

28  
2e)



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGO  
AREA DE CONTAMINACION

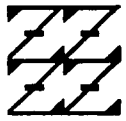
EVALUACION DE AEROALERGENOS EN AMBIENTES  
INTRAMUROS Y EXTRAMUROS DE PACIENTES  
ASMATICOS

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
B I O L O G O  
P R E S E N T A :  
MARTINEZ ROMERO LETICIA

DIRECTOR DE TESIS: DRA. IRMA AURORA ROSAS PEREZ  
CENTRO DE CIENCIAS DE LA  
ATMOSFERA

ASESOR INTERNO: M. EN C. JOSE LUIS MIGUEL CASTILLO  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES ZARAGOZA

U N A M  
F E S  
Z A R A G O Z A



LO HONRADO EJJE  
DE NUESTRA REFLEXION

México, D.F.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

1994



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

### AGRADECIMIENTOS

Agradezco muy especialmente a la Dra. Irma Rosas Pérez y a la Dra. Adela Rodríguez Romero, por haber aceptado la dirección de esta tesis, así como por las enseñanzas, apoyo y confianza recibidos durante la realización de la misma.

A la M. en C. María del Carmen Calderón Esquerro por su asesoría técnica y su valiosa colaboración en la revisión de éste trabajo.

A las biólogas Eva Salinas y Alma Yela, por su amistad y ayuda brindada en distintas formas para la realización de éste trabajo.

A los miembros del jurado:  
Q.F.B. Araceli García Del Valle.  
Biól. Roberto E. Balderas Ramírez.  
Biól. German Calva Vásquez.  
M. en C. José Luis Miguel Castillo.

por la revisión y sugerencias realizadas para la mejora de esta tesis.

Agradezco al Centro de Ciencias de la Atmósfera y al Instituto de Química por las facilidades brindadas en el uso de las instalaciones y equipo.

Al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias por facilitar el monitoreo de personas asmáticas.

A mis amigos de la facultad por compartir conmigo una parte de su vida.

Dedico este trabajo a la memoria de mi madre y a Cony.

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
OBJETIVOS.....	3
ANTECEDENTES.....	4
CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS DEUTEROMICETES	
Nivel de organización.....	6
Nutrición.....	6
Distribución.....	6
Reproducción.....	6
Liberación, dispersión y depositación de esporas.....	7
POLVO CASERO	
Composición.....	10
Alergenicidad del polvo casero.....	11
Determinación del poder alergeno con ensayos enzimáticos.....	12
Papel de las enzimas en la germinación de las esporas.....	13
Enzimas en ambientes ocupacionales.....	14
ASMA	
Definición.....	16
Diagnóstico clínico.....	16
Principales alérgenos.....	16
Estacionalidad del asma.....	16
Exposición.....	17
AREA DE ESTUDIO.....	18
METODO	
I TRABAJO DE CAMPO	
Muestreo de aire.....	20
Muestreo de polvo urbano y casero.....	20
Observaciones meteorológicas.....	20
II TRABAJO DE LABORATORIO	
1.Análisis microbiológico	
Muestras de aire.....	22
Muestras de suelo urbano y polvo casero.....	22
Aislamiento y determinación de hongos.....	22
2.Análisis bioquímico	
Extracción de proteínas.....	26
Determinación de actividad proteolítica.....	26
Cuantificación de proteínas totales.....	26
3.Análisis estadístico.....	29
RESULTADOS.....	30
DISCUSION.....	49
CONCLUSIONES.....	54
BIBLIOGRAFIA.....	55

## RESUMEN

Se realizó la caracterización micológica de la atmósfera extramuros e intramuros de viviendas de pacientes asmáticos durante la época de secas y de lluvias. Además de realizar un análisis cualitativo y cuantitativo de los propágulos fúngicos presentes en una de las principales fuentes de almacenamiento y/o producción de alérgenos, como lo es, el suelo urbano y el polvo casero. Se aplicó un ensayo enzimático, consistente en el registro de actividad proteolítica en las muestras de polvo casero, como indicadores de una parte constitutiva de los alérgenos. Así como la cuantificación de proteínas, cubriendo un total de 56 muestreos en la zona sur del Distrito Federal.

Los resultados mostraron que, los propágulos fúngicos del aire presentaron variación estacional tanto en extramuros como en intramuros, donde las concentraciones más elevadas se registraron durante la estación de secas en ambientes intramuros (mediana de 347 UFC/m<sup>3</sup>).

Las muestras de suelo urbano y polvo casero no presentan esta variación, sólo en el caso del polvo recolectado en la recámara, debido a la existencia de diferentes actividades realizadas dentro de las viviendas que influyen directamente sobre las concentraciones.

En ambos casos (aire y polvo) los promedios obtenidos superaron los registrados por otros autores, aunque no se encontró correlación entre ambos, esta se presenta con los propágulos fúngicos del aire de ambientes extramuros respecto a los de intramuros ( $r=0.622$ ), y las concentraciones registradas en el polvo colectado de la sala con respecto al de la recámara ( $r=0.422$ ).

Los géneros más frecuentes y abundantes aislados del aire y del polvo fueron: Cladosporium, Penicillium, Aspergillus y Alternaria.

Se registró la presencia de proteínas en el polvo casero, con concentraciones más elevadas en la recámara, además de la determinación de actividad enzimática, la cual se correlacionó con la concentración de Cladosporium.

## INTRODUCCION

La contaminación biológica en ambientes domésticos y laborales representa uno de los mayores problemas de salud. Esta situación ha originado que recientemente se desarrollen infraestructura y técnicas que permitan una mejor evaluación de los contaminantes biológicos en el aire o en el suelo, tanto en interiores como en exteriores, con el propósito de medir, controlar y si es posible disminuir o eliminarlos. Sin embargo, en la actualidad poco se conoce sobre los efectos en salud debidos a la exposición a dichos contaminantes (Santra and Chanda, 1989).

La calidad del aire de ambientes intramuros está siendo evaluada, considerando como contaminantes a los compuestos orgánicos volátiles (Molhave et al. 1986); la combustión de gases provenientes del suelo (Anon, 1985a, 1985b); el radón, formaldehído, material particulado menor o igual a 10  $\mu$ m (McGregor et al. 1985 a); bacterias tales como *Legionella* (Tobin et al., 1986), hongos y productos fúngicos (Verhoeff et al., 1990).

A partir de estudios epidemiológicos se ha asumido que una casa, una oficina o una fábrica representan un microambiente adecuado para el desarrollo y/o acumulación de microorganismos o sus propágulos, así como una fuente de exposición perenne de los mismos, pudiendo inducir efectos adversos a la salud del residente (Beaumont et al., 1985; Samson, 1985; Strachan, 1988; Waegemackers et al., 1989; Verhoeff et al., 1990; Flannigan et al., 1991; Reenen-Hoekstra et al., 1991)

Estos estudios señalan el predominio de hongos en casas, edificios y fabricas, los cuales pueden ser considerados como un importante factor causante de respuestas alérgicas (Schaffer et al., 1953; Richards, 1954; Colen and Var Arsdel, 1961; Gregory, 1973; Lumpkins, Corbit and Tiendman, 1973; Solomon, 1975; Ainsworth, 1976; Solomon, 1976; Hirsch and Sosman, 1976; Lumpkins and Corbit, 1976)

Algunos estudios enfocados a determinar la presencia de hongos en viviendas han enfatizado que su incidencia en el interior de la misma, es un reflejo de su abundancia en el exterior (Schaffer, op. cit.; Richards, op. cit.; Cole and Var Arsdel, op. cit.). Sin embargo, Wallace et al. (1950) y Swaebly and Christensen (1952) establecen que son diversos los hongos que se presentan en intramuros independientemente de su incidencia en extramuros. Por otra parte Hirsch y Sosman (1976) concluyen que no todos los hongos de importancia clínica varían con la estación o prevalencia en el exterior, y que las variaciones significativas cualitativas y cuantitativas de hongos en casa están asociadas con el alfombrado, cortinas, tapicerías, aire acondicionado, sistema de calefacción y animales domésticos (Saltos et al., 1982, Bernstein et al., 1983; Fergusson et al., 1984; Averno et al., 1985).

Debido a la gran diversidad de sustratos los cuales pueden servir como soporte para la acumulación, el desarrollo y/o la sobrevivencia de hongos y al número de distintos géneros los cuales podrían colonizar una habitación, Lumpkins et al., (1973) han concluido que muchas casas pueden ser colonizadas por un tipo de hongos totalmente diferentes al presente en el ambiente extramuros que lo rodea (Hirsch and Sosman, 1976).

El presente estudio es la parte inicial de un proyecto global entre el Centro de Ciencias de la Atmósfera, el Instituto de Química y el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, en el que se pretende tener mayor conocimiento sobre la ocurrencia de alérgenos cerca del paciente asmático.

Existe escasa información disponible sobre la actual exposición a propágulos fúngicos (específicamente del grupo de los Deuteromycetes, ya que son una de las principales fuentes de alérgenos) "dentro y fuera" de las viviendas. Para poder apreciar la distribución que estos presentan, se requiere llevar a cabo muestreos del aire y el polvo de la misma, así como una evaluación de las fuentes contaminantes del aire en intra y extramuros con el propósito de realizar su cuantificación y control.

Asimismo en la actualidad existe evidencia que sugiere que una de las causas importantes del asma se debe a la exposición crónica de individuos alérgicos a proteínas externas en casas (Platts-Mills, 1991). Las proteínas son una de las clases más abundantes y diversas de antígenos, a los cuales puede responder el sistema inmune, en relación a su inmunogenicidad y su permeabilidad. La evaluación de proteínas asociadas a partículas suspendidas en la atmósfera ha sido utilizada en ambientes extramuros e intramuros como un método para indicar un incremento en la concentración de alérgenos potenciales (Agarwal *et al.*, 1981; Twiggs *et al.*, 1982; Preller *et al.*, 1989). Muchas de estas proteínas reflejan su papel natural de enzimas con funciones aún desconocidas en el huésped pero actuando como potentes alérgenos (Platts-Mills, *op. cit.*).

En este estudio también se pretende la cuantificación de proteínas y la determinación de actividad enzimática proteolítica como indicadores del potencial alérgeno del polvo casero.

#### OBJETIVOS

- Evaluar cualitativa y cuantitativamente los propágulos fúngicos del grupo de los Deuteromycetes en muestras de aire y de polvo casero.

- Cuantificación de proteínas en muestras de polvo casero y determinación de actividades enzimáticas, esencialmente proteolíticas.

- Relacionar la variación de propágulos fúngicos registrados con respecto a las concentraciones de proteínas y actividades enzimáticas obtenidas.

## ANTECEDENTES

La importancia de los hongos alérgenos en la etiología del asma bronquial ha sido demostrada en diferentes partes del mundo por numerosos autores (Werff, 1958; Nakayama *et al.*, 1967; Ripe, 1962). La mayoría de los trabajos relacionados con las enfermedades originadas por la inhalación de esporas de hongos las asocian con exposiciones en ambientes extramuros o en ambientes laborales. Sin embargo, para las enfermedades alérgicas relacionadas con exposición en ambientes domésticos existen pocos reportes (EHPP, 1985). Algunos de estos estudios se han realizado en las casas de pacientes asmáticos (Oren and Baker, 1970; Lumpkins and Corbit, 1976; Levetin and Hurewitz, 1978; Bunnag *et al.*, 1982). En Europa Occidental, según Beaumont *et al.* (1985), un 5-10% de los pacientes con enfermedades crónico-obstructoras, muestran reacción positiva a hongos, así como a otros alérgenos inhalantes por ejemplo: polvo casero, polen y organismos tales como insectos y arácnidos.

Ya se han mencionado algunos de los trabajos enfocados al análisis cualitativo y cuantitativo de aeroalérgenos presentes en el ambiente de pacientes asmáticos, pero la gran mayoría de estos provienen del extranjero. En México se han realizado pocos estudios de aerobiología, Enrico Martínez a principios del siglo XVII manifiesta las malas condiciones higiénicas de la ciudad, pero prácticamente las investigaciones sobre contaminación del aire se inician hasta 1942, cuando el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales realiza un estudio sobre el aumento bacteriano en el aire por las tolvaneras.

Posteriormente González Ochoa y Orozco (1943) realizaron una exploración estacional y horaria de los hongos y su relación con algunos factores ambientales en la Ciudad de México.

Silva en 1962, emprende un estudio encaminado fundamentalmente al conocimiento sobre la forma de dispersión del polen y esporas de hongos en las distintas épocas del año en la Cuenca de México. En los primeros exámenes del material recolectado, advirtió la importancia para estudios sedimentológicos el transporte y depósito del polvo en general, finalizando su trabajo con una descripción de la naturaleza del polvo y la influencia que tienen los factores climáticos sobre ellos.

En 1981 López Martínez realizó un estudio sobre la variación estacional de hongos productores de alergias en el sur de la Ciudad de México, aislando un total de 14409 colonias de las cuales el 27% fueron señaladas como alérgenos, identificando 26 géneros.

En 1983 López Martínez *et al.* aislaron hongos productores de alergias en los mercados de la Ciudad de México, encontrando gran cantidad de especies patógenas de frutas y verduras, así como del hombre y los animales.

En 1986, Rosas *et al.* llevaron a cabo una investigación sobre los hongos presentes en la Ciudad de México a través del análisis del agua de lluvia colectada, registrando de 600 a 6000 colonias por ml de agua de lluvia apareciendo con mayor frecuencia hongos cosmopolitas como *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* y levaduras. En estos casos la abundancia estuvo relacionada con la velocidad del viento.



Rosas et al. en 1990 realizaron un estudio sobre la distribución diaria y estacional de esporas de hongos asociando dicha variación con la influencia de parámetros meteorológicos, encontrando altas concentraciones de esporas de hongos en el mes de Octubre, un mes de transición entre la estación de lluvias y la de secas. De este estudio se reconocieron tres géneros principalmente, Cladosporium, Alternaria y Penicillium.

En 1992 Rosas et al. determinaron la variación horaria y estacional de Aspergillus. Aunque no se observó una estacionalidad bien definida en las cuentas de hongos totales, Aspergillus presentó, en las primeras horas del día, las mayores concentraciones durante el período de secas, principalmente en el mes de abril y las concentraciones más bajas fueron detectadas en la estación de lluvias. Además se observó una correlación significativa con la presión de vapor y la temperatura de inversión. Se aislaron y determinaron 14 especies siendo las más abundantes A. niger, A. flavus y A. fumigatus.

En 1993, Rosas et al. muestrearon 3 localidades de la ciudad, las cuales difieren en índice de urbanización y grado de contaminación de aire, encontrando cuentas de hongos totales que van de 91-602 (zona Sur), 40-264 (centro) y 26-495 UFC/m<sup>3</sup> (norte). Aunque Penicillium es el segundo género más frecuente, su concentración fué pequeña, por lo que no representa un alérgeno de importancia en ambientes exteriores en la Ciudad de México.

También, Rosas et al. (1994, en prensa) realizaron un estudio cualitativo y cuantitativo sobre los microorganismos (bacterias y hongos) presentes en el aire de una estación de transferencia de desechos sólidos. Encontrando concentraciones promedio mayores de 6700 UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS POR METRO CUBICO DE AIRE MUESTREADO (UFC/m<sup>3</sup>) de bacterias totales, de las cuales 460 UFC/m<sup>3</sup> fuerón Gram negativas (Enterobacter y Salmonella) y con respecto a hongos, el promedio excedió las 4900 UFC/m<sup>3</sup>, de las cuales más del 75% corresponden al género Penicillium. Una gran proporción de las concentraciones medidas en esta estación excedieron los estándares establecidos indicando un alto grado de contaminación, así como un gran riesgo laboral.

Finalmente, en 1994 Rosas et al. (en prensa) determinaron la concentración de proteínas presentes en la atmósfera, asociadas a material particulado menor o igual a 10 µm (PM10) en tres zonas de la ciudad de México, encontrando que tanto el PM10, así como las proteínas muestran una estacionalidad ( $p < 0.05$ ) registrando las concentraciones máximas en la época de secas, además de presentar correlación significativa ( $r = 0.5$ ) entre sí. El peso molecular y el punto isoelectrico de las proteínas extractadas fue de 8000 a 106000 y de 4.0 a 5.85 respectivamente, características que coinciden con las de diversos alérgenos.

## CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS DEUTEROMICETES

**Nivel de organización.** La subdivisión Deuteromycotina comprende una gran cantidad de especies de hongos (unas 15000) cuyas características son las siguientes: Se trata de cuerpos vegetativos no fotosintéticos, unicelulares, coloniales o filamentosos, típicamente forman un micelio bien desarrollado, septado y ramificado, con los compartimientos o células generalmente multinucleados. Los septos de las hifas en la mayoría de las especies tienen un poro central que permite el paso de núcleos y organelos citoplasmáticos de un compartimiento a otro. Su pared celular contiene macromoléculas estructurales de quitina y celulosa junto con otros polisacáridos y cantidades específicas de proteínas y lípidos. Los polisacáridos contribuyen más del 80% de el peso seco de sus células.

**Nutrición.** En contraste con las bacterias y las algas, son completamente heterotróficos. Su demanda de alimento cubre un amplio espectro de material orgánico: Desde vegetales o animales vivos (hongos parásitos) hasta organismos muertos y materiales tales como celulosa, pintura o diversos productos almacenados. Debido a la variedad de su capacidad enzimática específica, los hongos juegan un papel importante en la naturaleza, en el proceso de reciclamiento biológico por degradación de material orgánico a compuestos más simples.

**Distribución.** En la naturaleza, el objetivo primordial de los hongos es como el de todos los otros organismos, esencialmente sobrevivir y reproducirse. Estos objetivos son realizados gracias a su adaptación a los ambientes en los cuales viven y por la competencia con otras especies y organismos. Por su versatilidad eco-nutricional son capaces de vivir y crecer en ambientes desfavorables, pudiendo crear u ocupar un nicho ecológico específico, e implementar diferentes estrategias de competencia ambiental, nutricional y ecológica.

Son capaces de desarrollarse a una humedad relativa (HR) menor que las bacterias y las algas. Su capacidad competitiva es mayor ya que responde a esporulación cuando la HR es baja. La HR mínima permitida para desarrollarse varía entre 75 y 95% para diferentes especies. Hongos xerófilos como Aspergillus y Penicillium pueden desarrollarse a menos de 75% HR debido a su capacidad de tomar agua atmosférica. Estos hongos son representados abundantemente en el polvo casero. Son principalmente mesofílicos (su temperatura óptima de crecimiento es de 20 a 40°C) aunque ciertas especies de Cladosporium son psicofílicos (óptima menor a 20°C) por lo que causa serios problemas en alimentos refrigerados. Aspergillus fumigatus pertenece al otro extremo, los hongos termotolerantes, los cuales se desarrollan a temperaturas por arriba de los 40°C, y juegan un papel importante en la economía como degradador de celulosa.

**Reproducción.** Una característica común de los Deuteromicetes es su rápido crecimiento y su ciclo de reproducción asexual o parasexual simple, que tiene como resultado la formación de grandes cantidades de conidios y esporas. Ya que aparentemente carecen de una fase de reproducción sexual, también llamada "perfecta", por lo común son denominados "hongos imperfectos", representando los

estados asexuales de Ascomicetes, o más raramente de Basidiomicetes, cuyos estados sexuales no han sido descubiertos o nunca han existido. Se reproducen por medio de esporas especiales conocidas como conidios, los cuales son esporas asexuales, no móviles, usualmente formada en el ápice o en la parte lateral de una célula fértil especializada llamada célula conidiógena, existe una inmensa variedad de tipos de conidios (sinema, esporodoquio, acérvulo, picnidio) en los cuales se encuentran las esporas (Herrera y Ulloa, 1990).

Gregory (1973) definió a las esporas como la parte especializada necesaria para la reproducción, sobrevivencia y dispersión de los hongos. Su tamaño va de las 2 - 200  $\mu\text{m}$ , pero la mayoría de ellas tiene alrededor de 10  $\mu\text{m}$  de diámetro. Estas son liberadas en altas concentraciones y pueden permanecer suspendidas en el aire por largo tiempo. Probablemente son el componente principal causa de diferentes tipos de alergias, puesto que pueden ser inhaladas y depositadas en una mucosa del tracto respiratorio. La espóra es separada del resto del cuerpo fructífero del hongo y caracterizada por su actividad metabólica mínima, bajo contenido de agua y carencia de movimientos citoplásmicos. En la espóra se mantiene un balance entre el ambiente y su respuesta a estímulos externos. Su pared puede ser dividida en una, dos o tres capas; la externa o exospóra la cual es una estructura de resistencia y protección, la capa media y una interna en donde se realiza la síntesis activa de los componentes de la pared, algunos de los componentes son condensados en la superficie y pueden ser relevantes por su reacción alérgica.

**Liberación, dispersión y deposición de esporas.** Pepys, (1980) manifiesta la importancia de estudios ambientales como complemento a la diagnosis y tratamiento del paciente alérgico, siendo esencial la comprensión de los mecanismos de liberación, dispersión y deposición final de las esporas.

El principal foco de crecimiento en la naturaleza es:

- a) El suelo: donde los hongos participan junto con bacterias y actinomicetos en el proceso de descomposición.
- b) Cualquier otro sustrato: la mayoría de las esporas para germinar requieren de una fuente de carbohidratos; otras, ricas en elementos orgánicos almacenados simplemente requieren de agua (Caretta, 1992). De aquí los hongos son liberados y dispersados a diferentes partes para su posterior germinación.

Existen una gran variedad de mecanismos de liberación, como son aquellos en donde las esporas son liberadas por presión, por movimientos higroscópicos, por mecanismos de "splash" de gotas de lluvia o por el viento. Los insectos, aves, roedores y mamíferos (animales domésticos tales como gatos y perros) juegan un papel importante en la dispersión y transporte de esporas, presentes en su pelo o excremento. Igualmente el hombre, sin conocimiento, ha propagado hongos, los cuales tienen un papel fundamental en la agricultura y en la industria de la fermentación entre otras.

Las esporas son capaces de sobrevivir y dispersarse gracias a una pared que las protege de la desecación y pigmentos que las hace menos vulnerables a la radiación ultravioleta en la atmósfera. Después de la liberación las esporas son transportadas por turbulencias y otros agentes de transporte a grandes distancias.

Finalmente son depositadas, en algunas ocasiones en el interior de viviendas junto con otras partículas de polvo y pueden ser resuspendidas por las diversas actividades interiores hasta llegar a un sustrato conveniente para su posterior germinación.

**CLASIFICACION:** REINO FUNGI (Herrera y Ulloa, 1990)  
 División Eumycota  
 Subdivisión Deuteromycotina  
 Clase Hyphomycetes  
 Orden Moniliales

Familia	Moniliaceae	Dematiaceae
Géneros	<u>Aspergillus</u>	<u>Cladosporium</u>
	<u>Penicillium</u>	<u>Alternaria</u>

**Cladosporium.**- Son colonias efusas u ocasionalmente puntiformes principalmente de color oliváceo, pero algunas veces grises, ante, café u oscuras. Aterciopelada, floccosa o filamentosa, micelio inmerso y frecuentemente superficial. Conidióforo recto o flexible, sin ramificaciones o con ramificaciones restringidas a la región apical formando un estipe y una cabeza simulando un árbol, de color café oliváceo o café, lisa o verrucosa. Células conidiógena poliblastica integrada, terminal o intercalar pero algunas veces discreta simpodial más o menos cilíndrica y cicatrizada. Productoras de conidios en sucesión acropétala por germinación apical o conidios catenulados muy frágiles con fragmentación rápida en unidades y algunas veces solitarios especialmente en especies con conidios largos. Conidios simples, cilíndricos, doliiforme, elipsoidal, fusiforme, ovoide, esférico o subesférico, frecuentemente con una cicatriz protuberante distintiva final o en la base, de color hialino o palido a café oliváceo oscuro, lisos, verrucosos o equinulados con 0-3 u ocasionalmente más septos.

Es uno de los géneros más abundantes en la naturaleza, vive como saprobio en el suelo de donde se aísla frecuentemente, aunque también se encuentra en el aire y en el agua, además es capaz de vivir como parásito de diversas plantas y también puede causar infecciones más o menos localizadas de piel y tejidos subcutáneos en el hombre.

**Penicillium.**- Es un género caracterizado por la producción de conidios en cadenas de verticilos de fiálides usualmente conspicuos más o menos erectos, algunas veces agregados en sinemas. Las fiálides pueden ser soportadas directamente en un estipe o en una, dos o raramente tres etapas compactas de células de soporte: métula y rami en este orden, con ramuli entre estos en algunas ocasiones, esta serie de brazos da una forma característica al género de forma de "escobilla o cepillo". Si las fiálides están unidas directamente en el ápice del conidioforo se denomina monovercillata, si existen ramas primarias o secundarias son bivercillata y terverticillata respectivamente. Fiálides típicamente en forma de frasco, hialinas, cuerpo conidial en largas cadenas, globoso a ovoide, algunas veces bacilar, hialinas o pigmentadas, usualmente verdes, lisas o rugosas.

Al igual que Aspergillus, Penicillium es una de los hongos más abundantes y de mayor distribución geográfica, sus esporas están en

el aire y en el suelo. Son tan cosmopolitas como los *Aspergillus*, proliferan en multitud de ambientes y se manifiestan en procesos biológicos que afectan la vida del hombre y de otros organismos ya sea para beneficiarla o perjudicarla. Algunas especies deterioran cítricos durante el transporte y almacenamiento, son también efectivos en el deterioro de piel, telas, semillas y granos almacenados, así como alimentos de toda clase además de muchos otros sustratos e igualmente incluyen especies que ocasionan micosis en humanos y animales. Otro aspecto importante es la producción industrial de antibióticos como son la penicilina y la griseofulvina, así como la producción de ácidos orgánicos como son el cítrico, oxálico, fumárico, glucónico y gálico.

**Aspergillus.**- Colonias efusas, varios colores, de verde o amarillento a café o negro. Micelio parcialmente inmerso y superficial. Caracterizado por la presencia de un conidióforo erecto hinchado en el apice formando una vesícula esférica cuya superficie está cubierta por brazos cortos o en algunas especies por fíalides. Células conidiógenas discretas, principalmente determinada ampuliforme o lageniforme, collarete algunas veces presente, conodio catenulado, seco, semi-endógeno o acrógeno, esférico de varios colores, liso o rugoso, verrucoso o equinulado y algunas veces con espinas arraigadas espiralmente sin septos.

Presenta una gran distribución geográfica encontrándose desde las regiones árticas hasta el Ecuador. Presente en el aire y el suelo de casi cualquier parte del mundo. Son los hongos más omnívoros que existen capaces de asimilar como alimento una gran variedad de sustancias, debido al gran número de enzimas que pueden producir para degradarlos. Con especies que se desarrollan en granos, semillas y alimentos en los que además de provocar su descomposición, producen sustancias tóxicas llamadas micotoxinas que afectan los distintos órganos y sistemas de los animales o humanos que las ingieren. Un ejemplo son las aflatoxinas con efecto carcinógeno, hepatóxico y nefrotóxico. También causan problemas como contaminantes de cultivos en laboratorios, algunas especies atacan piel, tela, papel, etc., y otras especies patógenas del hombre y de animales ocasionan enfermedades denominadas colectivamente aspergilosis.

**Alternaria.**- Colonias efusas, usualmente gris, café oscuro o negras, micelio todo inmerso o parcialmente superficial, hifas hialinas o café oliváceas. Conidióforos oscuros, septados, algunas veces inconspicuos, simple o ramificado. Conidio con una base redondeada amplia y un pico apical, solitarias o más frecuentemente producidas en sucesión acropétala con forma simple o cadenas ramificadas, muriforme, pigmentados, oscuras, ovaladas o subclavadas, lisos o rugosos, con varios septos transversales y pocos longitudinales.

Varias especies viven como saprobios en una multitud de medios, pero son más comunes en restos de plantas o plantas moribundas. Los conidios de estos hongos son de los más abundantes en el polvo de las casas y constituyen una de las principales causas fúngicas de alergias respiratorias, además de existir numerosas especies que parasitan plantas y semillas (Herrera y Ulloa, 1990; Raper and Fennel, 1977; Pitt, 1979; Domsch et al., 1980).

## POLVO CASERO

**Composición.** El polvo casero es una mezcla que incluye; partículas inorgánicas, restos de epidermis humana y de animales domésticos (perro, gato, rata etc.), fragmentos de polillas, coleópteros (cucarachas), arácnidos (ácaros), bacterias, granos de polen así como esporas de hongos, entre otros (Hyde, 1973).

Tabla 1. Alergenos específicos identificados en el polvo casero

FUENTE DEL ALERGENO	CONCENTRACIONES DEL ALERGENO EXTRAIDAS DEL POLVO CASERO
<u>Dermatophagoide pteronyssinus</u> Der p1	107 ng/ml > 10 µg/g 30 µg/g 50 µg/g
<u>Dermatophagoide farinae</u> Der f1	299 ng/g > 10 µg/g
Excretas de D. pteronyssinus	10 mg/ml
Gato doméstico Fel d1	50 U/ml 100 - 200 µg/ml < 0.1 µg/g a > 100 µg/g
Polen Lol p1 Amb a1	varios mg/ml

Se sabe que la mayoría de las sustancias alérgicas están presentes en el polvo que se acumula dentro de las casas. Muchos de los organismos que encontramos en él contribuyen aumentando el poder alérgico del polvo, en particular los ácaros, insectos, levaduras, esporas y polen que pueden ser introducidos por corrientes de aire de ambientes extramuros (Berrens, 1970; Bernton and Brown, 1970; Chapman and Platts-Mills, 1981; Chapman *et al.*, 1988; Chua *et al.*, 1988).

También dentro de las mismas viviendas los alérgenos son encontrados (Tabla 1) en las escamas de piel, saliva seca, excretas y constituyentes urinarios de insectos, arácnidos, mamíferos, aves, etc., contribuyendo sustancialmente a la carga alérgica en el ambiente personal de los individuos (Berrens, 1991).

**Alergenicidad del polvo casero.** En un estudio realizado en Inglaterra (Tovey, Chapman and Patts-Mill, 1981), del 5 al 10% de la población en general desarrolla alguna sintomatología al polvo (Tabla 2), y en muchas partes del mundo, más del 85% de pacientes con asma (extrínseca) muestra reacción cutánea con extractos de polvo.

Tabla 2. Porcentajes de asmáticos que reaccionan a un alergeno específico

FUENTE DEL ALERGENO	% DE ASMATICOS QUE REACCIONAN	LUGAR	CITA
Polvo casero	85	Varios	Chapman and Platts-Mills 1980, 1981.
Der p1	90	Inglaterra	"
"	80		Chua <i>et al</i> 1988.
Heces de cucaracha	41	Washington	Bernton and Brown 1970.
"	38	Nueva York	"
"	41	Colombia	"
Fel dI	20 - 30	Virginia	Chapman <i>et al</i> 1988.

Los alérgenos, en general, son proteínas solubles o glicoproteínas cuya peso molecular fluctúa de 20000 - 60000. El alérgeno Der p1 contiene galactosa, manosa, N-acetil-glucosamina y N-acetilgalactosamina, es abundante en el polvo y es producto de excreción asociado con partículas fecales >10µm su función es digestiva (Chapman and Platts-Mills, 1980).

Las heces del *Dermatophagoide pteronyssinus* tienen forma esférica y una superficie relativamente plana con un diámetro de 10-40µm, 1 nanogramo de alérgeno corresponde a una hez de 20µm de diámetro y se encuentran aproximadamente 250000 heces/g de polvo. Estas tienen propiedades físicas similares a los granos de polen y pueden ser muy efectivas en el transporte de proteínas a la mucosa nasal (Tovey *et al.*, 1981).

El alérgeno del gato doméstico Fel d1 es una proteína ácida de peso molecular de 36000 y puede ser aislada casi de cualquier extracto de polvo casero, encontrando la mayor concentración del alérgeno en la saliva del animal (Chapman *et al.*, 1988).

**Determinación del poder alergeno con ensayos enzimáticos.** Para identificar todos estos alérgenos diferentes se requirieron de técnicas inmunoquímicas basadas en la producción de anticuerpos de inmunoglobulinas tipo E (IgE) específicas para cada alérgeno, para lo que se requiere de numerosas muestras de suero sanguíneo de individuos alérgicos disponibles. Este requisito obstaculiza el desarrollo de medidas de control adecuadas para el ambiente alérgico de asmáticos (Berrens, 1991).

En un intento por cuantificar la contribución del llamado ácaro del polvo casero *D. pteronyssinus* y *D. farinae*, los cuales excretan alérgenos inhalantes altamente potentes para los humanos, se propuso la cuantificación de guanina como un producto de excreción nitrogenado en muestras de polvo (Tovey *et al.*, 1981; Thompson and Carswell, 1988; Platts-Mills and Deweck, 1989). La guanina es un nucleótido de bajo peso molecular, insoluble, producto de desecho de artrópodos, insectos, aves y mamíferos. El compuesto por sí mismo no posee actividad alérgica, sin embargo, su contribución al peso seco de materia orgánica del polvo casero nos da un índice de aproximación de la biomasa total de organismos que contribuyen al conjunto de componentes del polvo casero, sea alérgico o no. Sin embargo, estos resultados no fueron relevantes para evaluar el contenido de alérgenos en el polvo.

Recientemente se ha demostrado que los extractos de polvo casero contienen enzimas fibrinolíticas y posteriormente Berrens (1991) demostró que el ácaro del polvo casero contribuye sustancialmente a la actividad proteolítica de los extractos de polvo casero (proteasas serínicas y cisteínicas).

Aunque todos los extractos de polvo casero muestran una heterogeneidad significativa, regularmente siete enzimas están presentes (Tabla 3), las que pertenecen al grupo de las fosfatasa, esterasas y proteasas, aunque con diferencias importantes entre sí, debido a su fuente de origen (Bousquet, *et al.*, 1980).

En relación con las fuentes vegetales se ha demostrado que algunas enzimas que están presentes en los granos de polen son fosfatasa (fosfatasa ácida), proteasas (leucin-aminopeptidasa), glucidasas (β-glucosidasa) y lipasas. La actividad de la fosfatasa ácida fue escasamente detectable en extractos alérgicos de origen animal. En cambio se sabe que esta enzima abunda en plantas (incluyendo levaduras y hongos), siendo el polen una rica fuente de esta enzima. Bousquet *et al.* (1980) muestra una buena relación entre la IgE de suero sanguíneo de pacientes con polinosis y la actividad de la fosfatasa ácida en varias especies de polen inductoras de la fiebre del heno.

Del mismo modo, existe evidencia plena de que el polvo casero normalmente contiene un gran número de esporas de hongos viables. De un estudio realizado en 66 casas de Minnesota se encontró que el polvo casero contiene entre 10000 UFC/g y 1X10<sup>6</sup> UFC/g y en casos excepcionales hasta 3X10<sup>6</sup> UFC/g de las cuales la gran mayoría son *Aspergillus* y *Penicillium* (Hyde, 1973). Rimington (1970) establece que los hongos alérgenos se conectan, en alguna vía especial, con la alergia al polvo casero. Ellos establecen que algunas sustancias similares a los antígenos purificados del polvo casero, son



secretados por varias especies de hongos y aparentemente están relacionados porque siempre que se observa alergia a esporas de hongos también se observa alergia al polvo casero.

En relación al poder alergeno de hongos se ha demostrado que;

1) La fosfatasa alcalina, la leucina-aril-amidasa y la arginina-aril-amidasa está relacionada con la presencia de Alternaria.

2) las enzimas C-4 estearasa, a-glucosidasa, b-glucosaminidasa están relacionadas con Alternaria y Cladosporium.

Algunas de las actividades enzimáticas (proteolítica y de glucosidasa) se han relacionado con la presencia de hongos. En un extracto que contenga las siguientes enzimas: glicil-fenilalanina-arilamidasa, leucil-glicil-arilamidasa y L-seril-tirosine-arilamidasa, se puede inducir que existe una contribución significativa de hongos (Bousquet, *et al.*, 1980).

La principal ventaja de los ensayos enzimáticos para apreciar el potencial alergénico de muestras de polvo del ambiente, es que estos proveen una herramienta accesible para un monitoreo y seguimiento del efecto de las medidas de sanidad de las casas de pacientes alérgicos sin el uso de suero sanguíneo, así como un parámetro biológico del potencial alergénico del polvo.

**Papel de las enzimas en la germinación de las esporas.**  
Desafortunadamente, existe poca información disponible sobre los cambios químicos de las paredes celulares de esporas de hongos durante la germinación. Se sabe que las esporas contienen reservas de proteínas, lípidos, ácido fítico y azúcares. Las proteínas almacenadas son una fuente rica de aminoácidos disponibles para la síntesis de nuevas proteínas las cuales son imprescindibles como sustancias de germinación y para un desarrollo claro post-germinativo (Novak and Kohn, 1990).

Los análisis de esporas intactas muestran que éstas sufren un incremento en proteínas totales y carbohidratos (galactosa) durante el hinchamiento y brote del tubo germinativo, estas proteínas se encuentran almacenadas en estructuras denominadas vacuolas. El brote del tubo germinal involucra una digestión parcial de la pared realizada por la quitinasa y la b-glucanasa, así como por la actividad de varias clases de enzimas proteolíticas. por lo que un análisis de la composición de las paredes de las esporas muestran un descenso en el contenido de proteínas y galactosa (Cohen and DeMaggio, 1986)

Durante la esporogénesis se sintetizan proteasas, por lo que siempre que se trabaja con esporas se ha podido determinar actividad proteolítica. Todas las proteínas almacenadas son la fuente principal y única de nitrógeno durante la germinación. En todos los casos de ensayos enzimáticos en esporas se ha observado la presencia de proteasas. Los cambios en los niveles de proteínas solubles y de aminoácidos libres son detectados inmediatamente después del pico de actividad de proteasas, durante el intervalo en el cual se realiza la hidrólisis de cuerpos de proteínas (vacuolas). Estos cambios temporales, correlacionados con las actividades de proteasas, se observan durante el rompimiento y

movilización de reservas de proteínas almacenadas durante la germinación (Backhouse and Willetts, 1984; Cohen and DeMaggio, 1986).

Algunas de las enzimas que contienen las esporas de Microsporium gypseum son la proteasa alcalina, fosfodiesterasa alcalina, etil estearasa, b-1-3-D-glucanasa y la quitinasa. Se sabe que la proteasa alcalina esta implicada en la modificación de la cantidad de glicoproteínas insolubles.

Es necesario entender como las reservas de proteínas almacenadas dentro de las esporas son catabolizadas y como las concentraciones celulares de aminoácidos pueden ser reguladas por la actividad de proteasas

**Enzimas en ambientes ocupacionales.** Algunas enzimas de origen diferente son utilizadas en la industria alimenticia, química y farmacéutica entre otras. Estas sustancias son proteínas de alto peso molecular con actividad catalítica, las que se utilizan para una gran variedad de propósitos. Varias de estas enzimas son consideradas potentes alérgenos inhalantes capaces de sensibilizar a un gran número de individuos expuestos, principalmente en ambientes ocupacionales.

Los trabajadores de panaderías están expuestos a diferentes enzimas la mayoría de las cuales se derivan del género Aspergillus como son la a-amilasa, hemicelulasa, celulasa y glucoamilasa. Estas enzimas son agregadas comunmente a la harina utilizada en panaderías, ya que aceleran y economizan el proceso de fabricación. Tanto la amilasa que se extrae del acaro del polvo casero como la que se extrae de Aspergillus son alérgicas. La celulasa es una enzima que actúa hidrolizando la celulosa a glucosa, y aunque se encuentra distribuida en toda la biosfera esta estrechamente relacionada con contaminación por fuentes microbianas (Quirce et al., 1992).

Tabla 3. Actividad enzimática de extractos de polvo casero, hongos y heces de ácaros

	POLVO	+ HONGOS	+ ACARO
<b>FOSFATASAS</b>			
fosfatasa alcalina	8	6	10
fosfatasa ácida	4	2	7
fosfoamidasa	2	1	2
<b>ESTERASAS</b>			
C-4 esterasa	2	2	7
C-8 esterasa	0.5	0.5	2
<b>GLUSIDASAS</b>			
a-glusidasa	0	0	7
b-glusidasa	8	2	10
b-glucosaminidasa	0.5	0	10
<b>PROTEASAS</b>			
leucin aril amidasa	2	1	4
L-arginin aril amidasa	2	1	6
glicil-fenilalanina aril a.	1	0	4
glicil-prolin aril amidasa	3	2	6
leucil-glicin aril amidasa	0	0	2
L-seril-tirosin aril amidasa	0	0	2
N-CBZ-gly-gly-arg-aril a.	10	5	10

Tomada de Bousquet, (1980)

## ASMA

**Definición.** El asma es una alteración del árbol traqueobronquial que se caracteriza por una obstrucción reversible y recurrente de la vía aérea, esta hiperreactividad bronquial (HRB) es un hallazgo prácticamente universal en el asma y se puede definir como una respuesta bronco constrictora exagerada a diferentes estímulos (Baeza y Sienna, 1987). Clínicamente se manifiesta por tos, disnea paroxística y sibilancias en ocasiones audibles a distancia después de exponerse al polvo, gases, aire frío o ejercicio.

**Diagnóstico.** El diagnóstico del asma bronquial se realiza con base en la historia clínica del paciente, radiografía de torax para descartar otros padecimientos pulmonares, biometría hemática con eosinofilia marcada, determinación de gases respiratorios en sangre, aunados a las pruebas especiales de alérgenos, entre ellas, la prueba dérmica (prick test), determinación de IgE específicas (RAST), prueba de provocación o agresión bronquial por inhalación de alérgenos.

**Principales alérgenos.** Los alérgenos más abundantes y frecuentes son: heces de ácaros y de cucarachas, células epiteliales, pelo, saliva y constituyentes urinarios de mamíferos principalmente perros y gatos, polen, bacterias (endotoxinas) y esporas de hongos (micotoxinas), siendo el polvo casero el cúmulo de estos alérgenos. Además de innumerables productos caseros que emiten vapores irritantes, gases y olores como son; humo de cigarro, combustión de gas, petróleo, queroseno y madera, los olores emitidos de perfumes, lociones, desodorantes, velas e incienso, así como los olores de la pintura fresca o de numerosos químicos usados en muchos de los productos caseros. (Toriello, 1993; Jennings, 1982; Platts-Mills, 1991)

**Estacionalidad.** Muchos investigadores han citado aumento en la frecuencia de ataques asmáticos durante los meses de octubre y noviembre en el Hemisferio Norte (Booth *et al.*, 1965; Greenburg and Field, 1965; Greenburg *et al.*, 1965) y durante abril y mayo en el Hemisferio Sur (Derrick *et al.*, 1960; Derrick, 1965a, 1965b). Estos mismos autores, concluyen que la agudización de asma que se presentan en primavera y otoño en Brisbane están probablemente relacionados con alérgenos aéreos y tal vez sean propágulos fúngicos. Los hongos forman una parte importante de las aeropartículas viables, los cuales pueden variar cualitativa y cuantitativamente en el transcurso del día, de la estación del año y/o de acuerdo a las condiciones atmosféricas, o bien con la posición geográfica y la posición de una localidad con respecto a una fuente importante de esporas.

En un ambiente exterior los propágulos fúngicos están asociados primeramente a la vegetación, viva o en descomposición. Dentro de las viviendas estas fuentes son asociadas a vegetales almacenados y otros sustratos en los cuales las esporas se depositan y pueden germinar (Caretta, 1992).

Aunque las esporas de setas, royas y carbones causan reacciones alérgicas, los hongos más importantes como fuentes de

alergenos son los mohos saprofiticos, especialmente los del grupo Zigomicotina (Mucor y Rhizopus) y los Deuteromicetos (Cladosporium, Alternaria, Penicillium y Aspergillus).

**Exposición.** En México aproximadamente el 20% de la población son individuos atópicos y por consiguiente fácilmente sensibilizados por concentraciones usuales de esporas en el aire de  $1 \times 10^6$  UFC/m<sup>3</sup> de aire (Lacey, 1975). Sin embargo, también se reporta (Caretta, 1992) que la concentración umbral de aeroesporas capaces de causar síntomas alérgicos en el hombre es de 1200 UFC de Alternaria/m<sup>3</sup> de aire y 3000 UFC/m<sup>3</sup> de aire para Cladosporium. El resto de la población requiere exposiciones más severas de  $1 \times 10^6$ - $1 \times 10^9$  UFC/m<sup>3</sup>. En este último caso generalmente se debe a un sólo alergeno y la enfermedad es típicamente ocupacional (Lacey, 1975).

El diámetro de las esporas asociadas a la alergia inmediata es generalmente mayor de 5µm, mientras que aquellas asociadas a reacciones de respuesta retardada son en su mayoría más pequeñas, asegurando así una mayor penetración en el tracto respiratorio. Sin embargo, el tiempo de exposición y el tipo de spora inhalada son más importantes que el tamaño de la spora misma.

Debido a la presencia ubicua de los hongos en la naturaleza y la explotación industrial escalonada de éstos, se observan problemas de alergia ocupacional, así como fuentes de alergenos relacionados a hongos fuera y especialmente dentro de las viviendas (Toriello, 1993).

En México, un hallazgo interesante es que el máximo de incidencia de asma ocurre a finales de agosto y persiste hasta el mes de noviembre (Galindo et al. 1989). Esta incidencia se pretende relacionar con la abundancia de esporas de hongos en polvo casero de pacientes asmáticos.

## AREA DE ESTUDIO

La ciudad de México se ubica en la parte central del Eje Neovolcánico y ocupa la porción sudoccidental de la cuenca endorreica de México, sus límites son; al norte, oriente y poniente el Estado de México que prácticamente lo envuelven y al sur el Estado de Morelos. Esta localizada a 19°25'59" de latitud norte y a 99°07'58" de longitud oeste a una altura de 2240 msnm. Por la latitud a que se encuentra su clima es esencialmente tropical de montaña, aunque el calor característico de los trópicos está atemperado por la elevada altura de la cuenca de México. Durante la estación invernal la zona se encuentra bajo las influencias de masas de aire polar características de las regiones templadas ubicadas fuera de los trópicos. Así pues el clima de la Ciudad de México (como la mayor parte del país) esta determinado por los sistemas atmosféricos tropicales y templados, pudiéndose distinguir dos estaciones climáticas bien definidas; la época de secas de noviembre a abril y la estación lluviosa de mayo a octubre.

La época de secas presenta una alta incidencia de cielos despejados y períodos de aire en calma en niveles inferiores (los primeros 100 a 200 m), especialmente por la noche y la mañana. Las perturbaciones que en forma de ondulaciones (o vanguardas) viajan en el seno de la corriente aérea del oeste intensifican el viento a su paso por la cuenca de México, levantando en ocasiones altas y densas cortinas de polvo llamadas "tormentas secas" (Krumm, 1954), especialmente en la segunda mitad del período de secas, es decir de febrero a abril (Jauregui, 1971). Las nubes y polvo transportados por los vientos generales (que vienen del este) avanzan sobre la ciudad incrementando los niveles de contaminación durante horas. Al final de la estación, lo más frecuente es que las masas de aire polar continental que invaden la cuenca de México, sean lo bastante secas para ocasionar frío y viento con poca nubosidad.

Durante la estación de lluvias, comienza a cambiar la circulación atmosférica de invierno (a partir del mes de abril), como resultado del calentamiento gradual del Continente Norteamericano se debilitan los vientos del oeste sobre la cuenca, en estas condiciones comienza a disminuir la influencia del flujo anticiclónico de invierno, al mismo tiempo que aumenta el predominio de la corriente húmeda de los alisios. En plena estación de lluvias prevalece la corriente húmeda tropical de los alisios, esta situación propicia la formación de nubes convectivas que originan las lluvias torrenciales de verano especialmente hacia el sur y poniente (Jauregui, 1974).

Dentro del área de unos 450 km<sup>2</sup> que ocupa la ciudad de México se delimitan cinco zonas climáticas: zona centro, zona perimetral de transición, zona oriente, sur y poniente.

El área de estudio de este trabajo se ubica en la zona sur de la ciudad de México, dentro de las delegaciones de Tlalpan y Coyoacán. La zona sur comprende los suburbios del sur y suroeste, con baja densidad de fábricas. Hacia el poniente y sur predominan las construcciones con gran proporción de espacios abiertos y zonas

verdes. En el centro de esta región se encuentran los edificios de Ciudad Universitaria, con extensas zonas arboladas. Hacia el poniente de la villa olímpica se extiende también un amplio bosque de recreación, que incluye un parque zoológico que ocupa 137 ha. Ahí los niveles de contaminación son los más bajos de la ciudad. Es una región bien ventilada, más húmeda y con mayor frecuencia de nublados en la estación lluviosa. La precipitación es más abundante, (de 700 a 1100 mm) y las tempestades eléctricas intensas y más frecuentes. Por estar bastante alejada de las fuentes principales de polvo del centro de la planicie, esta región resulta la menos afectada por las tolvaneras de la estación seca. La amplitud de la oscilación térmica diaria, aunque es considerable, está atemperada por mayor humedad del aire. En resumen las condiciones climáticas de esta región son las más favorables del área urbana de la ciudad de México.

Los principales contaminantes atmosféricos, de acuerdo a datos de los Programas Delegacionales de Mejoramiento Ecológico son: dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), monóxido de carbono (CO), dióxido de azufre ( $\text{SO}_2$ ) y ozono ( $\text{O}_3$ ), producidos principalmente por vehículos automotores y otras fuentes fijas no evaluadas. El depósito de basura y excretas en arroyos y barrancas contribuyen a la contaminación tanto del ambiente como de las corrientes superficiales y subterráneas acuíferas. Las partículas suspendidas se constituyen de polvo y en menor porción de materia fecal.

Los sitios de colecta corresponden a 30 casas de pacientes asmáticos que fueron seleccionados para este estudio, localizadas en las delegaciones de Tlalpan y Coyoacán (Fig. 1). Los ocupantes de cada casa respondieron a una serie de preguntas sobre su salud en general y las condiciones de vivienda.

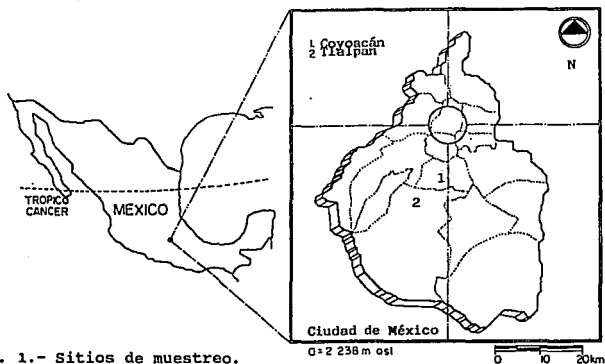


Fig. 1.- Sitios de muestreo.

## METODO

### I TRABAJO DE CAMPO

**Muestreos de aire.** El muestreo de propágulos fúngicos dispersos en el aire se realizó mediante un Muestreador Andersen para Partículas Viabiles modelo 10-800 (Andersen Sampler Inc., 1984) que consiste de dos placas metálicas a través de las cuales el aire muestreado es introducido consecutivamente por medio de una bomba de vacío que se ajustó para obtener una velocidad de flujo de 28.3 L/min. Cada placa metálica tiene 200 orificios cuyo diámetro es constante pero disminuye en la segunda placa y como consecuencia, la velocidad de flujo de aire es uniforme pero se incrementa en la segunda placa (Fig. 2). Debajo de cada placa se encuentra una caja de Petri con 27 ml de Agar Extracto de Malta (EMA) como medio general para la colecta de una primera muestra, y Dicloran 18% glicerol (DG18) como medio selectivo para aislar hongos xerofílicos en una segunda muestra (Hocking and Pitt, 1980).

El muestreador fue colocado en una torre de aluminio a una altura de 2 metros sobre el nivel del suelo (Fig. 2), siendo ésta la altura convenida en investigaciones aerobiológicas relacionadas con aspectos de salud para la caracterización y determinación de partículas potencialmente respirables, tanto en intramuros como en extramuros. El tiempo de muestreo fue de 15 minutos. Se llevaron a cabo un total de 56 muestreos, de los cuales 30 comprendieron el período de secas y 26 correspondientes al período de lluvias.

**Muestreo de suelo urbano y polvo casero.** Simultáneamente, el muestreo de polvo se realizó utilizando dos aspiradoras marca Volta modelo U-130 acondicionadas con mangueras de plástico desmontables para facilitar su limpieza y equipadas con bolsas colectoras asépticas (Fig. 2).

En suelos urbanos se muestreó una superficie de 1 m<sup>2</sup> durante 4 min, así como en intramuros sobre alfombras, tapetes y superficies en las que se acumulaba polvo. El polvo colectado fue tamizado (tamiz #100, 0.149µm de abertura de malla), y almacenado a 4°C.

**Observaciones meteorológicas.** Durante el tiempo de cada muestreo se registraron en extramuros los parámetros meteorológicos prevalecientes en el lugar. En la Tabla 4 se señalan los aparatos con los que se registró cada parámetro así como la observación de las condiciones atmosféricas como son visibilidad, tipo y porcentaje de nubes, presencia o ausencia de precipitación, etc. y en intramuros se registró temperatura y humedad.



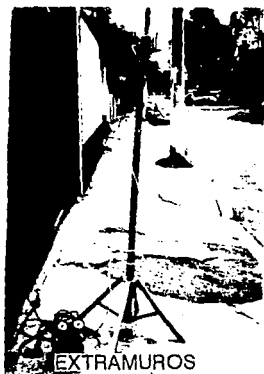


Fig. 2 Muestreador Andersen de 2 etapas y colecta de propágulos fúngicos del aire y del polvo

## II TRABAJO DE LABORATORIO

### 1.- Análisis microbiológico.

**Muestras de aire.** Una vez terminado cada muestreo, las cajas de Petri expuestas se incubaron a una temperatura de 25°C durante 72 horas. Después de este tiempo cada caja fué examinada, realizando una estimación cuantitativa de las colonias con la ayuda de un estereomicroscopio, Fig. 3 (Rosas *et al.*, 1990). El número de partículas viables se expresó como UFC/m<sup>3</sup>. Para su cálculo se considerando un factor de corrección definido como error de sobreposición en la cuenta microbiana aérea, basado en la probabilidad de que más de una partícula viable pase a través de un mismo orificio y se impacte en la superficie del medio, y que se expresa como:

$$C = N \ln (N/N-P)$$

donde: C = Cuenta corregida en el número de colonias por etapa.

N = Número de perforaciones en la placa (200).

P = Número de orificios positivos o colonias desarrolladas. (Andersen Sampler Inc., 1984)

**Muestras de suelo urbano y polvo casero.** Para la cuantificación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en suelo urbano y polvo casero se utilizó el método de dilución de placa (FAO, 1967; Cavender and Raper, 1965; Vardavakis, 1990). La dilución a utilizar para el aislamiento se determinó realizando una serie de pruebas con diluciones 0.1, 0.01 y 0.001, adicionando 50 mg de polvo tamizado a un tubo de ensaye con tapón de rosca con 10 ml de agua de dilución estéril, posteriormente se agitó vigorosamente durante 1 min y se prepararon de esta solución stock, las demás diluciones. Se tomaron alicuotas de 300 µl y se colocaron en cajas Petri con Agar Extracto de Malta (EMA) como medio general y con Dicloran 18% glicerol (DG18) como medio selectivo (Hocking and Pitt, 1980). Las cajas inoculadas se incubaron a 25°C respectivamente durante 72 hrs.

Una vez transcurrido el período de incubación se cuantificaron las UFC desarrolladas con la ayuda de un estereomicroscopio (Rosas *et al.*, 1990). Los resultados se reportaron como UFC/gramo de polvo muestreado (Fig. 3).

**Aislamiento y determinación de hongos.** Una vez cuantificadas las colonias se aislaron y fueron sometidas a repetidas resiembras para mantenerlas puras (cultivos axénicos). La determinación de los hongos fue a nivel de género, registrando las características macro y microscópicas con la ayuda de claves para su determinación, Fig 4a,b (Raper and Fennel, 1977; Pitt, 1979; Domsch *et al.*, 1980).

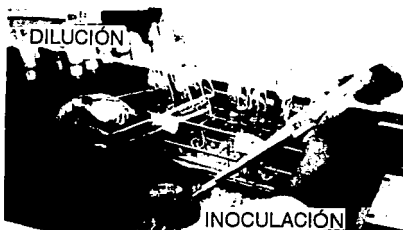
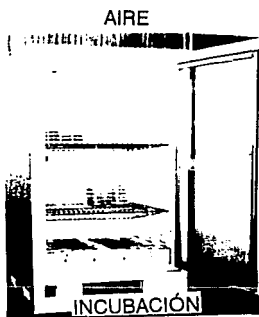


Fig. 3 Cuantificación de propágulos fúngicos del aire y del polvo

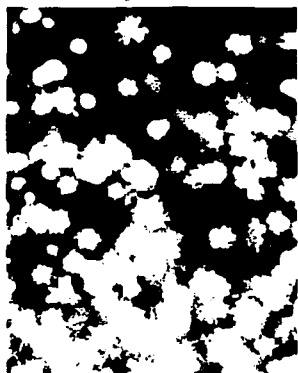


Fig. 4b E. Conidióforo de Aspergillus ochraceus cultivados en EMA a 25°C x 5. F. Cabeza conidial biseriada de Aspergillus ochraceus con conidios X 500. G. Colonia de Alternaria sp. cultivada en EMA a 25°C x 2. H. Dictiosporas (conidios) de Alternaria sp. x 340.

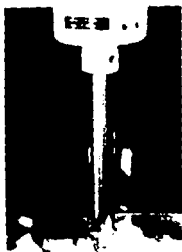
## 2.- Análisis Bioquímico del polvo.

**Extracción de proteínas.** Las muestras de polvo casero y suelo urbano recolectadas se sometieron a una extracción para determinar la presencia de actividad enzimática, principalmente de proteasas. Los extractos fueron preparados pesando 1 g de polvo tamizado, el cual fue sometido a una homogenización con un regulador de fosfatos 0.1 M a pH 7.1 con 0.9% de NaCl en un Ultraturrax (22000 rpm, 8 mín.). El tiempo de molienda de 30 seg por 30 seg de descanso en un baño de hielo. El extracto se centrifugó a 12,000 rpm durante 6 minutos en una microcentrifuga Eppendorf. El sobrenadante fue separado del precipitado y congelado para determinaciones posteriores (Fig. 5).

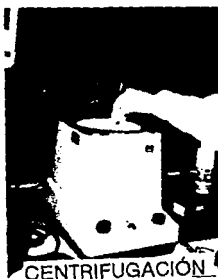
**Determinación de Actividad Proteolítica.** El método utilizado para determinar actividad proteolítica fue el de Rinderknecht et al. (1968) en el cual a 1 mg de cuero-azure (Hide Powder Azure) en 1.4 ml de amortiguador se adicionan 100  $\mu$ l de la solución conteniendo la proteasa. En este caso inmediatamente después de la extracción se llevo a cabo la determinación de actividad (Fig. 5). La mezcla de reacción se incubó a 37°C durante 18 horas, se filtró y se determinó la absorbancia a 600 nm, utilizando como testigo la misma cantidad de cuero-azure en 1.5 ml del amortiguador.

Este es un método muy sensible para la determinación de la actividad proteolítica, el cual está basado en el uso de un sustrato insoluble (polvo de cuero) al cual se ha unido covalentemente azul brillante de Remazol. La actividad es proporcional a la liberación del colorante, el que se mide a 600 nm.

**Cuantificación de Proteínas Totales por el Método de Lowry (1951).** Para realizar la cuantificación de proteínas 2 ml del extracto fueron dializados contra agua destilada utilizando una membrana del número 3 (Spectra/Por Membrane MWCO:3500) hasta dejar la muestra libre de sales, se tomaron alícuotas de 100  $\mu$ l y se cuantificaron las proteínas utilizando el método de Lowry, con la ayuda de un kit (Protein Assay Kit) Sigma Diagnostics St. Louis, USA. Este es un método colorimétrico utilizado en la cuantificación de proteínas solubles, en el cual los péptidos son tratados con tartrato cúprico alcalino formando un complejo. Después de 20 min se adicionó el reactivo de fenol de Folin y Ciocalteu que contiene un ingrediente activo muy inestable y que se descompone en solución alcalina (ácido fosfotúngstico fosfomolibdato) el cual lleva a cabo una reacción de reducción entre el ingrediente activo y la tirosina y el triptofano del péptido, dando como resultado la disociación del fosfomolibdato originando un color azul-púrpura. Después de 30 min se mide la absorbancia a 750 nm (Fig. 5) y se compara con una curva patrón para obtener la concentración (Fig. 6). Esta curva patrón fue elaborada con albúmina de bovino a diferentes concentraciones.



EXTRACCIÓN



CENTRIFUGACIÓN



DÍALISIS



MÉTODO DE LOWRY



INCUBACIÓN DE LA MEZCLA REACCIÓN



ESPECTROFOTOMETRÍA

Fig. 5 Método para la extracción de proteínas y determinación de actividad enzimática proteolítica

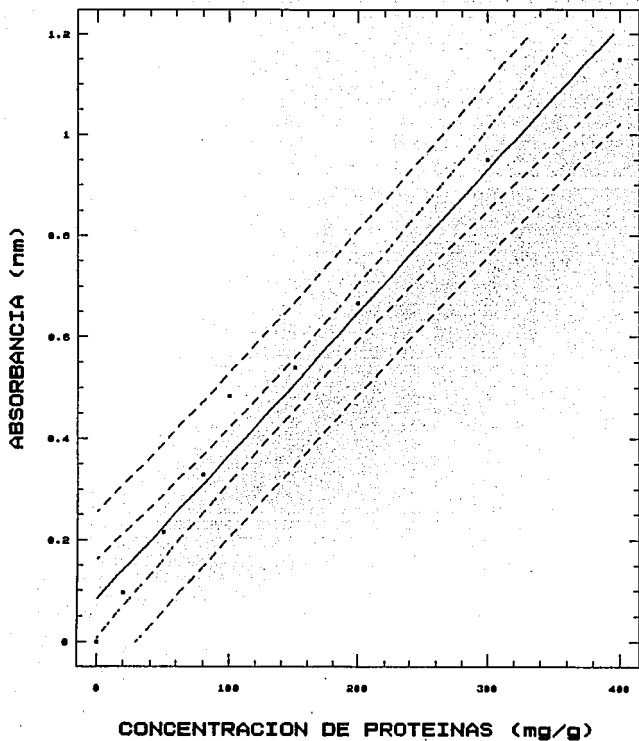


Fig. 6 Curva patrón para la determinación de proteínas por el método de Lowry, (1951).

### 3.- Análisis estadístico.

Se llevo a cabo el registro de las concentraciones mínimas y máximas de los propágulos fúngicos por m<sup>3</sup> de aire y por gramo de polvo muestreado, así como las diferencias significativas entre la época de secas y lluvias tanto en extramuros como en intramuros. Se obtuvieron sus frecuencias relativas de aparición, así como la correlación lineal entre la concentración de hongos aéreos y cada uno de los parámetros meteorológicos.

Se calculó la correlación lineal entre aire y polvo, así como la tasa de concentración Interior/Exterior de polvo y aire muestreado, y el Índice de Similitud con el criterio de heterogeneidad.

Finalmente los resultados de proteínas totales y actividad enzimática en las muestras de polvo se correlacionaron con la concentración de hongos totales, así como con cada uno de los géneros presentes.

Tabla 4.- Aparatos empleados para el registro de parámetros meteorológicos.

Parámetro	Aparato	Marca	Tiempo de Registro	EXTRAMUROS	INTRAMUROS
Temperatura	Psicrómetro de onda	Imperial Eastman de Méx.	2 veces	*	*
Húmedad atmosférica	Psicrómetro de onda	Imperial Eastman de Méx.	2 veces	*	*
Tipo y % de nubes			1 vez	*	-
Presencia de pp.			sí se presenta	*	-



## RESULTADOS

Al caracterizar micológicamente la atmósfera y el polvo de ambientes extramuros e intramuros donde habitan personas asmáticas se encontraron los siguiente resultados:

### Cuantificación de propágulos fúngicos cultivables.

**Aire.** Con respecto a los resultados obtenidos, en la tabla 5 se observan las medianas, modas y concentraciones máximas y mínimas de propágulos fúngicos colectados del aire durante los muestreos. En esta tabla se observa que existen diferencias significativas aplicando las pruebas estadísticas no paramétricas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney ( $p < 0.05$ ), entre las concentraciones obtenidas en la época de secas y las obtenidas en lluvias, del mismo modo se observaron diferencias significativas entre el ambiente extramuros y el intramuros obteniéndose las concentraciones más altas en este último durante el período de secas. La concentración mínima en el aire se registró en extramuros durante la temporada lluviosa (41 UFC/m<sup>3</sup>) y la máxima en secas en intramuros (4944 UFC/m<sup>3</sup>).

Es importante mencionar que más del 70% de los propágulos fúngicos fueron colectados en la etapa 2 del muestreador Andersen (etapa respirable) en ambos ambientes; en el exterior durante la época de secas el 72.5% correspondió a la etapa respirable y, en la de lluvias el 75.4%, para los muestreos realizados en intramuros en secas el 76.8% correspondió a la etapa respirable y el 82.47% en lluvias.

En la Fig. 7 se presentan las concentraciones de hongos totales colectados del aire en todos los muestreos con sus respectivas cajas de bloques para ilustrar las diferencias existentes ya antes mencionadas.

**Suelo urbano y polvo casero.** Con respecto a la cuantificación de propágulos fúngicos registrados para el suelo urbano y el polvo casero colectado de la sala y de la recámara (Tabla 6), podemos observar que de la misma forma que en los muestreos del aire existen diferencias significativas entre extramuros e intramuros encontrándose de igual manera en este último las concentraciones más elevadas específicamente en el polvo colectado de la recámara, el cual presenta también diferencias significativas entre la época de secas y de lluvias, pero a diferencia del aire las concentraciones más elevadas se presentan en el período de lluvias. La concentración mínima se observó en la temporada de lluvias en el suelo urbano (7000 UFC/g) y la máxima ( $31 \times 10^6$  de UFC/g) en esta misma temporada en el polvo colectado en la sala.

Las concentraciones registradas durante todos los muestreos del suelo urbano y polvo casero se observan en la Fig. 8, al igual que sus cajas de bloques, las cuales ilustran las concentraciones máximas y mínimas así como su distribución en percentiles 25, 50, 75 y 90.

### Heterogeneidad de propágulos fúngicos.

**Aire.** Con respecto a los principales géneros aislados se puede observar que las abundancias relativas para aire corresponden a los géneros citados por numerosos autores, como los más comunes en la atmósfera; estos son: Cladosporium, Penicillium, Aspergillus y Alternaria. La Fig. 9 muestran los porcentajes que estos presentan en ambas estaciones (secas y lluvias)

En esta podemos observar como Cladosporium además de ser el género más abundante en aire en extramuros lo es también en intramuros.

**Suelo urbano y polvo casero.** Encontramos que los géneros más abundantes son los mismos que se aislaron en el aire, Fig. 10 pero a diferencia del aire, Cladosporium va incrementando su abundancia en el polvo casero recolectado en la sala, hasta ocupar el 84% de las muestras totales.

**Relación aire y polvo.** La frecuencia relativa de aparición y la abundancia de los géneros encontrados tanto en aire como en polvo se presentan en la Fig. 11, la cual muestra como Cladosporium además de ser el género más frecuente, es también el más abundante tanto en intramuros como en extramuros, seguido por Penicillium con excepción del suelo urbano, aunque con concentraciones menores a las obtenidas por Cladosporium, pero con mayor diversidad de especies.

Como ya antes se mencionó, las concentraciones de propágulos fúngicos recolectados del aire muestran una diferencia significativa al comparar intramuros con extramuros, misma que se refleja cuando se trabaja con los géneros aislados más frecuentemente (Cladosporium, Penicillium, Aspergillus, y Alternaria) Fig. 12.

En los resultados de las muestras de suelo urbano y polvo casero, se observa diferencias en las concentraciones de Cladosporium, Penicillium y Aspergillus del polvo recolectado de la recámara, mientras que en el suelo urbano solo en Aspergillus y Alternaria se observan concentraciones mayores en la época de lluvias (Fig. 13).

Para tratar de relacionar las concentraciones de propágulos fúngicos obtenidas tanto en aire como en polvo (ambos intramuros y extramuros) se aplicó una correlación múltiple de Sperman, Tabla 7, en la cuál sólo se obtuvo correlación significativa entre la concentración de hongos registrada en el aire extramuros con respecto a la registrada para aire intramuros y la concentración encontrada en el polvo colectado en la sala con respecto al de la recámara.

### Parámetros meteorológicos.

Asimismo se trató de averiguar la influencia de los parámetros meteorológicos registrados en el tiempo del muestreo; la temperatura ambiente (Ta), la presión de vapor (e) y la humedad relativa (HR), sobre la concentración de propágulos fúngicos. Se dividió en ambiente extramuros e intramuros, para el primero (Tabla 8) observamos que sólo las concentraciones de propágulos fúngicos del aire, se correlacionan negativa con la temperatura ambiente y la presión de

vapor.

En lo que respecta a intramuros se observa la misma correlación negativa entre la concentración de hongos en el aire y la temperatura ambiente, la presión de vapor y la humedad relativa. Sin embargo, el polvo recolectado en la recámara se correlacionó positivamente con la temperatura ambiente, aunque dicha correlación fué baja se consideró significativa ( $p < 0.05$ ) Tabla 9.

En la figura 14 se presenta la distribución del porcentaje de la humedad relativa registrada en aquellos muestreos en los que se encontraron valores mayores a los de la mediana ( $200 \text{ UFC/m}^3$ ) tanto en aire intramuros como en aire extramuros. La frecuencia más alta se asoció con humedades relativas entre 40 y 50%, aunque en aire intramuros el intervalo se amplió hasta el 60% de humedad relativa. Un comportamiento similar se observó en los muestreos realizados en suelo urbano y polvo casero con una incidencia marcada en el intervalo de 50 a 60 % de HR (Fig. 15).

#### **Razón de propágulos fúngicos intra/extramuros.**

Para determinar la contribución de los ambientes extramuros a los ambientes intramuros se calculó la tasa de concentración ( $TC = C_{in}/C_{ex}$ ) en la que observamos que para los muestreos realizados en aire, en el 13% de las muestras las concentraciones de hongos dentro de las viviendas son iguales o menores a las concentraciones encontradas fuera, y en el 87% restantes se observa que dichas concentraciones pueden ser duplicadas, triplicadas o más dentro de las viviendas. Dependiendo del intervalo establecido para las tasas, en aquellos intervalos  $> 8.5$  (el 2% de las muestras) se puede hablar de una tasa de concentración muy elevada.

En las muestras de polvo casero se observa que del 32 al 35% de los muestreos del polvo colectado en sala y recámara respectivamente, no superan o son equivalentes a las registradas para el suelo urbano, pero del 10 al 12% son muestreos cuyas tasa están por arriba de 8.5 lo que indica concentraciones muy elevadas de propágulos fúngicos en el polvo de esas viviendas (Fig. 16).

#### **Cuantificación de proteínas y ensayo enzimático.**

Se cuantificó la concentración de proteínas totales en muestras de polvo casero, cuyas concentraciones van de 0.2 a 8.6 mg/g siendo más altas en el polvo recolectado en la recámara. De la misma manera se evaluó la actividad enzimática proteolítica, en donde los valores se encontraron en los límites de 0.2 a 8.9 U (U= la variación en la absorbancia de la muestra por el tiempo de incubación, entre la concentración de proteínas totales por el volumen de la alícuota de la mezcla reacción). En la figura 17, se observan las actividades registradas.

En la tabla 10 se presentan los valores de los coeficientes de correlación de Spearman entre la actividad enzimática y los géneros aislados, se presentó una tendencia positiva entre la actividad enzimática y la concentración de *Cladosporium* (Fig. 21) no se observó una correlación significativa debido al tamaño de la muestra, la cual es necesario incrementar. Se presentó una correlación significativa, pero negativamente con la concentración de proteínas totales.

Tabla 5. Variación estacional de las concentraciones de propágulos fúngicos registradas con el muestreador Andersen de 2 etapas.

	SECAS				LLUVIAS				D.SIGNIFICATIVA Z
	MED.	MOD.	MIN.	MAX.	MED.	MOD.	MIN.	MAX.	
	UFC/m3				UFC/m3				
AIRE									
EXTRAMUROS	237	285	110	720	73	68	41	194	* 3.1X10 <sup>-9</sup>
AIRE									
INTRAMUROS	347	343	99	4944	116	91	49	464	* 4.5X10 <sup>-8</sup>

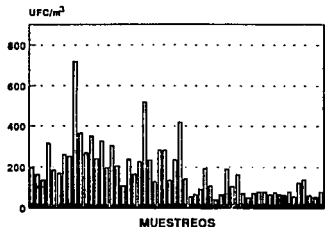
\*p≤0.05

Tabla 6. Variación estacional de las concentraciones de propágulos fúngicos registradas en el suelo urbano y el polvo casero.

	SECAS				LLUVIAS				D.SIGNIFICATIVA Z
	MED.	MOD.	MIN.	MAX.	MED.	MOD.	MIN.	MAX.	
	X10 <sup>3</sup> UFC/g				X10 <sup>3</sup> UFC/g				
SUELO									
URBANO	180	167	13	4000	193	107	7	2800	0.8501
POLVO									
SALA	122	54	26	8000	177	353	26	31000	0.1556
POLVO									
RECAMARA	138	300	18	2700	463	420	13	13000	*0.0114

\*p≤0.05

## AIRE EXTRAMUROS



## AIRE INTRAMUROS

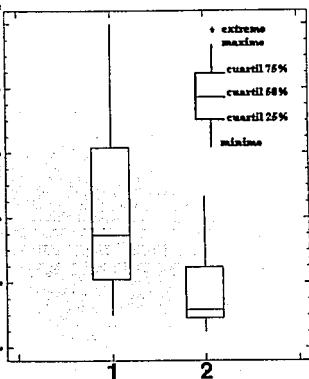
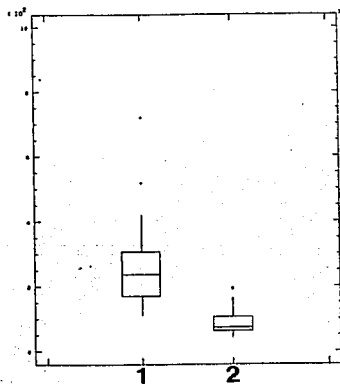
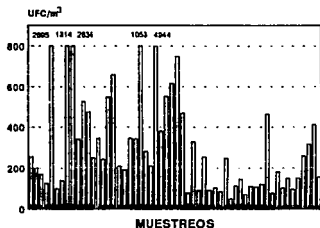


Fig. 7 Concentraciones de hongos totales en el aire durante la época de secas (1) y la época de lluvias (2)

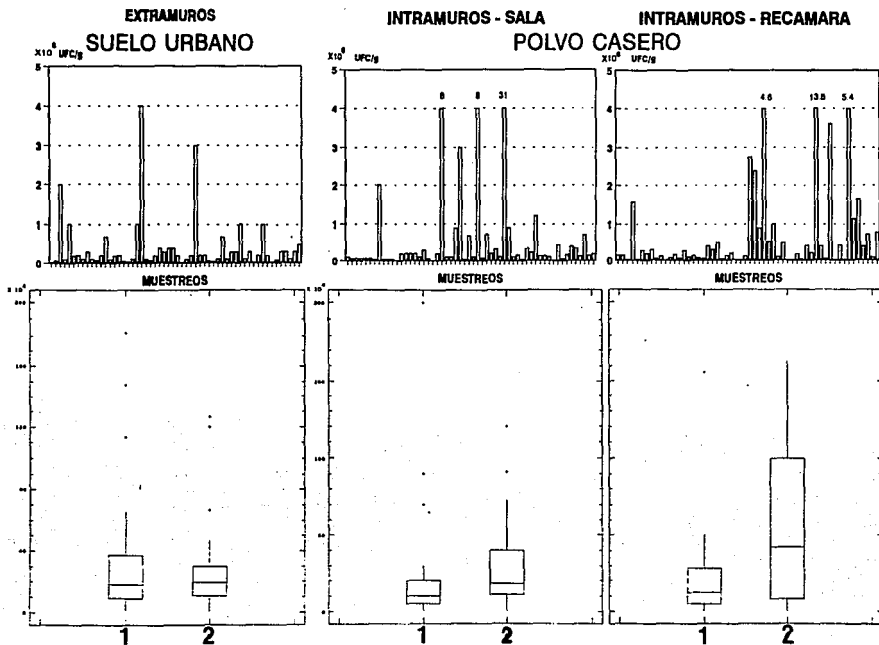


Fig. 8 Concentraciones de hongos totales en suelo urbano y polvo casero durante la época de secas (1) y la época de lluvias (2)

## AIRE EXTRAMUROS

## AIRE INTRAMUROS

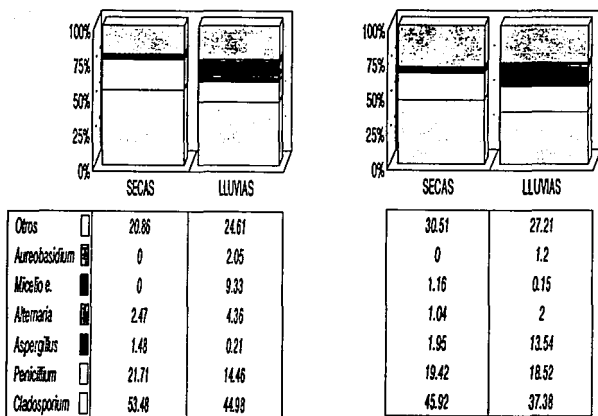
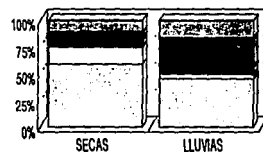
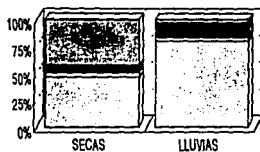
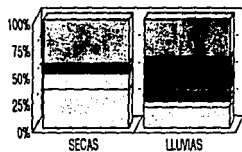


Fig. 9 Abundancia relativa de los géneros más comunes aislados del aire

SUELO URBANO

POLVO CASERO SALA

POLVO CASERO RECAMARA



Otros	41.55	35.1
Aureobesidium	6.47	13.37
Micelio e.	0	15.31
Alternaria	2.7	6.3
Aspergillus	0.2	6.34
Penicillium	15.71	5.52
Cladosporium	35.99	18.08

	42.56	3.06
	0.77	0.48
	1.43	2.44
	0.72	0.98
	3.46	9.3
	4.11	3.42
	48.95	80.27

	11	16.15
	5.44	1.04
	1.54	25.98
	0.61	0.5
	6.2	6.61
	16.2	4.24
	59.01	45.48

Fig. 10 Abundancia relativa de los géneros más comunes aislados del suelo urbano y el polvo casero



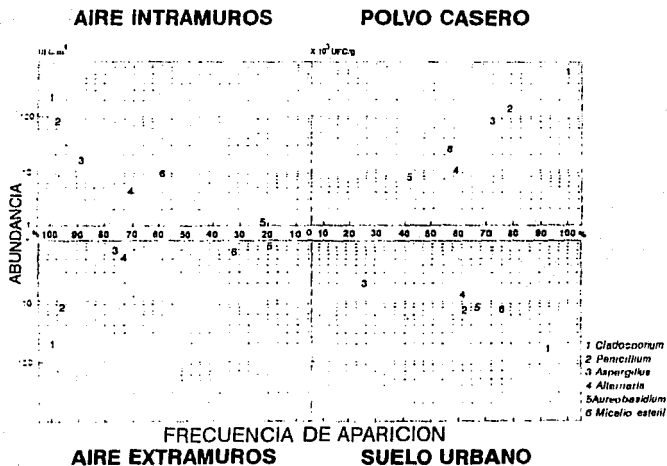


Fig. 11 Abundancia y frecuencia de aparición de los géneros aislados del aire y del polvo

Tabla 7. Correlación múltiple de Spearman entre la concentración de propágulos fúngicos registradas en aire y las registradas en suelo urbano y polvo casero.

	HONGOS TOT. POLVO SALA	HONGOS TOT. POLVO RECA.	HONGOS TOT. AIRE EXTRA.	HONGOS TOT. AIRE INTRA.
HONGOS TOT. SUELO URBANO	0.0077	-0.0281	-0.0033	0.0358
HONGOS TOT. POLVO SALA	-	0.4226 *	-0.2392	-0.0118
HONGOS TOT. POLVO RECA.	-	-	-0.2760	-0.1352
HONGOS TOT. AIRE EXTRA.	-	-	-	0.6223 *

\*  $p \leq 0.05$

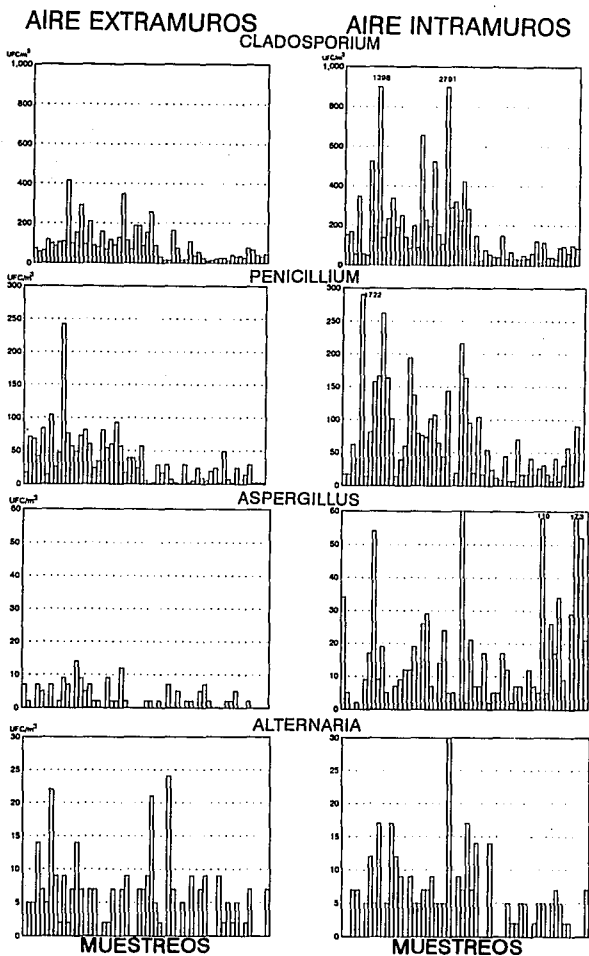


Fig. 12 Variación de las concentraciones de los géneros más frecuentes y abundantes en el aire durante el período de muestreo

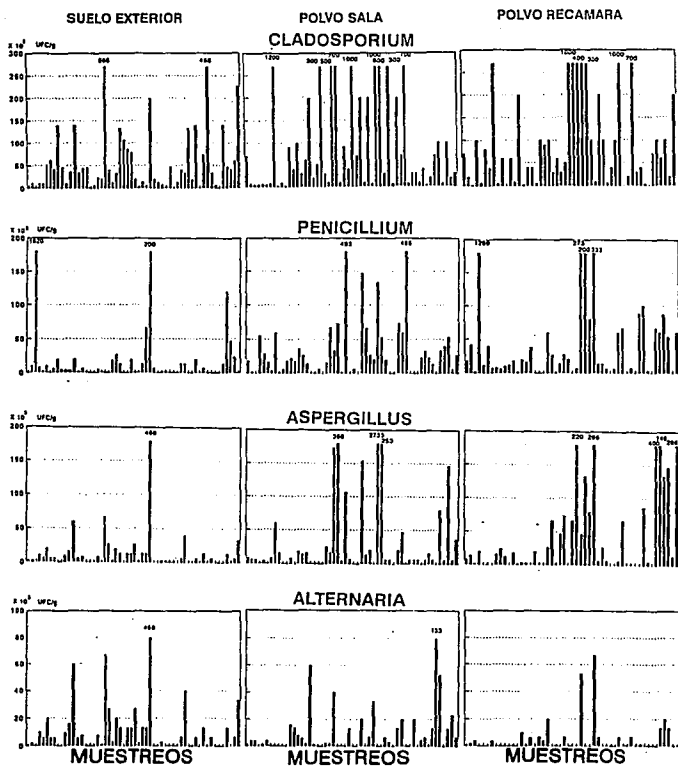


Fig. 13 Variación de las concentraciones de los géneros más frecuentes y abundantes en el suelo urbano y el polvo casero durante el período de muestreo

Tabla 8. Correlación múltiple de Spearman entre las concentraciones de propágulos fúngicos del aire (UFC/m<sup>3</sup>) y del suelo urbano (UFC/g) y los parámetros meteorológicos de ambientes EXTRAMUROS.

	Ta (°C)	e (mb)	HR (%)
SUELO URBANO	-0.1161	-0.0763	0.0066
AIRE	-0.3572 *	-0.7233 *	-0.2367

\*p≤0.05

Tabla 9. Correlación múltiple de Spearman entre la concentración de propágulos fúngicos tanto en aire (UFC/m<sup>3</sup>) como en polvo (UFC/g) y los parámetros meteorológicos en ambientes INTRAMUROS.

	Ta (°C)	e (mb)	HR (%)
POLVO SALA	0.2253	0.2385	0.1198
POLVO RECAMARA	0.2798 *	0.1685	-0.0094
AIRE	-0.3595 *	-0.4464 *	-0.3378 *

\*p≤0.05

Ta=Temperatura ambiente

e=Presión de vapor

HR=Humedad relativa

### AIRE EXTRAMUROS

### AIRE INTRAMUROS

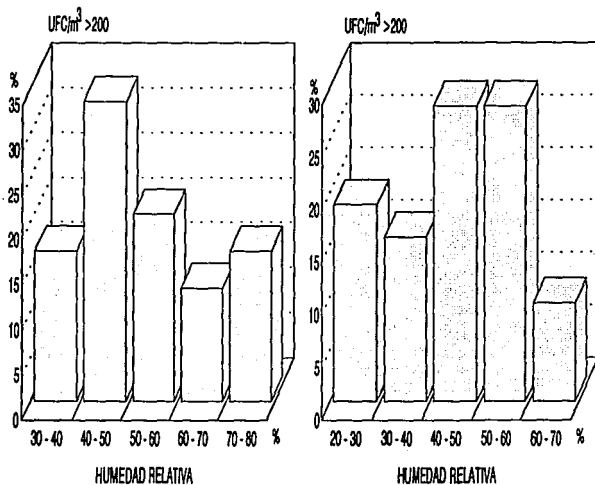


Fig. 14 Relación entre la humedad relativa y los muestreos de aire con concentraciones mayores a las 200 UFC/m<sup>3</sup>

SUELO URBANO  
EXTRAMUROS

POLVO CASERO  
INTRAMUROS SALA

POLVO CASERO  
INTRAMUROS RECAMARA

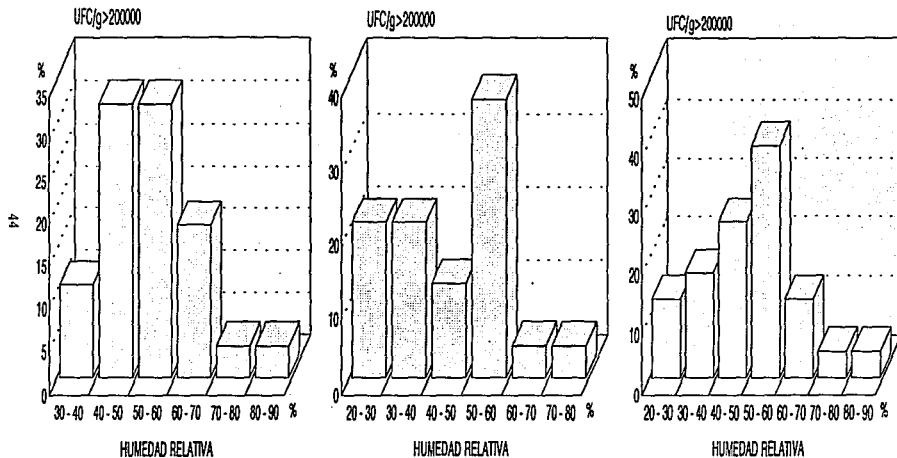


Fig. 15 Relación entre la humedad relativa y los muestreos cuyas concentraciones superaron las 200000 UFC/g

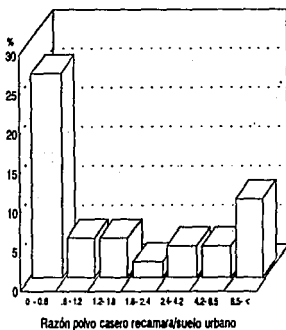
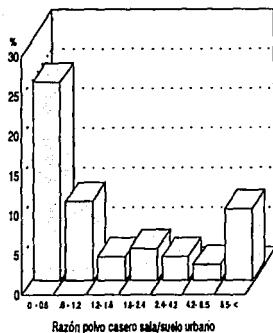
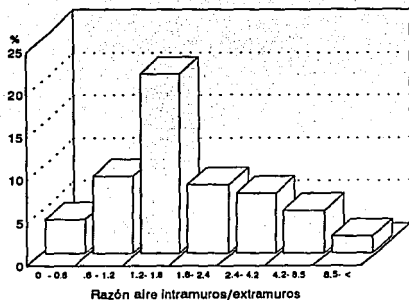
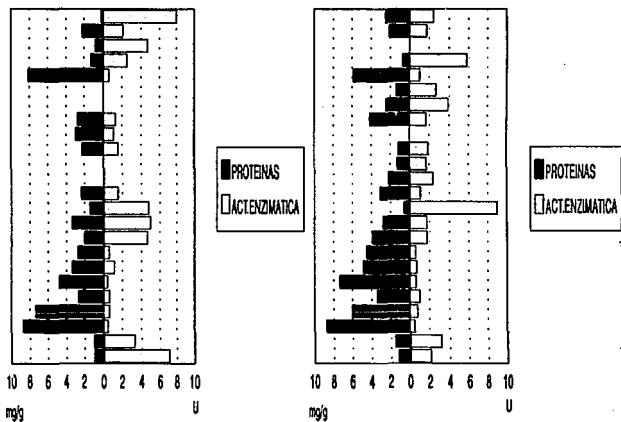


Fig. 16 Distribución de la relación entre la concentración de propágulos fúngicos en ambientes intramuros con respecto a extramuros



**POLVO CASERO**  
INTRAMUROS - SALA

**POLVO CASERO**  
INTRAMUROS - RECAMARA



**Fig. 17** Concentraciones de proteínas totales y actividad enzimática proteolítica en polvo casero

Tabla 10. Correlación de Spermán entre la actividad enzimática y la concentración de propágulos fúngicos y proteínas totales del polvo

VARIABLE DEPENDIENTE	ACTIVIDAD ENZIMÁTICA PROTEOLÍTICA	
VARIABLES		
INDEPENDIENTES:	r	p
HONGOS TOTALES (UFC/g)	0.390	0.861
CLADOSPORIUM	0.3	*0.179
PENICILLIUM	-0.019	0.932
ASPERGILLUS	-0.25	0.263
ALTERNARIA	-0.03	0.874
AUREOBASIDIUM	0.239	0.283
MICELIO E.	-0.085	0.703
PROTEÍNAS TOTALES (mg/g)	-0.694	*0.001

\* $p \leq 0.05$

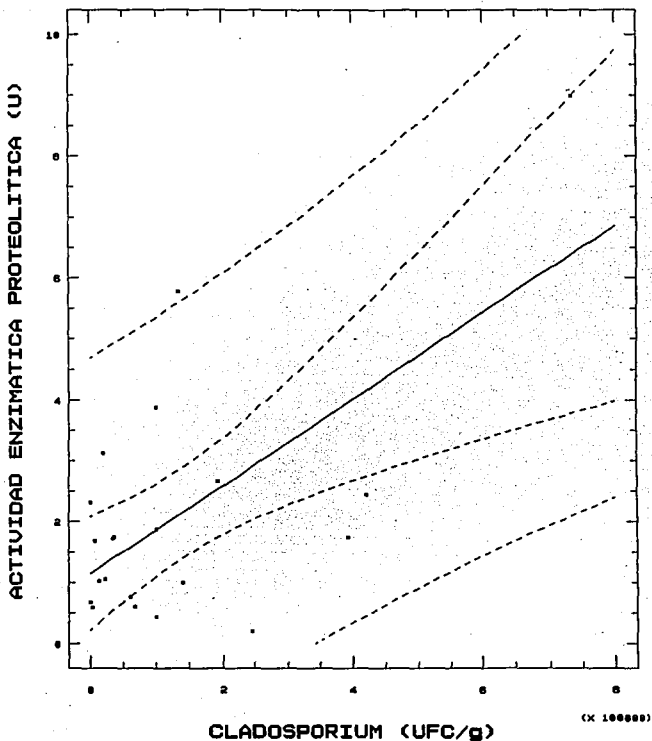


Fig. 18 Correlación entre la concentración de Cladosporium y la actividad enzimática proteolítica en muestras de polvo

## DISCUSION

### Cuantificación de propágulos fúngicos.

**Aire.** En extramuros la caracterización de propágulos fúngicos recolectados del aire entre la época de secas y la de lluvias presentó una variación similar a la descrita para extramuros. En la época de secas, en extramuros predominan condiciones de inestabilidad atmosférica con una disminución en la humedad relativa por lo que las esporas quedan más expuestas (debido a una mayor desecación) a los movimientos del sustrato cuyo intercambio es facilitado por las condiciones de viento y sequedad que liberan estas esporas, así como sus propágulos a la atmósfera, de tal forma que el proceso de la aerolización es más eficiente. En cambio la acción de la lluvia tiende a disminuir la eficiencia de este proceso, debido en parte al incremento de la humedad del sustrato, lo que impide la introducción de partículas a la atmósfera. Aunque en este período las condiciones sean más propicias para el desarrollo de los hongos las concentraciones obtenidas fueron menores debido también al efecto de "lavado" que tiene la lluvia sobre la atmósfera (Rosas *et al.*, 1986). Esto coincide con lo encontrado por Rantion-Lehtimäki *et al.* (1985) quienes establecen que la correlación entre la humedad relativa y la concentración de propágulos fúngicos es negativa.

En intramuros se registraron concentraciones mayores que en extramuros, como lo sugieren los resultados de los trabajos de Peterson y Wennerstrom (1991), una posible explicación es que el ambiente intramuros viene a ser un reflejo de las condiciones externas debido al intercambio de aire y las partículas que trae en suspensión característico de zonas climáticas tropicales (Hasnain, 1993) las cuales son transportadas e introducidas por los sistemas de ventilación (puertas y ventanas abiertas), este intercambio no se presenta en países con condiciones climáticas extremas, en los cuales se mantienen las viviendas herméticamente cerradas y aisladas durante el invierno con sistemas de calefacción y en verano con aire acondicionado, zonas en donde las concentraciones de intramuros no dependen de las concentraciones en extramuros (Reponen *et al.*, 1990; Kang *et al.*, 1993).

Las concentraciones de partículas viables en ambientes extramuros pueden disminuir rápidamente debido a los diferentes factores ambientales que estén influyendo sobre éstas, pero en intramuros la variación en las concentraciones es menor a través del tiempo, debido a la estabilidad de los factores ambientales (Peterson and Wennerstrom, *op cit.*). En el presente estudio los niveles altos de propágulos fúngicos en intramuros depende de las concentraciones en extramuros ( $r=0.6$  con  $p<0.05$ ) datos que coinciden con los citados por Schaffer *et al.* (1953), Richard (1954), Cole y Var Arsdel (1961) y Miller *et al.* (1988). Así como de la iluminación, ventilación y de las actividades que se llevan a cabo dentro de la vivienda.

También es clara la influencia que la humedad tiene sobre el desarrollo de propágulos fúngicos dentro de una vivienda, humedades relativas entre 56 y 77% con un promedio de 64% son reportadas como óptimas para el desarrollo de propágulos fúngicos (Hjelmroos, 1993).

Las humedades relativas registradas durante el tiempo de muestreo van desde 20 hasta 80%, en este intervalo podemos observar que HR de 40 a 60% están relacionadas con muestreos del aire cuyas concentraciones superaron la mediana (>200 UFC/m<sup>3</sup>), para ambientes intramuros.

Las concentraciones promedio registrada para atmósferas de ambientes extramuros e intramuros sin actividad (EHPP, 1985 y Flannigan *et al.*, 1991), fueron superadas por los promedios obtenidos en este estudio.

**Suelo urbano y polvo casero.** Con respecto a las concentraciones encontradas en suelo urbano, no se observó variación estacional. Las condiciones de intemperismo tan adversas a las que están sometidos los hongos, como son: los rayos ultravioleta de la atmósfera, la contaminación, el calentamiento del asfalto y el disturbio por el hombre, afectan su viabilidad, ya que la muestra fue recolectada del asfalto más próximo a la vivienda del paciente (banqueta), que por lo general ya había sido barrida.

Si consideramos al ambiente intramuros como la integración de cada una de las habitaciones que lo conforman, con diferentes periodos de iluminación, orientación, ventilación y tipos de actividad, se observa que las concentraciones intramuros superan en gran medida a las registradas en ambientes de extramuros. El polvo colectado de la sala tampoco mostró variación estacional, debido a que es esta habitación la que tiene el primer contacto con el exterior y la que es aseada con mayor frecuencia además de estar sometida a mayor actividad.

En el polvo recolectado de la recámara si se observan diferencias significativas, quizá por que es la habitación que se encuentra un poco más aislada del resto de la vivienda, además de que durante la época de lluvias la humedad de los diferentes sustratos (tapiz, alfombra, madera) se incrementa facilitando el desarrollo y/o acumulación de propágulos fúngicos.

Se ha observado que los parámetros meteorológicos no ejercen el mismo efecto sobre los propágulos fúngicos del suelo urbano como sobre el polvo casero (Gregory, 1973), al contrario en el caso de la temperatura, su incremento en el ambiente intramuros favorece el desarrollo de los propágulos fúngicos, ya que actúa como una incubadora. En el presente estudio, la influencia que la humedad tiene sobre el desarrollo de propágulos fúngicos dentro de una vivienda en suelo urbano y polvo casero se observó cuando humedades relativas de 50 a 60%, registraron un incremento en las concentraciones de hongos, influencia ya reportada por Hjelmroos (1993).

Las concentraciones promedios para suelo urbano y polvo casero obtenidas durante el tiempo de muestreo fueron superiores a las reportadas por Hyde *et al.* (1988) y por EHPP (1985), las cuales van desde las 10000 UFC/g a 300000 UFC/g y promedios de hasta 430000 UFC/g (Miller *et al.*, 1988).

**Relación aire-polvo.** Cuando los habitantes de una vivienda entran en actividad, pueden incrementarse las concentraciones en el aire de la habitación hasta 10 veces más de las registradas sin

actividad, registrándose valores  $> 5000 \text{ UFC/m}^3$  dependiendo del grado y tipo de actividad, con concentraciones mayores de  $1 \times 10^6$  a  $3 \times 10^6$  UFC/g de polvo (Miller *et al.*, 1988), concentraciones menores a las reportadas en este estudio. Este dato se confirmó con un muestreo piloto que consistía en muestrear la vivienda en actividad (moviendo cortinas, sacudiendo y con tránsito de personas) obteniendo como resultado la saturación del muestreador registrando concentraciones por arriba de las 4944 UFC/m<sup>3</sup> (concentración límite detectable del muestreador Andersen de 2 etapas). Ello da una idea de las posibles concentraciones a las que están expuestas las personas que se dedican a la limpieza de la vivienda. Con esto se ratifica el riesgo que implica tener concentraciones tan elevadas de propágulos fúngicos en el polvo casero, siendo la fuente principal de las aeropartículas fúngicas. Se ha sugerido que concentraciones en el aire de intramuros mayores a 50 UFC/m<sup>3</sup> de una sola especie ya implica un riesgo para la salud, concentraciones menores a 150 UFC/m<sup>3</sup> son aceptables cuando se trata de una mezcla de géneros y concentraciones mayores de 300 UFC/g son aceptables si el género predominante es Cladosporium (Lacey, 1975).

#### Heterogeneidad de propágulos fúngicos.

**Aire y polvo.** Con respecto a los géneros aislados, Cladosporium, Penicillium, Aspergillus y Alternaria, son los comúnmente citados como los más abundantes para regiones tropicales (Kramer *et al.*, 1963 y Goodman *et al.*, 1966) tanto en extramuros como en intramuros, siendo Cladosporium el género dominante en el aire ( Pady *et al.*, 1962; Rich and Waggoner, 1962; López Martínez, 1983; EHPP, 1985; Miller *et al.*, 1988; Rosas *et al.* 1990, 1991; y Wickman *et al.*, 1992), debido probablemente a su alta resistencia a las condiciones atmosféricas (Pady, 1957). Las concentraciones que registra Cladosporium se deben a que la zona sur del Distrito Federal aún cuenta con extensiones considerables de áreas verdes, que proveen un sustrato adecuado para su colonización. Richards (1954) se refiere a Cladosporium como un hongo de ambientes rurales, no es el caso de Penicillium, el cual fué el segundo más abundante durante el tiempo de muestreo, que es considerado como un género característico de áreas urbanas y común en el polvo casero (Davies, 1960), Aspergillus y Alternaria también están presentes pero en concentraciones menores. Estos género en conjunto conforman del 70 al 90% del total de propágulos fúngicos aislados, siendo colectados la gran mayoría en la etapa respirable del muestreador (etapa 2).

En la etapa que corresponde a la fracción no respirable del muestreador se registran valores más bajos (del 18 al 28%), los cuales pueden ser retenidos a nivel de fosas nasales y faringe, en donde los individuos tienen la posibilidad de impedir su penetración por medio de estornudos, moco, flemas, etc., pero las partículas viables que corresponden a la etapa respirable del muestreador pueden penetrar a nivel de traquea, bronquios, bronquiolos y alveólos, por lo que su eliminación resulta más difícil y está limitada a los mecanismos inmunes del individuo siendo más lenta en el caso de que está se presente.

En el polvo se registran los mismo géneros que en aire, como los más abundantes y los más frecuentes (Hyde, 1973). Cladosporium ocupa el 84% de las cuentas totales en el polvo de la sala, concentraciones que dependen, como ya se había mencionado, de la actividad de la habitación, aunque las concentraciones sean menores a las del polvo de la recámara.

Algunos otros géneros menos abundantes fueron Aureobasidium, Epicoccum, Fusarium, Drechslera, Arthrimum, Botrytis, Torula, Rhizopus, Monilia y Micelio esteril entre otros, tanto en aire como en polvo.

Los géneros más frecuentemente aislados también presentan variación estacional tanto en aire extramuros como en intramuros, (Rosas, et al. 1990, 1993). Los picos que éstos géneros presentan en este estudio durante la época de secas están relacionados con numerosos factores que afectan directa o indirectamente la presencia de éstos en la atmósfera (Gregory, 1973; Edmonds, 1979 y Burge, 1986), como son la propia biología del hongos, el tipo de sustrato disponible, el efecto de los parámetros meteorológicos ( viento, temperatura, humedad, precipitación, turbulencias mecánicas y térmicas producidas por el calentamiento del suelo, etc.).

En polvo sólo se presenta esta variación en la recámara pero con las concentraciones más elevadas en lluvias, en el suelo urbano la estacionalidad la presenta Aspergillus y Alternaria con concentraciones mayores en la época de secas y no en la de lluvias donde se presenta un lavado, tanto de la atmósfera como del suelo.

**Cuantificación de proteínas y ensayo enzimático.** Se sabe que la mayoría de los alérgenos son proteínas solubles y glicoproteínas que pueden tener orígenes diferentes, la cuantificación de proteínas en polvo casero permiten una aproximación hacia la evaluación de la concentración de una mezcla de alérgenos. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que existe una mayor concentración en el polvo que se acumula dentro de la recámara (habitación en la que permanecemos por lo menos 12 hrs), la evaluación de la actividad enzimática de estas mismas muestras refleja la funcionalidad de estas proteínas y un posible origen, así como el riesgo de ser inhaladas tanto como proteínas, como en forma de enzimas, observándose que muestran una correlación significativa, pero negativa con las proteínas totales, ya que concentraciones elevadas de proteínas no implican concentraciones elevadas de enzimas, además de la posible existencia de proteínas inhibidoras de la actividad proteolítica en el extracto, ya que cuando la concentración de proteínas es mínima se puede observar una mayor actividad proteolítica debido a que es menor la intervención de otras muchas proteínas de diferente origen.

Por lo que respecta a la relación que existe entre Cladosporium y actividad proteolítica, se cree que se debe a que, las esporas de los hongos contienen cantidades considerables de proteasas indispensables para su desarrollo (Backhouse and Willetts, 1984; Cohen and DeMaggio, 1985), además de registrarse concentraciones considerablemente elevadas de este hongo (con un máximo de  $18 \times 10^6$  de UFC/g) en el polvo casero, y ser el representante más abundante y frecuente del resto de los géneros aislados. Es necesario mencionar

que sólo se puede observar una tendencia, debido al pequeño tamaño de muestra, por lo que son necesarios más muestreos para poder establecer una buena correlación.

Se sabe que otro de los principales alérgenos del polvo casero son las heces de los ácaros, los cuales se han correlacionado positivamente con actividad enzimática de proteasas serínicas y cisteínicas (Berrens, 1991). Por lo tanto, otro posible origen de la actividad en el polvo, puede ser la presencia de diferentes compuestos en las heces de los ácaros, los cuales son más frecuentes en el polvo acumulado en la recámara, debido a que en esta habitación existe un gran número de escamaciones dérmicas utilizadas como alimento por los mismos. Los propágulos fúngicos y las heces de los ácaros contribuyen a la actividad proteolítica, ya que mantienen una relación de simbiosis-competencia. En esta los hongos degradan la materia orgánica en sustancias más simple (predigestión) que son utilizadas como alimento por los ácaros, además de consumir a las mismas esporas que estén presentes en el polvo. Pero cuando las concentraciones de hongos incrementan se establece una competencia por el alimento (Hay *et al.*, 1992), por esta razón la abundancia de hongos puede influir en la abundancia de ácaros y ambos ser los responsables de la actividad proteolítica de las muestras de polvo así como de reacciones alérgicas en las personas.



## CONCLUSIONES

- Las mayores concentraciones de propágulos fúngicos recolectados de la atmósfera se observaron durante la época de secas, mientras que el polvo casero recolectado de la recámara registró las concentraciones más elevadas en la época de lluvias.

- Existen diferencias significativas entre los propágulos fúngicos aislados de los ambientes extramuros e intramuros, siendo mayores las concentraciones en intramuros, por lo que las personas asmáticas están más expuestas dentro de sus viviendas.

- Tasas de concentración mayores de 8 sugieren que además de una acumulación de propágulos fúngicos, existe una posible fuente puntual dentro de la vivienda, la cual es necesario localizar y erradicar.

- Se pudo comprobar la presencia de proteínas y actividad enzimática proteolítica en las muestras de polvo casero.

- El género de hongo más frecuente y abundante fué Cladosporium, mismo que mostró una tendencia a correlación positiva (aunque no significativa debido al tamaño de muestra) con la actividad enzimática proteolítica, lo que sugiere que estas enzimas desempeñan un papel importante en la germinación de las esporas.

- Los análisis de polvo tanto microbiológicos como bioquímicos son una herramienta accesible para determinar el poder alergeno de las aeropartículas que se encuentran depositadas en él.

- Es necesario realizar un mayor número de muestreos, para comprender la dinámica de los alérgenos, así como la caracterización de las enzimas que se encuentran en el polvo, ya que su concentración y presencia pueden brindar dos tipos de información, por una parte la concentración del alérgeno y por la otra su fuente de origen.

## BIBLIOGRAFIA

- Agarwal M., Yunginger J., Swanson M. and Reed C. (1981). An immunochemical method to measure atmospheric allergens. J. Allergy Clin. Immunol. 68:194-200.
- Ainsworth C.G. (1976). Introduction to the History of Micology. Cambridge: Cambridge University Press, 1976.
- Andersen Sampler, Inc. (1984). Operating Manual for Andersen Sampler. Atlanta, 24pp.
- Anon. (1985a). Indoor air quality environmental in oramation task force: combustion osurce. Muller Assoc. Inc. US DOE EVI 10450-1. US Dept. of Energy, Washington DC.
- Anon (1985b). SF6 tracer gas fiel sampling procedures. Available from Product Safety Branch. Consumer and Corporate Affairs, Ottawa, Canada, KIA0C9.
- Backhouse D. and Willetts H.J. (1985). Histochemical changes during conidiogenic germination of sclerotia of Botrytis cinerea. Can. J. Microbiol. 31:282-286.
- Baeza M.A. y Sienra J.J. (1987). El niño asmático y los deportes. Bol. Med. Hosp. Inf. Mex. 44(5):283-285.
- Beaumont F., Kauffman H.F., Sluiter H.J. and De Vries K. (1985). Sequential sampling of fungal air spores inside and outside the homes of mould-sensitive, asthmatic patients: A search for a relationship to obstructive reactions. Ann Allerg. 55:740-746.
- Bernton S.H. and Brown H. (1970). Insect allergen: the allergenicity of the excrement of the cockroach. Ann. of Allergy. 28:543-547.
- Bernstein R.S., Sorenson W.A., Garabrant D., Reaux C. and Treitman R.D. (1983) Exposure to respirable, airborne Penicillium from a contaminated ventilation system: clinical, environmental and epidemiological aspects. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 44:161-164.
- Berrens L. (1970). The allergens in house dust. Prog. Allergy. 14:259-339.
- Berrens L. (1991). Estimation of the allergen content of house dust samples by enzymatic assay. Environmental Research. 56:68-77.
- Booth S., Degrop I., Markush R. and Horton J. (1965). Detection of asthma episodes in seven cities. Arch Environ Hith. 10:152-155.
- Bousquet J., Hale R., Guerin B. and Michel F.B. (1980) Enzymatic activities of house dust extracts. Ann of Allergy. 45:316-321.
- Bunnag C., Dhorrnintra B. and Plangpatanapanichya A. (1982). A comparative study of the incidence of indoor and outdoor mold spore in Bangkok, Thailand. Ann Allerg. 48:333-339.
- Burge H. (1986). Some comments on the aerobiology of fungus spores. Grana. 25:143-146.
- Caretta G. (1992). Epidemiology of allergic disease: the fungi. Aerobiologia 8:439-445.
- Cavender J. and Raper K. (1965). The acrasieae in nature. I. Isolation. Amer. Jour. Bot. 52(3):294-296.
- Chapman M.D. and Platts-Mills T.A.E. (1980). Purification and characterization of the allergen from Dermatophagoides pteronyssinus-antigen pl. J. Immunol. 125:587-592.

- Chapman M.D., Alberse R.C., Brown M.J. and Platts-Mills T.A.E. (1988). Monoclonal antibodies for the mayor feline allergen Feld I. J. Immunol. 140(3):812-818.
- Chua K.Y., Stewart G.A., Thomas W.R., Simpson R.J., Ailworth R.J., Plozza T.M. and Turner K.J. (1988). Sequence analysis of cDNA coding for a major house dust mite allergen, Der p1. J. Exp. Med. 167:175-182.
- Cohen H.P. and DeMaggio A.E. (1986). Biochemistry of fern spore germination protease activity in ostrich fern spores. Plant. Physiol. 80:992-996.
- Colen J. and Var Arsdel P.D. (1961). Molds of allergic significance in the Puget Sound area. Ann Allerg. 19:1399.
- Davies R.R. (1960). Viable moulds in house dust, Transaction of the British Mycological Society 43:617.
- Davies R.R., Denny M. and Newton L. (1963). A comparison between the summer and autumn air-spores at London and Liverpool. Act. Allergol. 28:131-247.
- Derrick E.H., Thatcher R.H. and Trappet L.G. (1960). The seasonal distribution of hospital admissions for asthma in Brisbane. Aust. Ann. Med. 9:180-187.
- Derrick E.H. (1965a). The seasonal variation of asthma in Brisbane: Its relation to temperature and humidity. Int. J. Biometeor. 9:239-251.
- Derrick E.H. (1965b). The annual variation of asthma in Brisbane: Its relation to the weather. Int. J. Biometeor. 10:91-99.
- Domsch K.H., Gams W. and Anderson T.H. (1980). Compendium of soil fungi. Academic Press. London. 859pp.
- Edmonds R. (1979). Aerobiology, the ecological system approach. Dowden, Hutchinson and Ross. Pennsylvania, 386pp.
- EHPP (Environmental Health Professional Practice (1985). Mould Fungal Spores- Their Effects on Health, and the Control, Prevention and Treatment of Mould Growth in Dwellings. Chadwick hoese, Rushworth street, London SE1 0QT.
- FAO. (1967). Food and Agriculture Organization of the United Nations. A Practical Manual of Soil Microbiology Laboratory Methods. Rome. 69pp
- Flannigan B., McCabe E.M. and McGarry F. (1991). Allergenic and Toxicigenic Micro-organisms in house. J. Appl Bacteriology Symposium Supplement. 70:61-73.
- Fergusson R.J., Milne L.J.R. and Crompton B.K. (1984). Penicillium allergic alveolitis: faulty installation of central heating. Thorax. 39:294-298.
- Galindo I., Chapela R. y Selman M. (1989). Asma Bronquial y Factores Ambientales. Estudios Preliminares. IGUNAM Serie de Investigación No 102:pp4
- Gonzales Ochoa A. y Orozco C. (1943). Los hongos del aire de la Ciudad de México y su relación con los factores atmosféricos. Rev. Ints. Salub. y Enferm. Trop. 4:259-265.
- Greenburg L. and Field F. (1965). Air pollution and asthma. J. Asthma Res. 2:195-198.

- Greenburg L., Erhardt C.L., Field F and Rees J.L. (1965). Air pollution incident and morbidity studies. Arch. Environ. Hlth. 10:351-356.
- Gregory P.H. (1973). The Microbiology of the Atmosphere. Ed. 2, New York. Halsted Press.
- Goodman D.H., Northey W.T., Leathers C.R. and Savage T.H. (1966). A study of airborne fungi in the Phoenix Arizona metropolitan area. J. Allergy. 38:56-62.
- Hasnain S.M. (1993). Influence of meteorological factors on the air spora. Grana. 32:184-188.
- Hay P.B., Hart B.J., Pearce R.B., Kozakiewicz Z. and Douglas A.E. (1992). How relevant are huosa dust mite-fungal interactions in laboratory culture to the natural dust system. Exp. and App. Acarology. 16:37-47.
- Herrera T. y Ulloa M. (1990). "El reino de los hongos, Micología básica y aplicada". 1a edición. UNAM-Fondo de cultura económica México, D.F.
- Hirsch R.S. and Sosman J.A. (1976). A one-year survey of mold growth inside 12 homes. Ann Allerg. 36:30-38.
- Hjelmroos M. (1993). Relationship between airborne fungal spore presence and weather variables. Grana. 32:40-47.
- Hocking A.D. and Pitt J.I. (1980). "Dichoran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low-moisture foods". Appl Environ Microbiol. 39:488-492.
- Hyde H.A. (1973). Atmospheric pollen grains and spores in relation to allergy. II. Clin Allergy 3:109-126.
- Jauregui E. (1971). Mesomicroclima de la Ciudad de México. Imprenta Universitaria Inst. de Geografía. UNAM.
- Jauregui E. (1974). "La isla de lluvia de la Ciudad de México" Inq. Hdr. en Méx. (en prensa).
- Jennings C. (1982). Controlling the home environment of the allergic child. MCH. 7:376-381.
- Kang C.B., Johnson J. and Veres-Thorner C. (1993). Atopic profile of inner-city asthma with a comparative analysis on the cockroach-sensitive and ragweed-sensitive subgroup. J. Allergy Clin. Immunol. 92(6):802-810.
- Kramer C.L., Pady S.M. and Rogerson C.T. (1960). Kansas aeromycology V: Penicillium and Aspergillus. Mycologia 52:545-552.
- Kramer C.L., Pady S.M. and Wiley B. (1963). Kansas aeromycology XIII: diurnal studies 1959-1960. Mycologia 55:381-401.
- Krumm W.R. (1954). "On the causes of down-drafts from dry thunderstorms over the U.S.". Bull. Amer. Meteor. Soc. 35(3):122-124.
- Lacey J. (1975). Occupational and environmental factors in allergy. In: Allergy 1974, Ganderton M.A., Frankland A.W. eds. Pitman, London :303-319.
- Levetin E. and Hurewitz D. (1978). A one-year survey of the airborne molds of Tulsa, Oklahoma. II. Indoor survey. Ann Allerg. 41:2527.

- López-Martínez R., Sánchez R.D., Huerta G., Esquenaze A. y Alvarez T. (1981). Variación estacional de hongos productores de alergia en el sur de la ciudad de México. Allergol. et Immunopathol. 14(1):43-48.
- López-Martínez R. y García-Maynez C. (1983). Aislamiento de hongos productores de alergias en mercados de la ciudad de México. Alergia. 30(3):103-108.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Fair A.I. and Randall R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:265-275.
- Lumpkins E.D., Corbit S.L. and Tiedman G.M. (1973). Airborne fungi survey. I. Culture-plate survey of the home environment. Ann Allerg. 31:361-369.
- Lumpkins E.D. and Corbit S.L. (1976). Airborne fungi survey: II. Culture plate survey of the home environment. Ann Allerg. 36:40.
- McGregor R.G., Walker W.B. & Letourneau E.V. (1985). Radon and radon daughter levels in energy efficient housing. Science of the Total Environment. 45:271-278.
- Miller J.D., Laflamme A.M., Sobol Y., Lafontaine P. and Greenhalgh R. (1988). Fungi and fungal products in some Canadian houses. Int. Biodeterioration. 24:103-120.
- Molhave L.V., Bach O.F. & Pedersen D.F. (1986). Human reaction to low concentration of volatile organic compounds. Environ Int. 12:167-175.
- Nakayama Y., Simanuki K. and Yoshida R. (1967). Mould fungi in etiology of asthmatic children in Japan. J. Asthma Res 4:185
- Novak L.A. and Kohn L.M. (1990). Proteins in Aspergillus. Exp. Mycologia. 14:339-350.
- Oren J. and Baker G.E. (1970). Molds in Manoa: A study of prevalent fungi in Hawaiian homes. Ann Allerg. 28:472-481.
- Pady S.M. (1957). Quantitative studies of fungus spores in the air. Mycologia. 49:339-353.
- Pady S.M., Kramer C.L. and Willey B. (1962). Kansas aeromycology XII: materials methods and general results of diurnal studies, 1959-1960. Mycologia. 54:169-180.
- Pepys J. (1980). Occupational asthma: Review of present clinical and immunologic status. J. Allergy Clin. Immunol. 66(3):179-185.
- Peterson F. and Wennerstrom J. (1991). Indoor versus outdoor climate. Grana. 30:395-397.
- Pitt J. (1979). The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces. Academic Press, Londres, 634pp.
- Platts-Mills T.A.E. and DeWeck A.L. (1989). Dust mite allergens and asthma- A worldwide problem. Report of an Inter. Workshop J. Allerg. Clin. Immunol. 83:416-427.
- Platts-Mills T.A.E. (1991). Atopic allergy: asthma and atopic dermatitis. Current Opinion in Immunology. 3:874-880
- Preller L., Hollander A., Heederik D. and Brunekreet B. (1989). Potentially allergenic airborne particles in the vicinity of yeast and Penicillium production plant. JAPCA. 39:1094-1097.

- Quirce S., Cuevas M., Díez-Gómez M., Fernández-Rivas M., Hinojosa M., González R. and Losada E. (1992). Respiratory allergy to Aspergillus-derived enzymes in baker's asthma. Respiratory Allergy. 90(6):970-978.
- Rantion-Lehtimäki A. (1985). Mould spores and yeasts in outdoor air. Allergy. 40(3):17-20.
- Raper K.B. and Fennel D.I. (1977). The genus Aspergillus. R.E. Klieger Publi. Co. New York, 686pp.
- Reenen-Hoekstra E.S., Samson R.A., Verhoeff A.P., Wijnen J.H. and Brunekreef B. (1991). Detection and identification of moulds in dutch houses and non-industrial working environments. Grana. 30:418-423.
- Reponen T., Nevalainen A., Jantunen M., Pellikka M. and Kalliookoski P. (1990). Indoor Air'90: Proceeding of the 5th International Conference on Indoor Air Quality and Climate. V.2, Ottawa, 17-50.
- Reymann F. & Schawartz M. (1947). House dust and fungus allergy. Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica. 24:76.
- Rich S. and Waggoner P. (1962). Atmospheric concentration of Cladosporium spores. Science. 137:962-965.
- Richards M. (1954). Atmospheric mold spores in and out-of-doors. J. Allerg 25:429.
- Rimington V., Stillwell D.E., Maunsell K. & Whettnall E. (1947). The allergens of house dust. British J Experimental Pathology. 28:309.
- Rinderknecht C.H., Geokas M.C., Silverman P. and Haverback B.J. (1968). A new ultrasensitive method for determination of proteolytic activity. Clin. Chim. Act. 21:197-203.
- Ripe E. (1962). Mould allergy. Acta Allerg 17:130, (fase, 2).
- Rosas I., Calderón C., Gutiérrez S. and Mosiño P. (1986). Airborne fungi isolated from rain water collected in Mexico city. Contam. Ambient. 2:13-23.
- Rosas I., Escamilla B., Calderón C. and Mosiño P. (1990). The daily variations of airborne fungal spores in Mexico city. Aerobiologia. 6:153-158.
- Rosas I., Calderón C., Escamilla B. and Ulloa M. (1992). Seasonal distribution of Aspergillus in the air of an urban area: Mexico city. Grana. 31:315-319.
- Rosas I., Calderón C., Ulloa M. and Lacey J. (1993). Abundance of airborne Penicillium in relation to urbanization in Mexico city. Applied and Environmental Microbiology. 59(8):2648-2652.
- Rosas I., Calderón C., Salinas E. and Lacey J. (1994). Airborne microorganisms in a domestic waste transfer station. En: Proceedings of the Pan American Aerobiological Association Conference, Ann Arbor, Michigan (eds. M. Miulemberg y H. Burge, Lewis Pub., Chelsea).
- Rosas I., Yela A., Salinas E., Arreguín R. y Rodríguez Romero A. (1994). Preliminary Assessment of Protein Associated to Airborne Particles in Mexico City. Aceptado para su publicación en: The European Journal of Aerobiology: Aerobiologia.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- Saltos N., Saunders N.A., Bhagwande S.B. and Jarvie B. (1982). Hypersensitivity pneumonitis in a moldy house. Med. J. of Australia. 2:444-446.
- Samson R.A. (1985). Occurrence of moulds in modern living and working environments. Eur. J. Epidemiol. 1:54-61.
- Santra S.C. and Chanda S. (1989). Airborne fungal flora in indoor environments of the Calcutta metropolis, India. Grana. 28:141-145.
- Schaffer N., Seidmon E.E. and Bruskin S. (1953) The clinical evaluation of airborne and house dust fungi in New Jersey. J. Allerg. 24:348.
- Silva B.A. (1962). Consideraciones biológicas sobre la naturaleza de los polvos captados en la región lacustre de la cuenca de México. UNAM. Facultad de Ciencias. Biología, México D.F. 373.
- Solomon W.R. (1975). Assessing fungus prevalence in domestic interiors. J. Allerg & Clin Immunol. 56:234.
- Solomon W.G. (1976). A volumetric study of winter fungus prevalence in the air of midwestern homes. J. Allerg & Clin Immunol. 57:46.
- Strachan D.P. (1988). Damp houses and childhood asthma: validation of reporting of symptoms. Br. Med. J. 297:1223-1226.
- Swaeby M.A. and Christensen C.M. (1952) Molds in house dust, furniture stuffing and in the air within homes. J. Allerg. 23:370.
- Thompson S.T. and Carswell F. (1988). The major allergen of the house dust mite, Dermatophagoides pteronyssinus, is synthesized and secreted in to its alimentary canal. Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol. 85:312-315.
- Tobin R.S., Ewan P., Walsh K. & Dutka B. (1986). A survey of Legionella Pneumophila in water en 12 Canadian cities. Water Research. 20:495-501.
- Toriello C. (1993). Alergias por hongos. En: J. Tay (ed), Microbiología y parasitología médicas, 2a ed. Méndez Editores, México, D.F., pp 4.152-4.162.
- Tovey E.R., Chapman M.D. and Platts-Mills T.A.E. (1981). Mite faeces are a major source of house dust allergens. Nature (Lond). 289.
- Twiggs J.T., Agarwal M.K., Dahlberg M.J. and Yunginger J.W. (1982). Immunochemical measurement of airborne mouse allergens in a laboratory animal facility. J. Allerg. Clin. Immunol. 69(6):522-526.
- Vandavakis E. (1990). Seasonal fluctuations of soil microfungi in correlation from some soil enzyme activities and va micorrhizae associated with certain plant of a typical calcixeroll soil in Grece. Mycologia. 82(6):715-726.
- Verhoeff A.P., Wijnen J.H., Boleij J.S., Brunekreef B., Reenen-Hoekstra E.S. and Samson R.A. (1990). Enumeration and identification of airborne viable mould propagules in house. Allergy. 45:275-284.
- Waegemaekers M., Wageningen N., Brunekreef B. & Boleij J.S. (1989). Respiratory symptoms in damp homes: a pilot study. Allergy. 44:192-198.

- Wallace M.E., Weaver R.H. and Scherago M. (1950). A weekly mold survey of air and dust in Lexington, Kentucky. Ann Allerg. 8:202.
- Werff, Van der, P.J. (1958). Mould Fungi and Bronchial Asthma, Springfield: Charles C. Thomas, p 174.
- Wickman M., Gravesen S., Lennart-Nordvalls S., Pershagen G. and Sundell J. (1992). Indoor viable dust-bound microfungi in relation to residential characteristics, living habits, and symptoms i atopic and control children. J. Allerg. Clin. Immunol. 89(3):752-758.