se muestran trabajos de investigación realizados en la Aeromicología en unidades de transporte, mostraremos artículos publicados de estudios realizados en contaminación fúngica de ambientes internos y externos de ambientes de trabajo o de las ciudades, bajo la premisa siguiente: la microbiota de los ambientes internos son los mismos de los ambientes externos.

Figueroa², con el objetivo de determinar la relación de la micoflora aérea extramural e intramural de los ambientes de la Escuela de Medicina y su relación con la micoflora de la mucosa nasal de los estudiantes de Medicina Humana en la Universidad Nacional Hermilio Valdizán de Huánuco, realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal. El aislamiento de hongos del aérea extramural e intramural lo hizo por el método de deposición gravitacional horizontal sobre placas de Petri con agar Sabouraud con cloranfenicol, y el hisopado para la mucosa nasal de 150 estudiantes. En los ambientes intramural y extramural aisló un total de 36 145 Ufc/m³ /min y en la mucosa nasal 1 202 Ufc, identificó 10 géneros, *Alternaría sp*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Cladosporium sp*, *Cephalosporium sp.*, *Candida sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Gliocladium sp.* este último solo en los ambientes extramurales. En la mucosa nasal aisló *Alternaría sp.*, *Penicillium sp.*, *Candida sp.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Curvularia sp.*, *Cladosporium sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Cephalosporium sp.*

Fernández y col.³, estudiaron la carga fúngica aérea y la diversidad de especies de *Aspergillus* en ambientes hospitalarios con pacientes pediátricos en estado crítico. En otoño y primavera cada 15 días muestrearon aire y superficies de la Unidad de Terapia Intensiva y la Unidad de Quemados de un hospital pediátrico. Muestrearon el aire con el SAS Super 100[®], y las superficies con el método del

hisopo. Los resultados arrojaron que en la Unidad de Terapia Intensiva había mayor cantidad de UFC/m³ y mayor diversidad de especies de *Aspergillus* que en la Unidad de Quemados. Aislaron 96 cepas de *Aspergillus* con una alta frecuencia *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus* y *Aspergillus parasiticus*. Aislaron *Aspergillus fumigatus* de ambas salas, especie considerada inaceptable en ambientes internos.

Directora y Toran⁴, con el objetivo analizar micológicamente el aire interior en ambientes de distintos posibles edificios enfermos, efectuaron un estudio de prevalencia puntual durante el mes de agosto de 2012, en 1-un aula de la universidad, 2-en un aula de un colegio primario y 3-oficinas de un “edificio Inteligente”, todos en actividad, mediante el método de impacto en placas de Petri con agar Sabouraud a nivel del suelo, media altura (1m) y en altura (1.8 m). Los resultados mostraron que la media del número de hongos obtenidos fueron 12 UFC/h, 16 UFC/h y 1 UFC/h en 1, 2 y 3 respectivamente. Los géneros identificados fueron *Penicillium*, *Mucor* y *Cladosporium*. Encontraron mayor presencia de hongos en las aulas que en las oficinas, donde se cuenta con ventilación interna y no posee ventanas al exterior.

Bustos⁵, realizó un estudio de los taxones fúngicos encontrados en la atmósfera del Parque Natural de la Sierra de Hornachuelos (Córdoba-España), logrando identificar con mayor frecuencia a *Cladosporium*, *Coprinus*, *Ustilago*, *Diatrypaceae*, *Spilocaea* y *Alternaria*.

Frison y col⁶., procesaron 54 muestras de aire del ambiente exterior e interior de las salas de producción luego de las operaciones de limpieza y desinfección de una industria quesera, una panadería y una elaboradora de dulce de leche, de las ciudades de San Carlos y San Jerónimo Norte departamento Las Colonias, provincia de Santa Fe, Argentina. Emplearon un equipo multipocillo de impacto aire/agar, el tiempo para la toma de muestra fue de 30 segundos, las muestras se incubaron 7 días a 28 °C, realizaron el recuento total expresando el resultado como Media Geométrica y Desviación Estándar Geométrica y se procedió a la identificación de los géneros y/o especies encontradas mediante la observación macroscópica y microscópica de las colonias desarrolladas. Los resultados mostraron que hay 3 géneros predominantes: *Cladosporium*, *Alternaria* y *Epicoccum*.

González y col⁷., en España realizaron un análisis de distintos tipos de esporas fúngicas en la atmósfera de las localidades de León, Miranda de Ebro y Zamora, entre agosto a octubre de 2006 con captadores volumétricos tipo Hirst.

En León, los tres tipos más frecuentes de esporas fueron *Cladosporium* (73,6%), *Coprinus* (9,1%) y *Aspergillus - Penicillium* (7,7%). En Miranda de Ebro aislaron *Cladosporium* (78,2%), *Fusarium* (6,1%) y *Coprinus* (5,4%), en Zamora los aislamientos más frecuentes correspondieron a *Cladosporium* (86,9%), *Aspergillus - Penicillium* (2,7%) y *Alternaria* (2,6%). Observaron que la temperatura y humedad fueron los factores meteorológicos que influenciaron en la distribución de los hongos.

Sánchez⁸, realizó el estudio de la aeromicota en un ambiente de interior, en la Biblioteca Capitular de la Catedral de la Asunción de Jaén (España), durante los meses del período invernal de 2015-2016, usando un método volumétrico halló 7544 propágulos fúngicos e identificó morfotipos de *Cladosporium cladosporioides* (Ascomycota) (51,5%), *Aspergillus* (5,7%) y el orden *Uredinales* (Basidiomycota) (6,2%), de los cuales las dos primeras, además de ser hongos descomponedores de una amplia variedad de sustratos, pueden resultar perjudiciales para la salud humana, provocando alergias cuando las cantidades son superiores a 3.000 esporas/m³, y la tercera resulta ser un fitopatógeno muy extendido.

Rojas y Col⁹., investigaron la aeromicota de ambientes internos de museos, bibliotecas y almacenes de la ciudad de La Habana (Cuba). Utilizaron los métodos de gravimetría, método del hisopado (NRP-201), sistema AERO, sistemas volumétricos SAS BPC y emplearon el agar Sabouraud, agar extracto de malta con peptona y glucosa, agar extracto de malta más cloruro de sodio y agar papa dextrosa con cloruro de sodio como medios de cultivo. Los resultados mostraron que no existe diferencia significativa del grado de contaminación evaluada por métodos AERO, SAS y BPC, pero si cuando se comparó el sistema AERO con OME (sistema gravimétrico, se muestra mucho más eficaz ya que recoge el doble de unidades formadoras de colonias. Los géneros de hongos que se aislaron con mayor frecuencia fueron *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cladosporium*.

2.2. Base teórica

2.2.1. Aeromicología

Se denomina Aeromicología, al estudio de los hongos del ambiente aéreos. Sólo en determinados países existen protocolos establecidos para el desarrollo de la técnica que permite su control y medición de los hongos en el aire especialmente de ambientes cerrados que impliquen situaciones de riesgo¹⁰.

No cabe duda que, en todo lugar permanentemente hay presencia de hongos aéreos que, por lo general, no afectan la salud de las personas, pero que pueden generar afecciones, por eso, existe la necesidad de hacer controles periódicos que permitan monitorear posibles cambios en la biota de hongos, o la presencia de algunos de ellos que revistan riesgo sanitario, es razón para que los especialistas trabajen en la adaptación de la técnica de medición que, aunque fue pensada para la determinación de hongos aéreos, también es útil para medir la presencia de otros microorganismos como las bacterias¹⁰.

Los contaminantes ambientales de procedencia biológica (bioaerosoles) están constituidos por partículas, moléculas de tamaño grande, o los compuestos orgánicos volátiles que están vivos o que proceden de un organismo vivo. En los bioaerosoles se pueden encontrar los microorganismos (cultivables, contables y los microorganismos muertos), y los fragmentos, toxinas y partículas producto de los desechos de todo tipo, cuyo origen es la materia viva. La supervivencia, reproducción y dispersión al aire de los contaminantes biológicos dependen, en gran medida, de las condiciones del entorno en que se encuentran. La temperatura, la humedad relativa, el movimiento del aire, la luz, las fuentes de alimento determinan el grado en que los contaminantes biológicos se encontrarán en un ambiente. En general, las temperaturas bajas inhiben el crecimiento de muchos microorganismos; no obstante, algunos de ellos (por ejemplo, mohos y levaduras) se desarrollan bien en ambientes fríos. *Aspergillus*, alcanza su desarrollo óptimo a temperaturas elevadas. Los ambientes muy húmedos favorecen el desarrollo de los hongos, el movimiento del aire contribuye al transporte y mantenimiento. El grado y tipo de luz también pueden favorecer o inhibir el desarrollo de los microorganismos. Por ejemplo, la luz ultravioleta inhibe dicho crecimiento y la ausencia de luz impide la formación de esporas de algunos hongos como *Alternaria*. En ocasiones, la concentración ambiental de este tipo de contaminantes no está siempre ligada a un proceso de trabajo, sino a las diversas fases del desarrollo microbiológico (por ejemplo, liberación del polen, formación de esporas, producción de toxinas o de compuestos orgánicos volátiles), y a los factores que favorecen su diseminación. En segundo lugar, se debe conocer cómo interpretar los resultados de una forma correcta, ya que la presencia de microorganismos o proteínas, incluso en concentraciones ambientales elevadas, no son prueba definitiva de que hayan causado una enfermedad¹¹.

2.2.2. Los hongos

Los hongos son organismos que pertenecen al reino Fungi, son eucarióticos debido a que tienen bien delimitada la membrana nuclear de sus células, aerobia, heterotrófica, en general no móvil. Se reproducen por procesos asexuales y sexuales, con talo unicelular (levaduras) y multicelular (mohos); las células fúngicas son de dos tipos: las somáticas cuyos núcleos se dividen por mitosis y las reproductoras, con núcleos mucho más grandes y se dividen por meiosis. Con mitocondrias, sistema endomembranoso, dictiosomas o cuerpos cisternales (aparato de Golgi), con retículo endoplasmático que contienen quitina sintetasa, encargados de la síntesis de quitina (N-acetil glucosamina), principal componente de la pared celular. En la membrana celular se encuentra gran cantidad de esterol del tipo del ergosterol que se convierte en sitio de diana de muchos antimicóticos del tipo de los polienos y azoles, cuya acción deja una membrana defectuosa con grandes espacios y poros que con lleva a la muerte de la célula fúngica. La pared celular preponderantemente está formada por la quitina (N-acetil glucosamina), además de glucanas, mananas, derivados celuloideos, que le confieren la rigidez, con cierto grado de flexibilidad debido a la presencia de glucopéptidos y nanoproteínas que, además, son muy importantes para su taxonomía y tienen propiedades antigénicas. No son fotosintéticos, por lo tanto, su nutrición es por absorción de sustancias orgánicas simples o elaboradas.

Se alimentan bajo dos formas, saprofiticamente cuando absorben los alimentos de sustancias de materias orgánicas muertas o en descomposición y, la segunda como parásitos cuando absorben las sustancias de materia orgánica viva^{12, 13, 14}.

Condiciones de crecimiento

- Necesitan de una temperatura ideal de entre 20 y 30 °C, pero pueden crecer desde 0°C hasta los 55°C. Por lo tanto, existen hongos psicrófilos (0 y 20°C), mesófilos (15 y 40°C) y termófilos (20 y 50°C).
- Son acidófilos, crecen mejor a un pH de 5,6 y 6,8.
- La luz no es vital para su existencia, sin embargo, es vital para el proceso de esporulación debido a la alternancia luz-oscuridad¹⁵.

Clasificación

La primera clasificación fue elaborada con base a su aspecto macroscópico en, hongos macroscópicos o setas, mohos u hongos filamentosos, levaduras u hongos de crecimiento limitado o cremoso y actinomicetos o bacterias filamentosas de crecimiento limitado y rocoso¹².

Tal clasificación aún conserva validez para reconocer a los hongos trivialmente, su taxonomía ha sufrido modificaciones de acuerdo con las nuevas propiedades y características que se van descubriendo.

Desde el punto de vista macroscópico y microscópico: mohoso hifomicetos que producen colonias filamentosas y circulares en medios sólidos y globosos en caldo, y las levaduras o blastomicetos que forman colonias cremosas¹³.

En la actualidad la clasificación ha sufrido muchos cambios, por lo tanto, existen varias clasificaciones, nosotros tomaremos la clasificación de Guarro, et. al., 1999. Aceptado por el *Diccionario Internacional de Hongos* (citado por Bonifaz¹¹), basada en propiedades morfológicas, reproductivas, fisiológicas, de biología molecular:

Tabla 1. Clasificación de los *phyla* (divisiones) y clases de los hongos.

Reinos	Phyla (divisiones)	Clases
	Chytridiomycota	
	Zygomycota	Zygomycetes Trichomycetes Basidiomycetes
Fungi (Eumycota)	Basidiomycota	Teliomycetes Ustomycetes Loculoascomycetes
	Ascomycota	Plectomycetes Pyrenomycetes Ascmomycetes basales

Reproducción

Una de las características más importantes de los hongos es que siempre se reproducen por conidios (esporas), los cuales pueden ser sexuales o asexuales, pero la diferencia entre ambos es que en los primeros existen células y órganos sexuales o asexuales diferenciados, que pueden llevar a cabo la fusión de los núcleos y, por tanto, hay intercambio de material genético, con la posibilidad de que aparezcan nuevas propiedades. En la actualidad hay una tendencia taxonómica que indica que cuando se usa la palabra o terminación espóra (Gr. *Spora* = semilla) solo se refiere a una forma de reproducción sexuada, y conidio (llamada también conidia, por su traducción al inglés, término que proviene del griego *koni* = polvo o polvillo), si se trata de la anamórfica o sexuada¹².

Algunos autores toman literalmente la palabra conidio, o conidia, como sinónimo o sustantivo de espora. Aunque esta tendencia tiene cada vez más aceptación, todavía existe controversia al respecto¹².

En forma genérica a los hongos que tienen reproducción asexuada se les denomina hongos mitosporicos, es decir, que se reproducen por mitosis y a los sexuados meiosporicos porque lo hacen por meiosis¹².

Todos los hongos incluyen la forma teleomórfica o sexuada de reproducción, excepto los antes llamados Fungi Imperfecti (hongos imperfectos) o Deuteromycetos, en la actualidad llamados hongos mitosporicos, debido a que solo realizan procesos mitóticos de división nuclear¹².

Para la reproducción sexual participan hifas heterotalias y homotéticas, en el primer caso, las hifas son diferentes (+ o - / a y b/major y minor), esto se da en la formación de las Zygosporas de *Rhizopus*. En los homotálicos, se unen hifas del mismo tipo, pero con núcleos diferentes. En el proceso de reproducción sexuada, los hongos liberan feromonas que posibilitan el proceso de quimioatracción, tales como el anteridiol (oogoniol), sirenina, parisina y ácido tricospórico. Los hongos con este tipo de reproducción se llaman hongos meiospóricos.

Las esporas sexuales son: ascosporas (Ascomycetos), basidiosporas (Basidiomycetes), zigosporas (Zygomycetes)¹².

2.2.3. Hongos contaminantes

Siempre has ido un problema que ha amenazado la existencia de la humanidad, debido a que saprofitan con facilidad muchos materiales tanto orgánicos como inorgánicos, los alimentos, el aire ambiental de una ciudad o de los ambientes de trabajo; muchos de ellos se convierten en oportunistas siendo un riesgo para la salud de las personas inmunocomprometidas. Por ser ubicuos y transportarse a través del aire sea por esporas o conidios, actúan como alérgenos que provocan cuadros de hipersensibilidad (alergias); aquí radica la importancia de **conocer los hongos presentes en el aire (aeromicología) de todos los lugares, ciudades y ambientes donde laboran las personas**, esto varía de acuerdo a condiciones de temperatura, humedad, nutrientes, estaciones del año, disposición de residuos sólidos. A continuación, se describen los hongos contaminantes que observamos con mayor frecuencia en nuestro ambiente. Las características coloniales que presentan en los medios habituales en el medio de cultivo. La mayoría de estos crecen en un promedio de 48 horas, mientras su morfología completa se presenta entre 3 y 5 días.

- Hongos Mucorales: *Absidia sp.*, *Cunninganella sp.*, *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.*, *Syncephalastrum sp.*
- Hongos Levaduriformes: *Geotrichum sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Saccaromyces sp.*, *Trichosporum sp.*
- Hongos filamentosos hialinos: *Acremonium sp.* (*Cephalosporium sp.*), *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Neurospora sp.*, *Penicillium sp.*, *Scopulariopsis sp.*
- Hongos filamentosos dematiaceos (negros): *Alternaria sp.*, *Bipolaris sp.*, *Cladosporium sp.*, *Curvularia sp.*, *Helminthosporium sp.*, *Ulocladium sp.*, etc.¹²

2.2.4. Transporte público

Transporte

Transporte es el sistema de medios para conducir personas y cosas de un lugar a otro¹⁶.

Transporte público terrestre

Transporte público es el servicio de transporte que se realiza por cuenta ajena mediante contraprestación económica. Transporte público terrestre es el servicio prestado por medios de transporte terrestres. Este servicio por tratarse de un servicio a la comunidad es regulado por entidades normalmente del gobierno¹⁷.

En el Perú, la entidad reguladora del transporte en general es el Ministerio de Transportes y Comunicaciones. El sistema de transporte público de pasajeros es un servicio que se brinda a la población, el cual le permita desplazarse entre distintos puntos de la ciudad y en el que confluyen tanto las entidades municipales y regulatorias como las empresas de transportes particulares. Éstas últimas son las propietarias de los medios de transporte que llevan a cabo el servicio propiamente¹⁷.

Tráfico

Movimiento o tránsito de personas, mercancías, etc., por cualquier medio de transporte. Circulación de vehículos por calles, avenidas, entre otras vías¹⁶.

Tránsito del Transporte Público

Transito es una actividad de personas y vehículos que pasan por una calle, una carretera, entre otros. El transito del transporte público es el flujo de vehículos¹⁶.

Ruta

Camino o dirección que se toma para un propósito¹⁶.

En el sistema de transporte público, ruta es el camino o recorrido de los vehículos que une puntos céntricos de las ciudades o de una ciudad, con el fin de tener acceso a la mayor cantidad de zonas a las que la población necesita

llegar. Estos puntos son los paraderos, unos de mayor importancia que otros por la cantidad de gente que se transporta hacia ella¹⁸.

Hora punta u hora Pico

Se denomina coloquialmente de ese modo en el ámbito del transporte público a aquella hora u horas en la cual el tráfico llega a sus máximos valores del día, las avenidas o calles de ciertas zonas se congestionan por la alta cantidad de vehículos privados y públicos¹⁸.

Línea de Transporte

La línea de transporte está formada de un conjunto de vehículos para uso de transporte público usados para una misma ruta. Las empresas de transporte pueden tener bajo su administración muchas líneas de transporte. Cada línea se identifica por letras y números, el cual tiene que ser único¹⁸.

Usuario, Pasajero o Cliente

Se le denominara usuario pasajero o cliente a las personas naturales que usan el servicio del sistema de transporte público a cambio del pago de una tarifa, independiente de la frecuencia con la que lo hagan. Toda la población de Lima Metropolitana son los usuarios potenciales, porque el servicio está al alcance de toda la ciudadanía para cuando lo necesiten¹⁸.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Características de la zona de estudio

Ubicación geográfica

El distrito de Ayacucho, está ubicado en la provincia de Huamanga del departamento de Ayacucho, región los Libertadores Wari, sierra centro sur del territorio peruano, se encuentra ubicada en la zona de vida estepa espinosa Montano Bajo Sub Tropical (eeMBS). La biotemperatura media anual máxima es de 17°C y la media mínima de 12.8 °C; el promedio máximo de precipitación total por año es de 540 mm y el promedio mínimo de 216 mm. La ciudad de Ayacucho se encuentra a una altitud de 2662 msnm¹⁹

3.2. Variables e indicadores

Variable principal

Contaminación fúngica ambiental de las líneas de transporte: N° de colonias de hongos, densidad relativa, géneros de hongos y frecuencia.

Variable secundaria

Unidad de análisis: líneas de transporte, numero de línea de transporte.

3.3. Población muestral en estudio

La población estuvo constituida por 16 líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho.

3.4. Metodología

Solicitud de autorización

Se solicitó autorización verbal al conductor de las líneas de transporte público y con su consentimiento, se ingresó a la unidad para seguir con el proceso de estudio.

Ubicación de los puntos de muestreo

El punto de muestreo fue la parte media de las 16 líneas de transporte.

3.4.1. Procedimiento para la recolección de datos

Toma de muestra

a) Técnica

Método gravimétrico de sedimentación en placa propuesto por Omelianski, usando agar Sabouraud en reemplazo del agar extracto de malta (Análisis Ambiental, Norma Ramal de la Pesca NRP-201, 1987, citado por Borrego y col. 2013²¹). Se realizaron 3 repeticiones en cada línea de transporte.

b) Procedimiento de recolección de datos

Se tomaron las muestras de aire del ambiente interno de las líneas de transporte público de la ciudad de Ayacucho, a través de la técnica de Omelianski escogiendo la hora punta, es decir, la hora en la que la unidad se encuentra lleno de pasajeros.

Método de Omelianski modificado

- Las placas Petri conteniendo agar Sabouraud se dejaron expuestas en los puntos de muestreo a 1.5 mt de altura por espacio de 30 minutos en tres días consecutivos a la misma hora.
- Se trasladaron al laboratorio de Micología y Epidemiología de la UNSCH y se incubaron a temperatura de 25°C x un mínimo de 72 horas.
- Las colonias características fueron repicadas en viales conteniendo agar Sabouraud.

Método de Omelianski (Anexo N°02)

c) Cuantificación de las Colonias

Se procede a contar macroscópicamente las colonias de hongos de cada placa, teniendo cuidado de que cada colonia represente a un posible género.

d) Identificación del género

La identificación hasta género se realizó por observación de las características macroscópicas y microscópicas de las colonias con la guía de clave de Barnett (1998)²³, para la observación microscópica se prepararon las cepas en microcultivos, proceso realizado por la tesista, juntamente con el asesor y finalmente fue confirmado por el co-asesor quien es especialista en fitopatología.

Técnica de microcultivo (Anexo N°03)

e) Cálculo de las unidades formadora de colonias por metro cúbico (ufc/m³)

Se hizo el recuento de las colonias en las placas Petri para luego calcular las UFC utilizando la fórmula siguiente:

$$\text{Número de UFC/m}^3 \text{ de aire} = \text{N}^{\circ} \text{ de colonias} \times \text{factor K}$$

Donde:

N^o de colonias = media de las colonias contabilizadas

K = constante, con valores de 100 para placas Petri con diámetro de 8 cm y 80 para placas con diámetro de 9 cm. (Análisis Ambiental, Norma Ramal de la Pesca NRP-201, 1987, citado por Borrego y col. 2013²¹)

f) Cálculo de la densidad relativa de los géneros microbianos

D = número de colonias del género o especie/número total de colonias x 100 (Smith y Smith, citado por Molina y Borrego²²).

g) Ordenamiento de los datos

Los resultados se han ordenado en tablas porcentuales.

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Carga fúngica ambiental aéreo en las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho.2017

Línea o ruta	N° de colonias (X)	UFC/m³
1	9.3	744
2	14.7	1176
3	8.7	696
4	8.3	664
5	11	880
6	11.3	904
7	9.3	744
8	7.3	584
9	7	560
10	11.7	936
11	7	560
12	10.7	856
13	6	480
14	13	1040
15	11	880
20	18.7	1496

Tabla 3. Densidad y frecuencia relativa de los géneros de hongos aislados del ambiente aéreo de las líneas de transporte urbano de la ciudad de Ayacucho. 2017

Género de hongo	Densidad relativa (DR)		
	N° Colonias	DR	Frecuencia relativa %
<i>Aspergillus</i>	46	0.28	28
<i>Penicillium</i>	45	0.27	27
<i>Rhizopus</i>	30	0.18	18
<i>Alternaria</i>	19	0.12	12
<i>Cladosporium</i>	10	0.06	6
<i>Fusarium</i>	5	0.03	3
<i>Helmintosporium</i>	3	0.02	2
<i>Cephalosporium</i>	2	0.01	1
<i>Paecilomyces</i>	1	0.006	0.6
Levaduras	4	0.02	2
Total	165	1.00	100.0

V. DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos, se han encontrado ambientes internos en las líneas en un rango de contaminación que va desde niveles intermedios a altos según a lo propuesto por Wanner y otros en 1993 (citado por Moreno y Paxtor 2014); en la línea 20 se contaron 1496 ufc/m³, seguido de la línea 2 con 1176 ufc/m³, línea 14 con 1040 ufc/m³, línea 10 con 936 ufc/m³, entre las más contaminadas, las menos contaminadas fueron, la línea 13 con 480 ufc/m³, líneas 9 y 11 con 560 ufc/m³, el resto de las unidades presentaron una carga fúngica de 600 a 700 ufc/m³ (tabla 2).

Figuroa² en el ambiente interno y externo de la Escuela de Medicina de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán de Huánuco, halló 36 145 Ufc/m³ y en la mucosa nasal de los estudiantes 1 202 Ufc/m³, a toda luz una contaminación muy alta en comparación al nuestro, probablemente las diferencias se deben al tipo de muestreo, estación estudiada y el clima del lugar.

La tabla 3, muestra los resultados de la densidad y frecuencia relativa de los hongos aislados, de un total de 165 colonias de hongos filamentosos aislados, en orden de frecuencia, el 28% correspondió al género *Aspergillus*, 27% a *Penicillium*, 18% a *Rhizopus*, 12% a *Alternaria*, mientras que los géneros *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helmintosporium*, *Cephalosporium*, *Paecilomyces* fueron identificados en menores porcentajes, cabe mencionar que se aislaron un 2% de levaduras.

Figuroa², habiendo buscado correlacionar los hongos ambientales con hongos de la mucosa nasal de los estudiantes de la Escuela de medicina, identificó 10 géneros, *Alternaria sp*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Cladosporium sp*, *Cephalosporium sp.*, *Candida sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Gliocladium sp.* este último solo en los ambientes extramurales. En la mucosa nasal aisló *Alternaria sp.*, *Penicillium sp.*, *Candida sp.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Curvularia sp.*, *Cladosporium sp.*,

Rhodotorula sp., *Cephalosporium sp.*, como se ve, son hongos que nosotros hallamos en nuestro trabajo, a diferencia que él, ha considerado a las levaduras. Fernández y col³., aislaron 96 cepas del género *Aspergillus*, las especies de mayor frecuencia fueron: *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus* y *Aspergillus parasiticus*.

Aislaron *Aspergillus fumigatus* de ambas salas, especie considerada inaceptable en ambientes internos, resultado coincidente al nuestro.

Directora y Toran⁴, mostraron que la media del número de hongos obtenidos fueron 12 UFC/h, 16 UFC/h y 1 UFC/h en un aula de la universidad, aula de un colegio primario y oficinas de un “edificio Inteligente” respectivamente. Los géneros identificados fueron *Penicillium*, *Mucor* y *Cladosporium*.

González y col⁷., en España en la atmósfera de las localidades de León identificaron como hongos más frecuentes a *Cladosporium* (73,6%), *Coprinus* (9,1%) y *Aspergillus-Penicillium* (7,7%), en Miranda de Ebro a *Cladosporium* (78,2%), *Fusarium* (6,1%) y *Coprinus* (5,4%), en Zamora a *Cladosporium* (86,9%), *Aspergillus-Penicillium* (2,7%) y *Alternaria* (2,6%). Observaron que la temperatura y humedad fueron los factores meteorológicos que influenciaron en la distribución de los hongos.

Sánchez⁸, como aeromicota en el ambiente interior de la Biblioteca Capítular de la Catedral de la Asunción de Jaén (España), identificaron a *Cladosporium cladosporioides* (Ascomycota) (51,5%), *Aspergillus* (5,7%) y el orden *Uredinales* (Basidiomycota) (6,2%), de los cuales las dos primeras, además de ser hongos descomponedores de una amplia variedad de sustratos, pueden resultar perjudiciales para la salud humana, provocando alergias cuando las cantidades son superiores a 3.000 esporas/m³, y los uredinales pueden ser un fitopatógeno muy extendido.

Daza y col²⁴., manifiestan que, en la actualidad los problemas de salud debido a un ambiente laboral inadecuado aumentan y por tanto el ausentismo en el trabajo. Gran cantidad de estos problemas son atribuidos a la contaminación medioambiental (Ochmański y Barabasz citado por Daza y col.²³). Un claro ejemplo es el Síndrome del Edificio Enfermo (SEE), conocido como un conjunto de síntomas diversos de origen multifactorial y de relación temporal positiva, experimentados por más de un 20% de los ocupantes de edificios no industriales, que mejoran e incluso pueden llegar a desaparecer cuando el afectado deja el edificio (Raad, citado por Daza y col.²³). De la misma forma,

Wolkoff, Kjaergaard citado por Daza y col²³., dicen que desde los años 80, hay una preocupación de la comunidad científica sobre los efectos en la salud provocados por la calidad del aire interior de los edificios ya que va en aumento. Se tiene conocimiento que las cefaleas, irritación de las mucosas, sensación de cansancio e incluso problemas de claustrofobia en trabajadores en espacios confinados son el resultado de este problema. Al parecer, estos síntomas tienen relación con el clima generado al interior de los inmuebles. Por ejemplo, la humedad relativa superior al 60 % puede influir en la calidad del aire y de esta manera aumentar la presencia de síntomas oculares y respiratorios, los cuales pueden agravarse durante la jornada de trabajo.

Marcó²⁵, citando a autores que usó como fuente de información, dice que existen más de 20.000 especies de hongos anemófilos que emiten esporas al aire a partir de sus formas vegetativas y pueden hallarse, tanto en el aire interior como exterior, una enorme cantidad de los propágulos fúngicos son trasladados por el viento. Las esporas de los hongos son partículas con tamaños que oscilan entre 2 a 30 μm , por lo que muchas de ellas pueden llegar a los alvéolos pulmonares. Su presencia va estar supeditado a las variaciones estacionales generalmente de verano y otoño, la gran persistencia de las esporas en ambientes exteriores e interiores y su reflatamiento por las corrientes de aire y la movilización de objetos probablemente genere alternativas perennes de exposición aerógena, sobre todo cuando las concentraciones son abundantes.

Sánchez y Almaguer²⁶, citan a Almaguer y col., Aira y col., Docampo y col., Fairs y col., Rojas y col. para manifestar que numerosos autores han demostrado que los géneros *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Penicillium* son los más comunes, y su concentración en el aire varía dependiendo de factores biológicos, climáticos como la temperatura, humedad y precipitación o físicos como el movimiento de la atmósfera, turbulencia y calentamiento. Las esporas de *Cladosporium* son las más abundantes en el exterior de la mayoría de las latitudes y en latitudes bajas de clima tropical, tienden a aparecer fuera del período estival, las esporas de *Aspergillus* y *Penicillium* están ampliamente representadas en el aire. *Aspergillus* libera grandes cantidades de conidios al aire a partir de los conidióforos que se proyectan desde el micelio y debido a su pequeño tamaño pueden permanecer en suspensión en el ambiente durante un largo período de tiempo, aumentando la probabilidad de ser inhalados.

Finalmente, coincidimos con Daza y col²⁴., cuando manifiestan que, nos queda la tarea de estructurar programas de prevención, promoción y saneamiento integral, que incluyan inspecciones periódicas a estructuras, sistemas de aireación y ambientes exteriores, análisis microbiológico del aire al interior, identificando géneros frecuentes y la validación de instrumentos que nos permitan tener mayor evidencia científica con respecto a la influencia de factores microbiológicos y la presencia del SEE (síndrome del edificio enfermo).

Molina y col²²., consideran que la gran cantidad de materiales como papeles, cartulinas, textiles, madera, cuero o materiales orgánicos en el ambiente, le dan las condiciones necesarias para que los hongos puedan desarrollar ya que cuentan con la maquinaria enzimática para degradarlos; producen esporas que se dispersan en el aire que penetran a los ambientes internos con las corrientes que se producen, apuntalan los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium*. Conservaplan, 1998; Instituto Canadiense de Conservación, 1999, citados por Borrego y Rodríguez²¹, mencionan que los altos valores de temperatura, humedad relativa, iluminación, contaminantes del aire como cloruros, azufre y polvo, así como una escasa ventilación, además de influir en el estado de conservación de los objetos de museo, crean condiciones para el desarrollo de los microorganismos sobre los diferentes soportes.

Bartra²⁷, considera que la exposición a los alérgenos fúngicos ocurre en espacios abiertos y cerrados, existen especies de hongos cuyo número supera cuando esta en ambiente externo que interno, como *Cladosporium* y *Alternaria*, mientras que *Penicillium* y *Aspergillus* prefieren los ambientes internos. Ellos esporulan y el número va variar con los momentos del día y las condiciones del ambiente. Probablemente, los hongos que fueron hallados en nuestro trabajo, sean incorporados desde el exterior al ambiente interno de las líneas de transporte.

Los hongos que pertenecen al género *Aspergillus*, son alérgenos comunes que provocan alergias tipos I y III. Puede producir bronconeumonías alérgicas, aspergilosis y sinusitis alérgica por hongos. Generador de potentes toxinas como aflatoxinas B1 y B2, gliotoxinas, fumigotoxinas, etcétera, que pueden causar infecciones oculares y aspergilosis. *Cladosporium*, es un alérgeno potente que produce alergias tipos I y III. Sus toxinas provocan serios efectos en el hombre como micosis severa. *Penicillium*, es un alérgeno común generador de alergias tipos I y III. Produce compuestos orgánicos volátiles que dan un fuerte olor a

moho y que resultan irritantes. Algunas especies pueden ocasionar infecciones al hombre, *Paecilomyces*, produce alergias tipos I y III. Sus toxinas provocan serios efectos en el hombre como micosis severa. *Nigrospora*, produce alergias tipos I y III (Crameri y col.; Horner y col. Citado por Molina y Borrego²²).

VI. CONCLUSIONES

1. Se han encontrado ambientes internos en las líneas de transporte urbano en un rango de contaminación que va desde niveles intermedios a altos, en la línea 20 se contaron 1496 ufc/m³, seguido de la línea 2 con 1176 ufc/m³, línea 14 con 1040 ufc/m³, línea 10 con 936 ufc/m³, entre las más contaminadas; las menos contaminadas fueron, la línea 13 con 480 ufc/m³, líneas 9 y 11 con 560 ufc/m³, el resto de las unidades presentaron una carga fúngica de 600 a 700 ufc/m³.
2. El hongo que mostro la mayor densidad relativa fue *Aspergillus* con 0.28, seguido de *Penicillium* con 0.27, *Rhizopus* con 0.18 y el resto con valores inferiores a 0.10.
3. De un total de 165 colonias de hongos filamentosos aislados, en orden de frecuencia, el 28% correspondió al género *Aspergillus*, 27% a *Penicillium*, 18% a *Rhizopus*, 12% a *Alternaria*, mientras que los géneros *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helmintosporium*, *Cephalosporium*, *Paecilomyces* y levaduras fueron identificados en menores porcentajes.

VII. RECOMENDACIONES

Con los datos obtenidos, los aciertos y desaciertos cometidos en el trabajo de investigación, recomiendo:

1. Desarrollar trabajos de investigación en contaminación fúngica ambiental de las líneas de transporte, comparando el método gravimétrico de Omelianski y técnicas que usan muestreadores succionadores de aire en volúmenes fijos.

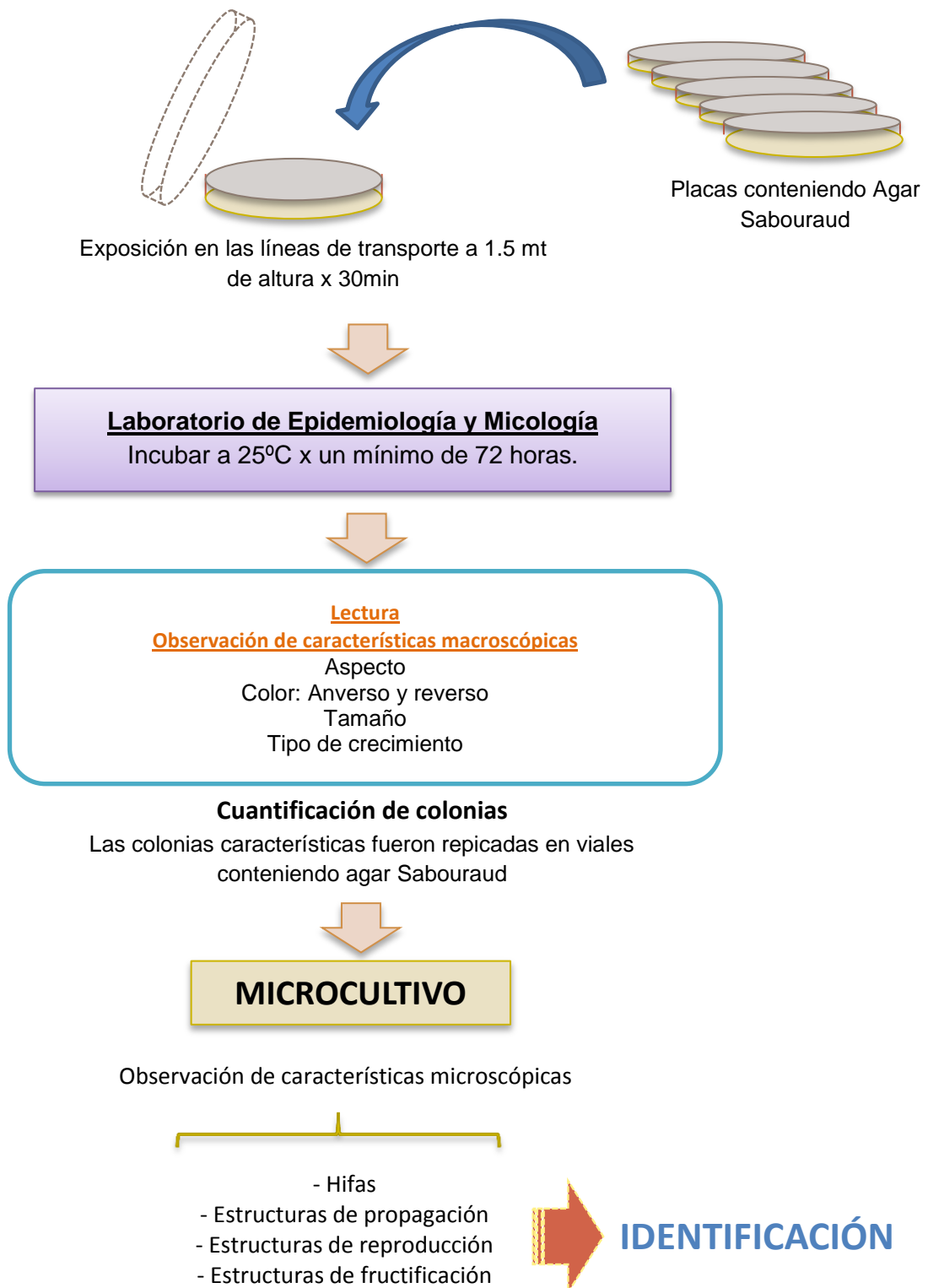
VIII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Sánchez K., Almaguer Michel. Aeromicrología y salud humana. Revista Cubana de Medicina Tropical. 66(3):322-337. 2014.
2. Figueroa L. Aislamiento de contaminantes aeromicrobiológicos en los ambientes de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Hermilio Valdizán de Huánuco. Tesis pre grado. Universidad Nacional Hermilio Valdizán. 2016. En URL. <http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/132904>
3. Fernández M, Cattana M, Rojas F, Sosa M de los A, Aguirre C, Vergara M, Giusiano G. Especies de *Aspergillus* en ambientes hospitalarios con pacientes pediátricos en estado crítico. Rev Iberoam Micol 2013; 31:176-81 - DOI: 10.1016/j.riam.2013.09.007
4. Directora AE, Toran J. Estudio de la calidad de aire en ambiente interior de posibles edificios enfermos. En URL. file:///D:/MARIA/2436-8522-1-PB.pdf.
5. Bustos I. Caracterización aeromicrobiológica de la atmósfera del parque natural de la sierra de hornachuelos, correlación con los parámetros meteorológicos. Tesis Universidad de Córdoba. España. En URL. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=69424>
6. Frisón LN, Colomba PS, Aríngoli EE, Basílico JC. Diversidad fúngica en ambientes de industrias alimentarias. Revista FABICIB. 16: 72-92, 2012.
7. González Z, Fuertes CR, De Castro S, Vega AM, Fernández D, Valencia RM. Análisis de esporas fúngicas alergénicas en la atmósfera de León, Miranda de Ebro y Zamora (España). Polen, 19: 31-47, 2009
8. Sánchez V. 2016. Estudio aerobiológico de las esporas fúngicas en interiores, influencia sobre la salud y procesos de biodeterioro. Trabajo de fin de grado. Facultad de experimentales. Universidad de Jaen-España.
9. Rojas TI, Martínez E, Alra MJ, Almaguer M. Aeromicrobiota de ambientes internos: Comparación de métodos de muestreo. Boletín Micológico Vol. 23: 67 – 73, 2008.
10. Monzón J., Goretta J. Aeromicrobiología, monitorean hongos en el aire de ambientes cerrados. Argentina investiga. Divulgación científica y noticias universitarias. En URL. <http://argentinainvestiga.edu.ar/noticia.php?&id=894>
11. Hernández A. NTP-409 Contaminantes Biológicos: Criterios de valoración "Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo" - Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. España 1999.
12. Bonifaz, A. Micología Médica Básica. 2012. Cuarta edición. Edit. McGrawHill. China.
13. Alexopoulos C, Mins C. 1985. Introducción a la Micología. 3era Edición. Editorial Omega S.A Barcelona España.
14. Arenas, R. 2008. Micología Médica Ilustrada. Tercera Edición. Editorial Interamericana. México.
15. Madigan M, Martinko J, Parker J. 2004. Biología de los Microorganismos. Edit. Prentice Hall. España.
16. Real Academia Española, "Diccionario de la lengua española", 22da edición. España 2008, disponible www.rae.es/rae.html.
17. Borjas G. 2013 "Análisis, diseño e Implementación de un Sistema de información para la Administración de horarios y rutas en empresas de transporte público" - Tesis para optar por el Título de Ingeniero Informático Pontificia Universidad católica del Perú.
18. Municipalidad Metropolitana de Lima, "Municipalidad de Lima", Municipalidad de Lima. Perú 2009, disponible <http://www.munlima.gob.pe>.
19. Ramírez, A. 1985. Ecología de la zona de vida en la Provincia de Huamanga. Revista de investigación de Biología UNSCH.

20. Moreno MH., Paxtor JA. Determinación de la contaminación del aire por hongos microscópicos en dos museos de la ciudad de Guatemala. Tesis para optar el título de Químico Biólogo. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala 2014.
http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3543.pdf
21. Borrego SF., Rodríguez JC. Caracterización micológica del ambiente aéreo del depósito de los fondos bibliográficos del Museo Nacional de Música. *Boletín del Archivo Nacional*, enero-diciembre 2013, pp. 48-60 ISSN 0864-0769, NÚMERO 21, ENERO-DICIEMBRE 2013, PP. 48-60.
<https://www.linkedin.com/in/sofia-borrego-alonso-71224639>
22. Molina A., Borrego S, Ortega D. Potencialidades biodeteriorantes y patogénicas de hongos anemófilos ambientales frecuentes en ambiente de archivos y museos cubanos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, Vol. 48, No. 3, pp. 069-080, septiembre-diciembre,2017.
23. Barnett HL, Hunter BB. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Fourth edition. Minneapolis, Minn: Burgess Publishing; 1998. The American Phytopathological society.
24. Daza MA, Martínez DX, Caro PA. Contaminación microbiológica del aire al interior y el síndrome del edificio enfermo. *Biociencias*. Volumen 10. Número 2, 37-50. Julio-diciembre 2015. Universidad Libre Seccional Barranquilla.
25. Marcó LN. 2014. Ambiente y Asma, ¿Qué hay más allá de la Alergia? Tesis presentada en la carrera de Doctorado Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de La Plata.
26. Sánchez KC, Almaguer M. aeromicología y salud humana. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2014;66(3):322-337.
27. Bartra T. Los hongos como alérgenos.
En URL. file:///C:/Users/yony/Downloads/25_Hongos.pdf
28. Godoy A. Aislamiento e identificación molecular de especies de levaduras No *Saccharomyces* presentes en uvas. 2013. Disponible desde:
<https://www.colibri.udelar.edu.uy/bitstream/123456789/1544/1/uy24-16718.pdf>
29. Ortiz E. Aislamiento, selección e identificación de levaduras enológicas nativas no *Saccharomyces* en viñedos establecidos en Querétaro. 2013. Disponible desde: <http://ri.uaq.mx/handle/123456789/1272>

ANEXOS

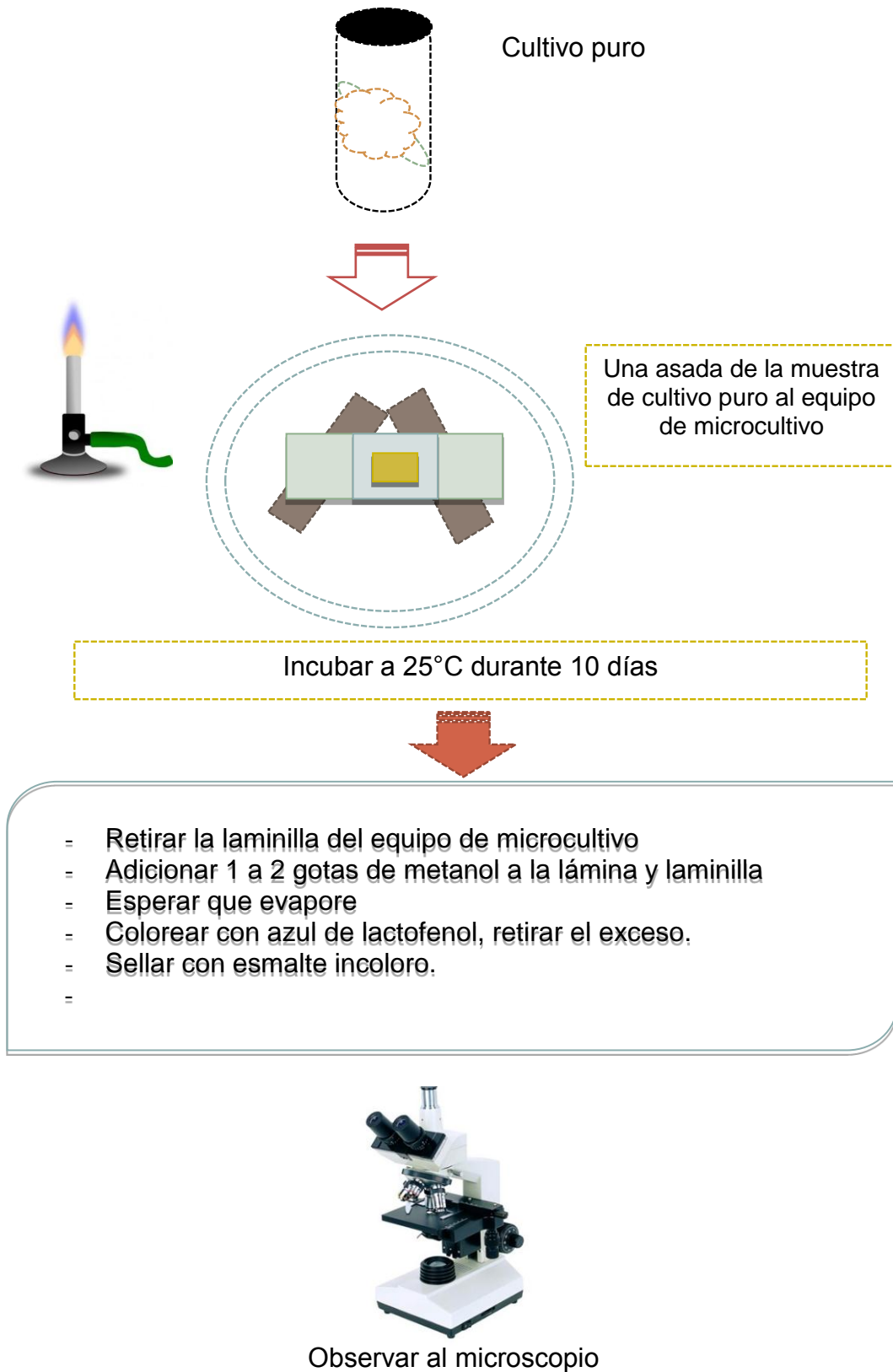
Anexo 1. Flujograma del trabajo



Anexo 2. Método de Omelianski

- Preparar el agar extracto de malta y NaCl (7,5 %) para el aislamiento de hongos y agar nutriente para bacterias.
- Agregar el medio a las placas Petri en condiciones estériles.
- Dejar solidificar
- Llevar las placas al lugar de estudio y colocarlas abiertas a 3 metros del suelo (exposición por 5 min.)
- Incubar las placas con agar extracto de malta expuestas durante 7 días a 28°C.
- Incubar las placas que contienen agar nutriente durante 5 días a 30°C.
- Observar el crecimiento.

Anexo 3. Flujograma de la técnica de Microcultivo



Anexo 4. Tabla de clasificación del grado de contaminación según a lo propuesto por Wanner y otros en 1993 (citado por Moreno y Paxtor 2014)

Grado de contaminación	Valor de UFC/m³
Muy baja	< 25
Baja	25 – 100
Intermedia	100 – 500
Alta	500 – 2000
Muy alta	> 2000

Anexo 5. Características macroscópicas y microscópicas de los géneros de hongos identificados.

Rhizopus sp.

- **Características macroscópicas de la colonia:**

Anverso: Tamaño ilimitado, tiende a llenar tubos y cajas de Petri; **color:** en un inicio (2 a 3 días) es blanco, tiempo después toma un color gris oscuro; **forma y aspecto:** vellosa-algodonosa y seca; **reverso:** no presenta pigmentos.

- **Micromorfología:**

Tipo de micelio: macrosifonado, de entre 5-10µm de diámetro, cenocítico (sin septos) y hialino; **modalidad de micelio:** presenta rizoides (raíces) y estolones; **reproducción anamórfica:** es a base de esporangiosporas o endosporas redondas que miden de 6-8µm de diámetro; **estructuras especializadas:** esporangióforos largos, que nunca se ramifican y tiene una columnela pequeña de forma ovoide; el esporangio llega a medir 100 a 200µm de diámetro; **fase teleomórfica:** zigosporas.

- **Taxonomía:** *Glomeromycota (antes Zygomycota), Mucorales, Mucoraceae, Rhizopus*¹².

Aspergillus sp.

- **Características macroscópicas de la colonia:**

Anverso: tamaño ilimitado, tiende a ocupar todo el medio; **color:** verde con un ligero halo blanco micelial (*Aspergillus clavatus*), verde amarillento, con un halo micelial blanco (*Aspergillus flavus*), al inicio (1 a 2 días) forma una colonia blanca amarillenta y luego se convierte en negra (*Aspergillus niger*), al inicio es blanca, para luego tornar un color beige o beige-café (*Aspergillus terreus*); **forma y aspecto:** plana, globulosa, polvosa, aterciopelada, seca; **reverso:** no presenta pigmentos.

- **Micromorfología:**

Tipo de micelio: el micelio nutritivo es macrosifonado, septado y hialino; el reproductivo es madrosifonado, por lo general no septado y hialino; **reproducción anamórfica:** microconidios redondos o elípticos; **estructuras especializadas:** la cabeza aspergilar mide de 150-250µm, compuesta por conidióforos largos, vesícula en forma de clava, de donde nace una serie de fialides o esterigmas; **fase teleomórfica:** no reportada.

- **Taxonomía:** *Ascomycota, Euretomyces, Eurotiomycetidae, Eurotiales, Trichoconaceae, Aspergillus sp*¹¹.

Fusarium sp.

- Características macroscópicas de la colonia:

Anverso: Tamaño ilimitado; **color:** a un inicio (1 a 3 días) es blanca, para tornarse en tonalidades naranja, café o violeta – lila (dependiendo de la especie); **forma y aspecto:** vellosa – seca, se adhiere a las paredes; **reverso:** presenta coloración naranja o violeta, difusible al medio.

- **Micromorfología:**

Tipo de micelio: microsifonado de 1-2 um de diámetro, septado y hialino; **modalidad de micelio:** las hifas se organizan en coremium; **reproducción anamórfica** base de macroconidios fusiformes de 5–8 um de largo por 1–2 um de ancho, y microconidios fusiformes de 1 – 3 um de largo por 1um de ancho; estos pueden variar en tamaño y forma dependiendo de la especie; **estructuras especializadas:** presenta conidióforos delgados que miden 5 - 10um de largo; **fase teleomórfica:** sean reportado en algunas especies.

- **Taxonomía:** *Ascomycotina, Euascomycetes, Fusarium*¹².

Penicillium sp.

- **Características macroscópicas de la colonia:**

Anverso: tamaño ilimitado, ocupa todo el medio de cultivo; **color:** verde, pero con halo blanquecino en la periferia; **forma y aspecto:** plana, polvosa, aterciopelada; **reverso:** la mayoría de las cepas no presentan pigmentos, algunas especies como *P. notatum* dan color café-ocre.

- **Micromorfología:**

Tipo de micelio: microfusionado (2-4 um), septado y hialino. **Reproducción anamórfica:** por microconidios redondos que miden entre 1-3 um; **estructuras especializadas:** presenta conidióforo de 5-10 um de largo y esterigmas, que dependiendo de la especie fluctúan entre 3-6 um; **fase teleomórfica:** la mayoría de las especies son mitosporicas; sin embargo, hay reportes de algunas formas ascosporadas.

- **Taxonomía:** *Ascomycota, Euteromyces, Euteromycetidae, Eurotiales, Trichocomaceae, Penicillium*¹².

Alternaria sp.

- **Características macroscópicas de la colonia:**

Anverso: tamaño ilimitado, tiende a cubrir todo el medio de cultivo; **color:** negro, con tonalidades café - oscuro; **forma y aspecto:** plana, aterciopelada, seca y en ocasiones la cubre un velo veloso blanco; **reverso:** presenta un pigmento café oscuro, que difunde al medio.

- **Micromorfología:**

Tipo de micelio: macrosifonado de 2-4 um de diámetro, septado y oscuro (café); **modalidad de micelio:** algunas cepas forman cuerpos nodulares.

Reproducción anamórfica: por dictioconidios o llamados también poroconidios que miden 10-20 um de largo por 5-8 um de ancho, dispuestas en cadenas; **fase teleomórfica:** no ha sido reportada; algunas especies dan ascosporas.

Taxonomía: *Ascomycota, Dothideomycetes, Pleosporales, Pleosporaceae, Alternaria*¹².

Taxonomía: *Ascomycota, Dothideomycetes, Pleosporales, Pleosporaceae, Alternaria*¹².

Cladosporium sp.

- Características macroscópicas de la colonia:

Anverso: tamaño ilimitado, cubre todo el medio de cultivo; **color:** verde oscuro; **forma y aspecto:** plana, seca, aterciopelada y con algunos surcos; **reverso:** presenta pigmento negro difuso al medio.

- **Micromorfología:**

Tipo de micelio: macrosifonado, de aproximadamente 2 a 4 um de diámetro, septado y oscuro (café-verdoso); **modalidad de micelio:** algunas cepas forman cuerpos nodulares. **Reproducción anamórfica:** por microconidios dispuestos en hormodendrum corto (2 y 3 unidades); **fase teleomórfica:** algunas especies presentan ascosporas.

Taxonomía: *Ascomycota, Dothideomycetes, Capnoidales, Davidiellaceae, Cladosporium*¹².

Helminthosporium sp.

- Características macroscópicas de la colonia:

Anverso: tamaño ilimitado; **color:** negro, con ciertas tonalidades café oscuras; **forma y aspecto:** plana, vellosa, seca, ligeramente aterciopelada y, en ocasiones, se cubre de un velo veloso blanco; **reverso:** presenta pigmento negro que difunde al medio.

- **Micromorfología:**

Tipo de micelio: macrosifonado (2-4 μm), tabicado y oscuro; **modalidad de micelio:** a veces presenta cuerpos nodulares. **Reproducción anamórfica:** a base de macroconidios alargados con ambos extremos romos, miden de 15-20 μm de largo por 3-5 μm de ancho y presentan varios septos o lóculos (3-5); **estructuras especializadas:** conidióforos cortos; **fase teleomórfica:** no se ha reportado.

- **Taxonomía:** *Ascomycota*, *Dothideomycetes*, *Pleosporales*, *Pleosporaceae*, *Helminthosporium*¹².

Levaduras

Una levadura es un hongo unicelular con un único núcleo que se reproduce de forma asexual por gemación y división transversal o por reproducción sexual mediante la formación de esporas. Cada yema que se separa puede crecer y convertirse en una nueva levadura, y algunas se agrupan para formar colonias²⁹.

La morfología de las levaduras puede determinarse mediante observación al microscopio óptico. Normalmente son ovales, esféricas o cilíndricas, con un diámetro promedio de 10 μm ²⁹.

No tienen flagelos, pero poseen la mayoría de los restantes orgánulos eucariotas. Presentan crecimiento cremoso o bacteriforme, es decir muchas colonias no se pueden distinguir a simple vista de las bacteria²⁹.

Las levaduras son capaces de crecer como anaerobios facultativos si disponen de oxígeno las levaduras realizan una respiración aeróbica para metabolizar los azúcares hasta dióxido de carbono y agua, si carecen de oxígeno fermentan azúcares produciendo etanol y dióxido de carbono. El rango de tolerancia de pH que tienen las levaduras va desde 2 hasta 8. Crecen generalmente a temperaturas en un rango de 0 °C a 50 °C, sin embargo, la mayoría tiene temperaturas óptimas de crecimiento entre los 20 °C y 30 °C³⁰.

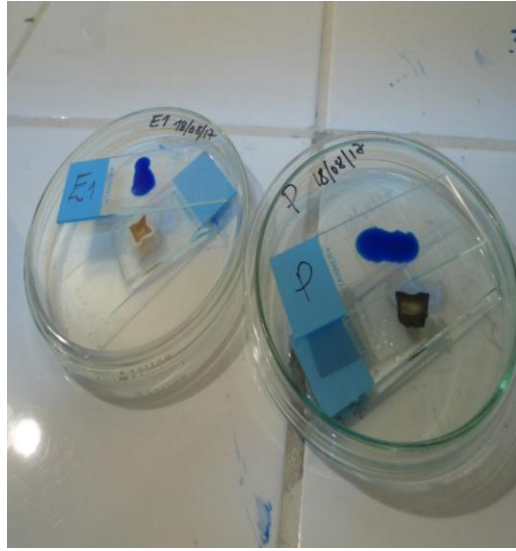
Anexo 6. Fotografías tomadas durante la realización del trabajo.



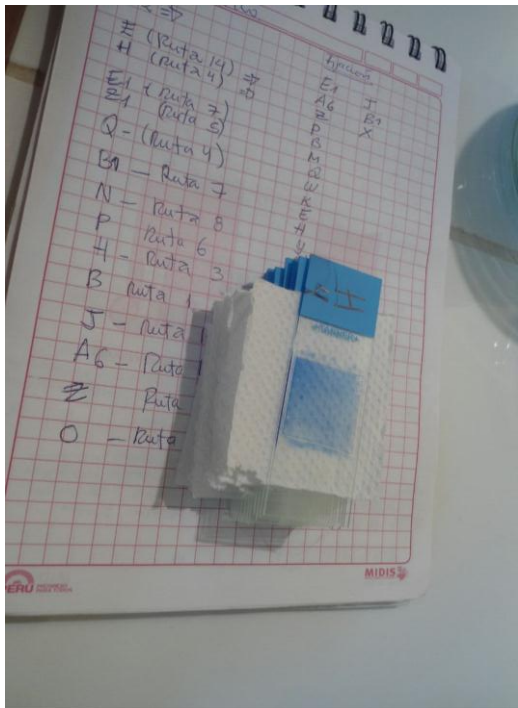
Fotografía 1 y 2. Las colonias características fueron repicadas en viales conteniendo agar Sabouraud (Cultivo puro) en los ambientes del Laboratorio de Epidemiología de la UNSCH.2017.



Fotografía 3 y 4. Realizando la técnica de microcultivo en los ambientes del Laboratorio de Epidemiología de la UNSCH.2017.



Fotografía 5 y 6. Incubación a T° ambiente x 10 días y coloración con azul de lactofenol.

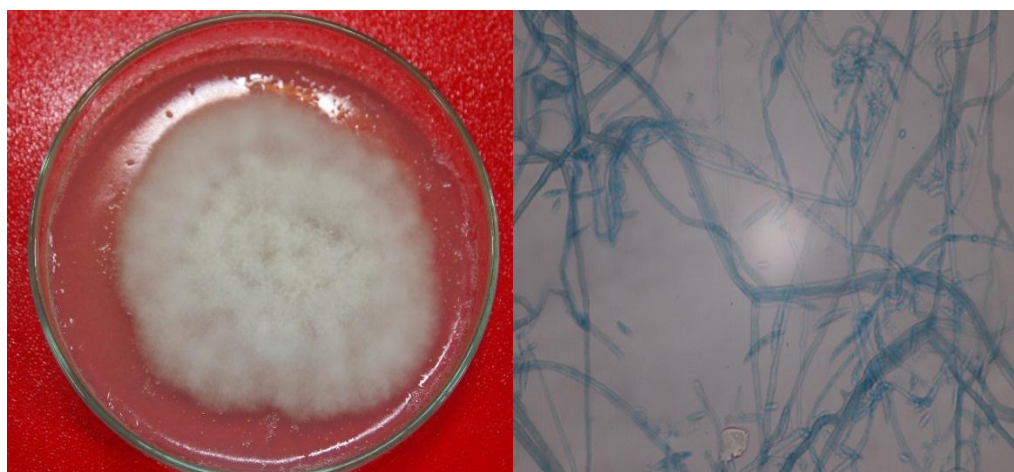


Fotografía 7 y 8. Retiro del exceso de colorante y sellado con esmalte de uñas incolora.

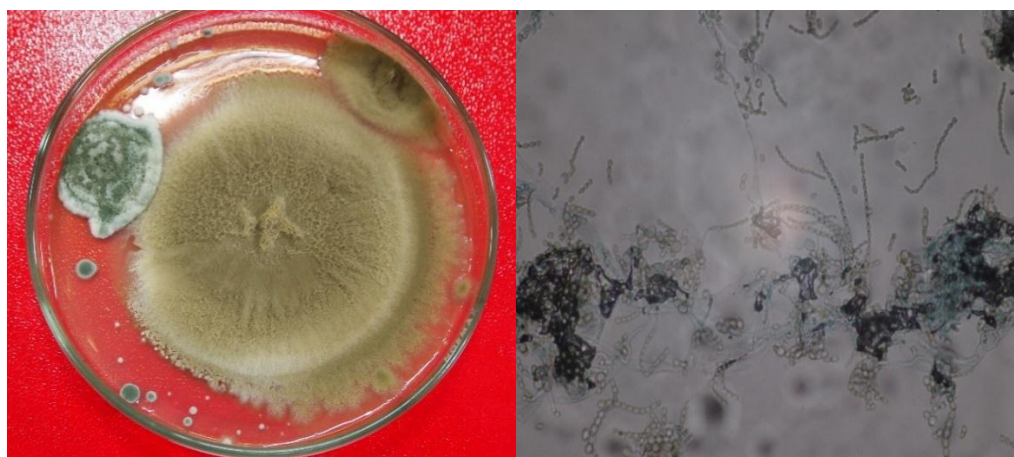
Anexo 7. Fotografías de los géneros de hongos encontrados



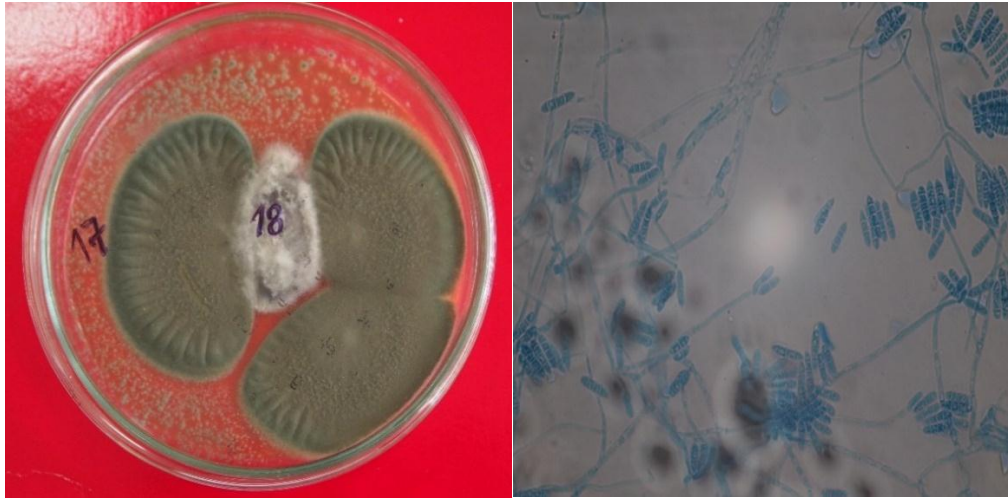
Fotografía 9 y 10. Vista macroscópica y microfotografía del género *Alternaria*.



Fotografía 11 y 12. Vista macroscópica y microfotografía del género *Fusarium*.



Fotografía 13 y 14. Vista macroscópica y microfotografía del género *Paecilomyces*.



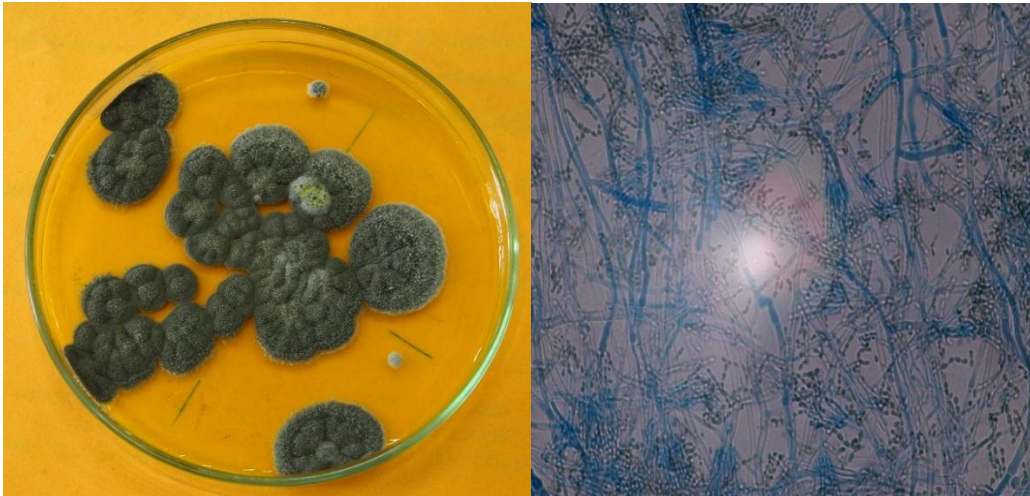
Fotografía 15 y 16. Vista macroscópica y microfotografía del género *Helminthosporium*



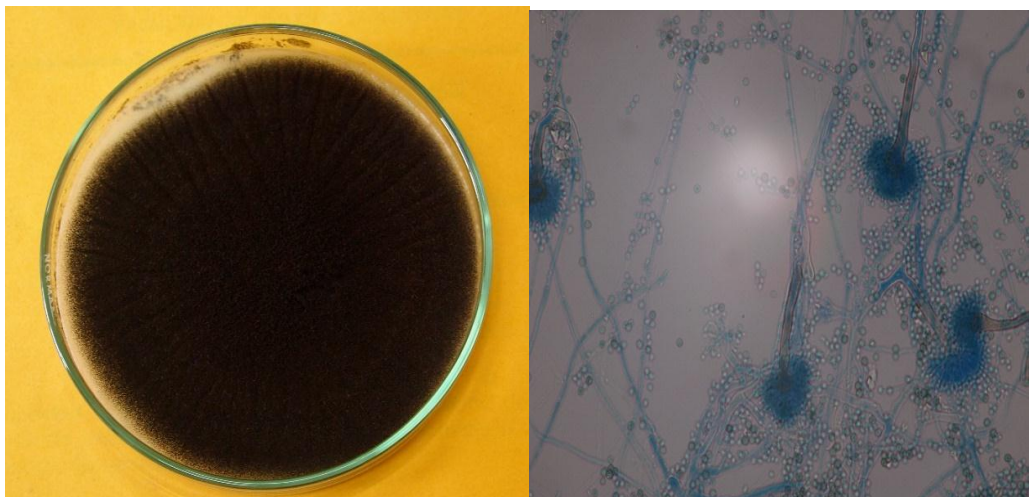
Fotografía 17 y 18. Vista macroscópica y microfotografía del género *Cephalosporium*.



Fotografía 19 y 20. Vista macroscópica y microfotografía género *Rhizopus* sp.



Fotografía 21 y 22. Vista macroscópica y microfotografía del género *Penicillium*.



Fotografía 23 y 24. Vista macroscópica y microfotografía del género *Aspergillus* sp.

Anexo 8. Matriz de Consistencia

Contaminación fúngica ambiental en las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho 2017.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLE	METODOLOGÍA
<p>Problema general</p> <p>➤ ¿Cómo es la contaminación fúngica en las unidades de transporte público de la ciudad de Huamanga, Ayacucho 2017?</p> <p>Problemas específicos</p> <p>➤ ¿Cuál es la cantidad de los contaminantes fúngicos en las unidades de transporte público de la ciudad de Huamanga, Ayacucho 2017?</p> <p>➤ ¿Cuál es la densidad relativa de los contaminantes fúngicos en las unidades de transporte público de la ciudad de Huamanga, Ayacucho 2017?</p> <p>➤ ¿Cuál es la frecuencia de los contaminantes fúngicos en las unidades de transporte público de la ciudad de Huamanga, Ayacucho 2017?</p>	<p>Objetivo general:</p> <p>➤ Describir los contaminantes fúngicos del ambiente interno de las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho 2017.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <p>➤ Determinar la carga fúngica del ambiente interno de las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho 2017.</p> <p>➤ Calcular la densidad relativa de los hongos aislados a partir del ambiente interno de las líneas de transporte urbano de la ciudad de Ayacucho.</p> <p>➤ Identificar el género de los contaminantes fúngicos del ambiente interno de las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho 2017.</p> <p>➤ Determinar la frecuencia de los contaminantes fúngicos del ambiente interno de las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho 2017.</p>	<p>Por ser un trabajo de investigación descriptivo, prescindirá de la hipótesis.</p>	<p>Variable principal Contaminación fúngica ambiental de las líneas de transporte: N° de colonias de hongos, densidad relativa, géneros de hongos.</p> <p>Variable secundaria Unidad de Análisis; Líneas de transporte (Número de línea de transporte)</p>	<p>Ubicación de la zona de estudio Las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho</p> <p>Tipo de estudio Descriptivo-No experimental</p> <p>Diseño de la investigación: Descriptivo simple M → O</p> <p>Definición de la muestra</p> <p>Población muestral 16 líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho</p> <p>Métodos para la recolección de datos</p> <p>Lugar de estudio: Líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho.</p> <p>Ubicación de los lugares y puntos de muestreo Los lugares de muestreo serán las líneas de transporte público urbano de la ciudad de Ayacucho. Se considerará 1 punto de muestreo por cada línea.</p> <p>Toma de muestra</p> <p>Técnica: Método gravimétrico de sedimentación en placa.</p> <p>Instrumento de recolección de datos: Agar Sabouraud</p> <p>Cuantificación de las Colonias: Identificación del género o especie por observación de las características macroscópica y microscópica.</p> <p>Cuantificación de las UFC/m³ Número de UFC/m³ de aire = N° de colonias x factor K, constante, con valores de 100 para placas Petri con diámetro de 8 cm y 80 para placas con diámetro de 9 cm.</p> <p>Densidad relativa D = número de colonias del género o especie/ número total de colonias x 100</p> <p>Ordenamiento de datos Los resultados se han ordenado en tablas y figuras porcentuales.</p>