

Aislamiento e identificación de hongos aerotransportados colectados en el Valle de Toluca, México.

Galindo-Martínez A¹, Rivera-Pérez Z³, Romero-Martínez N¹, Núñez-Cardona MT², Falcón-Bárceñas T³, Díaz-Godoy RV³, Castellanos-Moguel J^{1*}.

1 Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Depto. El Hombre y su Ambiente. Laboratorio de Micología. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud. México, 04960, D.F. Del. Coyoacán. Tel.: +52 5483 7226. Fax: +5254837469. E-mail: mjmoguel@correo.xoc.uam.mx

2 Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Departamento El Hombre y su Ambiente. Laboratorio de Ecología Microbiana. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud. México, 04960, D.F. Del. Coyoacán. Tel.: +52 5483 7226. Fax: +5254837469.

3 Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), Carretera México Toluca S/N, La Marquesa Ocoyoacac, México. C.P. 52750 Tel.: +52 53 29 72 00 ext. 2304, Fax: +5253297332.

Email responsable: mjmoguel@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

Las esporas fúngicas son transitorias en la atmósfera, en áreas urbanas los hongos tienen diversos efectos en la salud humana incluyendo alergias respiratorias, cutáneas, asma y diversas enfermedades invasivas. La Ciudad de Toluca, México, actualmente cuenta con un eficiente sistema de monitoreo para determinar los contaminantes químicos atmosféricos y su origen, pero la composición de partículas fúngicas con potencial alérgico permanece esencialmente desconocida en la mayor parte de las fracciones de los contaminantes. El objetivo del estudio fue el aislamiento e identificación de géneros fúngicos a partir de los filtros utilizados para medir los contaminantes químicos. Las muestras se obtuvieron durante el otoño de 2009 (septiembre, octubre, y noviembre), usando un muestreador TCR-TECORA operado por la Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (RAMAT-ZMVT). El muestreador TCR-TECORA es utilizado para coleccionar material particulado con un diámetro aerodinámico menor o igual a los 2.5 μm ($\text{PM}_{2.5}$) y determinar la concentración gravimétrica de los contaminantes inorgánicos. Para este estudio las muestras también se utilizaron para cuantificar el número y tipo de contaminantes fúngicos presentes en las fracciones de $\text{PM}_{2.5}$. Los filtros fueron lavados para obtener conidios fúngicos, los cuales fueron cuantificados antes de que alícuotas de dichos lavados fueran colocadas en cajas de Petri con medio selectivo. Se aislaron veinte géneros fúngicos, siendo *Penicillium*, *Epicoccum*, *Cladosporium* y *Aureobasidium* los más abundantes. En nuestro conocimiento, este es el primer reporte de identificación de géneros fúngicos usando un muestreador TCR-TECORA en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, México.

Palabras clave: $\text{PM}_{2.5}$, efectos a la salud, asma, hongos alérgicos.

ABSTRACT

Fungal spores are transient in the atmosphere, in urban areas, fungi have diverse effects on human health including allergic respiratory or skin reactions, asthma and different invasive diseases. Toluca City, Mexico, currently has a monitoring system to determine the chemical origin of atmospheric pollutants, but the composition of airborne fungal particles with allergenic potential remains essentially unknown. The aim of this study was to isolate AND identification fungal genera from filters used to determine chemical contaminants. Samples were obtained during the autumn of 2009 (September, October, and November) using a TCR-TECORA sampler operated by the Automatic Network of Atmospheric Monitoring of the Metropolitan Zone of Toluca Valley (Red de Monitoreo Atmosférico de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, RAMAT-ZMVT). The TCR-TECORA sampler is used to collect chemical particulate matter with an aerodynamic diameter of less than or equal to 2.5 μm ($\text{PM}_{2.5}$) and determine the gravimetric concentration of inorganic contaminants. For this study, the samples used for chemical analysis were also used to quantify the number and type of fungal pollutants present in the $\text{PM}_{2.5}$ fractions. Sampler filters were washed to obtain fungal conidia, which were then quantified before aliquots from these washes were placed in Petri dishes with selective media. Twenty fungal genera were isolated, with *Penicillium*, *Epicoccum*, *Cladosporium* and *Aureobasidium* being the most abundant. To the best of our knowledge, this is the

first report of fungal genera obtained using a TCR-TECORA sampler in the Metropolitan Zone of Toluca Valley, Mexico.

Keywords: PM_{2.5}, health effects, asthma, allergenic fungi

INTRODUCCIÓN

La atmósfera de zonas urbanas contiene una gran cantidad de material particulado, rutinariamente se hacen mediciones de emisiones de vehículos y contaminantes industriales (Demerjian 2000; Brunekeef y Fosberg 2005). La composición de las partículas biológicas en el ambiente es pobremente conocida, pero se deduce que las partículas biológicas juegan un papel importante en la salud pública, ya sea solas o en combinación con el ozono y el material particulado de origen inorgánico (PM por sus siglas en inglés) (Sousa et al. 2008). Los bioaerosoles son conglomerados de partículas biológicas tales como las bacterias y los propágulos fúngicos (Hass et al. 2010) así como sus fragmentos o metabolitos que están presentes en la atmósfera. Varios microorganismos están adaptados al aerotransporte y pueden resistir la tensión ambiental (Caballero-Segura et al. 2005). Específicamente, los hongos están relacionados a problemas respiratorios severos, incluyendo asma bronquial, oculorinitis, y problemas de piel como el eczema. Durante los últimos 20 o 30 años, la incidencia de esas condiciones en la población se ha elevado considerablemente (Oliveria et al. 2009).

De acuerdo con Lacey y West (2006), las esporas de diversos tamaños pueden penetrar los pulmones y causar diferentes tipos de enfermedades en los individuos susceptibles. Las esporas que son de 10 µm o más grandes pueden depositarse en la nariz y causar rinitis, mientras que partículas de 10 a 4 µm son depositadas en los bronquios causando asma. Las esporas más pequeñas (óptimo 2-4 µm) causan alveolitis, una vez que alcanzan el tracto respiratorio inferior. Estudios a nivel mundial han mostrado que *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Epicoccum*, *Aureobasidium* y *Rhizopus* son géneros de hongos aerotransportados con potencia alérgeno (Rosas et al. 1990; Rosas et al. 1993; Calderón et al. 1997; Al-Suwaine et al. 1999; Ibañez-Hernández et al. 2001; Al-Subai 2002;

Esquivel et al. 2003; Fang et al. 2005; Grinn-Gofron y Mika 2008; Hasnain et al. 2005; Lee y Jo 2005; Adhikari et al. 2006; Damialis y Gioulekas 2006; El-Morsy 2006; Kasprzyk y Worek 2006; Abdel-Hameed et al. 2007; Griffin et al. 2007; Negrin et al. 2007; Piontelli y Vivar 2007; Fierer et al. 2008; O’Gorman y Fuller 2008; Potoglu-Erkara et al. 2009; Oliveira et al. 2009; Stepalska y Wolek 2009; Degobbi et al. 2011).

Los estudios aerobiológicos usan diversos tipos de muestreadores (por ejemplo, muestreadores tipo Andersen) o sedimentación por gravedad en cajas de Petri con medios selectivos (Esquivel et al. 2003; Al-Subai 2002) para cultivar los hongos viables. También se utilizan trampas para la observación al microscopio de esporas fúngicas y polen (Tsai et al. 2007; Stepalska y Wolek 2009; Oliveira et al. 2009; Grinn-Gofrón y Mika 2009). El análisis de hongos cultivables (por impactación de propágulos fúngicos en medio de cultivo y por sedimentación por gravedad) así como el uso de técnicas moleculares proporciona información con respecto a la composición de los hongos aerotransportados o las partículas no viables que contienen alérgenos (Calderón et al. 2002; Wu et al. 2003; Yamamoto et al., 2010). Cuando se realizan conteos directos de esporas, éstas están libres del conidióforo, lo que hace casi imposible identificar los géneros o especies de manera acertada (Kasprzyk 2008). Actualmente, no hay un método universal de muestreo para las esporas fúngicas (Kasprzyk y Worek 2006). Las PM y la composición química elemental son estudiadas usando muestreadores con fitros. Uno de esos muestreadores, usado para PM con diámetro aerodinámico menor o igual a 2.5 µm es el TCR-TECORA (User’s Manual ECHO PM 2003), que usa filtros de cuarzo para capturar PM y sus componentes (Demerjian 2000). El tamaño de partícula de la muestra podría incluir partículas biológicas tales como los hongos, así, el filtro podría usarse para muestreo simultáneo de contaminantes químicos y biológicos.

En la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, los estudios aerobiológicos son escasos. Los más representativos fueron hechos por Alarcón-Valdez y Albores-Bernal (1985) quienes usaron sedimentación

por gravedad durante un año para definir a composición de hongos aerotransportados en Toluca. Actualmente, es necesario determinar que partículas fúngicas están suspendidas en la atmósfera de Toluca y si tienen algún efecto en la salud de la población. El conocer el tipo y la concentración de las esporas en el ambiente podría permitir la predicción de los propágulos fúngicos, junto con una estrategia para ayudar a la población alérgica (Angelosante-Bruno et al. 2007). El objetivo de este estudio fue aislar e identificar los géneros de hongos cultivables aerotransportados y con potencia alérgico en Toluca, así como cuantificar la concentración de propágulos fúngicos a partir de muestras obtenidas con los filtros usados por la Red Automática de Monitoreo Ambiental para la medición de $PM_{2.5}$. Este estudio combina métodos de cultivo y análisis microscópico. El daño a la salud resultante de la exposición a hongos es causado por las esporas viables, así como por fragmentos fúngicos que quedan después de la muerte de las esporas y el micelio (Kauffman y Van der Heide 2003); así es importante conocer la composición de las partículas viables y no viables. Se propone usar el muestreador para $PM_{2.5}$ para medir simultáneamente los contaminantes inorgánicos y fúngicos, optimizando el uso del equipo y el tiempo de muestreo. En nuestro conocimiento, este es el primer reporte de hongos aislados a partir de filtros para $PM_{2.5}$ en Toluca, México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización del sitio de muestreo

El sitio de muestreo se localizó en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), Estado de México, en la Estación de Muestreo de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, RAMAT-ZMVT, correspondiente a San Cristóbal Huichochitlan, localizada en la escuela primaria Manuel Hinojosa Giles, (calle Guadalupe Victoria, camino antiguo a la Magdalena, Col. San Cristóbal Huichochitlan; coordenadas $19^{\circ} 19'38''$ E y $99^{\circ}38'0.33''$; elevación, 2692 msnm). El clima de Toluca está clasificado

como templado húmedo con una temporada de lluvia en verano. La temperatura promedio anual es de $13.7^{\circ}C$. Durante la estación fría, entre 80 a 140 días hay heladas. La ciudad está asociada a comunidades vegetales, principalmente pino, encino y bosque mixto de pino encino, así como pastizales.

Colección de muestras

Se utilizó un aparato de muestreo PM TCR-TECORA para obtener $PM_{2.5}$ en un filtro de fibra de cuarzo de $47 \mu m$ de diámetro. Las muestras se obtuvieron de acuerdo con Gerald (2003) y la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA, 1995). Los filtros se cambiaron cada 24 hrs, y el periodo de muestreo comprendió de septiembre a noviembre de 2009 con una frecuencia de muestreo de tres días (Tabla 1). Los filtros se transportaron como si fuesen material biológico y se mantuvieron a $4^{\circ}C$ hasta su uso.

Procesamiento y análisis de muestras

Los filtros fueron manejados como especímenes biológicos. Bajo condiciones estériles una parte del filtro de aproximadamente $2 cm^2$ fue colocada en Tween 80 al 0.05% estéril y agitada en un vórtex durante 1 min para lavarlo. El lavado se repitió tres veces (Duryet et al. 2002), y la suspensión resultante se colocó en cajas de Petri con medio SGPE (en gramos por litro: sacarosa 10; glucosa, 5; peptona, 0.5; extracto de levadura, 5; agar, 23) adicionado con cloranfenicol. Esto fue hecho para aislar y preservar los hongos filamentosos cultivables (Castellanos-Moguel et al. 2007). Las cajas con agar y tubos inclinados para conservación fueron inmediatamente colocadas en una incubadora a $28^{\circ}C$.

Para la identificación de los hongos, se describió la macromorfología de las colonias y se realizaron observaciones al microscopio a 40x de las estructuras reproductivas. Se utilizó un microscopio de contraste de fases Olympus 5640. En algunos casos se realizaron microcultivos de Riddell con agar papa dextrosa (Mier et al. 2002) para obtener estructuras reproductivas e identificarlas, con base en las claves dicotómicas de Barron (1968), Barnett y Hunter (1972) y Von Arx (1981).

Cuantificación de propágulos

A partir de las suspensiones preparadas como previamente se describió, una alícuota de 2 ml se centrifugó durante 30 min a 4000 rpm. Se desechó el sobrenadante y el sedimento se resuspendió en 100 ml de azul de algodón para teñir las estructuras fúngicas y facilitar su observación. En un hematocítmetro, se contaron 10 alícuotas de dicha suspensión para cuantificar el número de propágulos/filtro/m³. Las estructuras con morfología fúngica (Lacey y West 2006) se consideraron propágulos capturados por el filtro.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó usando MP versión 8.0 (SAS Institute), también se hizo estadística descriptiva y un análisis no paramétrico (Kruskal-Wallis).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de propágulos aerotransportados usando un muestreador para PM_{2.5} TCR-TECORA

La calidad del aire es un factor muy importante en la salud ambiental y esta calidad está particularmente relacionada con actividades humanas asociadas con el uso de automóviles, granjas y establos. La vegetación y las instalaciones para animales están relacionadas con la cantidad de esporas presentes en el aire (Esquivel et al. 2003; Kasprzyk 2008). En este estudio, la estación de muestreo estaba en un área rural cerca de un rastro, la central de abastos de Toluca, una zona industrial y el aeropuerto, todos esos sitios son una fuente potencial de esporas.

Las esporas fúngicas están bien adaptadas al aerotransporte aun cuando la atmósfera es un hábitat transitorio para ellas. Las esporas fúngicas deben entonces ser consideradas parte de los contaminantes en la fracción de PM_{2.5}, aun cuando estén consideradas mayores a este tamaño. En este estudio, el muestreador TCR-TECORA permitió la captura de propágulos fúngicos a partir de los filtros utilizados

rutinariamente para coleccionar partículas químicas y derivadas de automóviles. Una de las desventajas de los muestreadores personales es que tienen un tiempo corto de colecta (Borchers et al. 2006); sin embargo, el muestreador TCR-TECORA para PM_{2.5} permite tener un periodo de muestra de 24 hrs.

Algunas esporas fúngicas fueron viables, y se realizó una cuantificación total de los propágulos/m³ (Tabla 1). Pudo ser observado que las concentraciones de esporas varían, alcanzando los valores más altos el 6 de octubre (10.1 propágulos/m³) y el 24 de octubre (8.5 propágulos/m³), y un valor más bajo el 8 de octubre (0.6 propágulos/m³). Esta fluctuación de los propágulos fúngicos observada en los filtros fue significativa de acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis (nivel de significancia = 0.05). Degobbi et al. (2011) sugirieron que las PM químicas afectan las propiedades de dispersión de los hongos. En este estudio, el sitio de muestreo se ubicó en una zona de convergencia donde los vientos provenientes del aeropuerto, el rastro, la zona industrial y la central de abastos de Toluca, por lo que la presencia de los hongos podría esperarse como alta. El análisis de los filtros de otros tipos de muestreadores fue realizado por Griffin et al. (2007) y Degobbi et al. (2011); ellos encontraron esporas de géneros potencialmente alergénicos como *Alternaria*, *Acremonium*, *Cladosporium*, *Penicillium*, basidiosporas y ascosporas. En este estudio, se encontraron 85 colonias fúngicas pertenecientes a 20 géneros, de los cuales 14 son potencialmente alergénicos o patógenos (Tabla 2). Siete aislados presentaron solamente micelio estéril (8.75% del total). Aunque en estos últimos no se observaron estructuras reproductivas que permitieran su identificación, siguen conservando el potencial alérgeno, ya que el micelio contiene proteínas que pueden causar reacciones inmunes. Las manifestaciones alérgicas más comunes causadas por hongos son asma, rinitis, micosis alérgicas bronquiopulmonares, y neumonitis por hipersensibilidad. Esos problemas pueden ser inducidos por esporas fúngicas, células vegetativas o excreciones metabólicas. Los agregados de esporas pueden encontrarse en la fracción gruesa de las PM y pueden quedarse en el tracto respiratorio superior.

Tabla 1: Calendario de muestreo y número de propágulos/m³ en aire filtrado. Las muestras se tomaron cada tres días a lo largo de un periodo de 24 hrs, durante los meses de otoño (septiembre, octubre y noviembre) de 2009.

Filtro	Día de muestreo	No. de propágulos /m ³
1	15-Sept-09	1.9
2	24-Sept-09	0.7
3	26-Sept-09	0.9
4	01-Oct-09	1.8
5	03-Oct-09	0.9
6	06-Oct-09	10.1
7	08-Oct-09	0.6
8	13-Oct-09	2.5
9	17-Oct-09	1.4
10	22-Oct-09	0.7
11	24-Oct-09	8.5
12	29-Oct-09	0.8
13	31-Oct-09	2.8
14	5-Nov-09	1.9
15	07-Nov-09	0.8
16	10-Nov-09	1.6
17	17-Nov-09	2.5
18	22-Nov-09	2.7
19	24-Nov-09	1.6
20	28-Nov-09	1.2

Los conidios más pequeños e individuales, como aquellos encontrados en la fracción de PM_{2.5} pueden alcanzar fácilmente los pulmones (Kurup et al. 2000). Los datos obtenidos pueden ser útiles para estimar las enfermedades fúngicas y los síntomas de alergia, así como la duración y el progreso de la infección (Stepalska y Wolek 2009).

Géneros fúngicos

Los géneros fúngicos aislados a partir de los filtros para PM_{2.5} de muestreador TCR-TECORA y sus posibles efectos a la salud están listados en la tabla 2. El aislamiento y la identificación de las esporas viables y los hongos cultivables es muy importante debido a la dureza de la pared celular ya que esto significa que las esporas generalmente no liberan sus alérgenos hasta que comienzan a germinar o después de la muerte celular (Kauffman y Van der Heide 2003).

Penicillium fue el género más abundante, con 34 aislados (44.7% de los géneros fúngicos identificados), y este género junto con *Aspergillus* producen una alta concentración de conidios aerotransportados. En la atmósfera de la Ciudad de México, esos géneros son los segundos en términos de abundancia (Rosas et al. 1993; Calderón et al. 1997). Esos hongos, en relativamente bajas concentraciones (6 x 10⁴ esporas/m³ de aire) pueden causar síntomas respiratorios (Lee y Jo 2005). Para el Valle de Toluca, Alarcón-Valdez y Albores-Bernal (1985) aislaron 26 géneros del aire y cultivaron *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus* y *Geotrichum*. En este estudio, se aislaron 12 géneros fúngicos por primera vez en el Valle de Toluca. Aunque esos géneros pueden ser considerados ubicuos debido a que están reportados en otras ciudades alrededor del mundo (Lee y Jo 2005; Kasprzyk y Worek 2006; El-Morsy 2006; Abdel-Hameed et al. 2007; Griffin et al. 2007; Negrin et al. 2007; O’Gorman y Fuller 2008). De acuerdo con Hameed et al. (2007), las esporas aerotransportadas de cualquier país son esencialmente las mismas, y las diferencias existentes pueden ser cuantitativas mas no cualitativas. La mayoría de los géneros fúngicos aislados son potencialmente alérgenos o patógenos en individuos con trasplantes, quimioterapia, estrés y VIH/SIDA.

Los géneros *Alternaria*, *Aspergillus* y *Cladosporium* producen alérgenos con alta prevalencia y son frecuentemente aislados de exteriores. Esos géneros pueden causar reacciones cutáneas en pacientes alérgicos (Dixit et al. 2000) y han sido aislados de las membranas mucosas nasales y faríngeas de pacientes con rinitis alérgica en Michoacán, México (Rodríguez-Orozco et al. 2007). Entre los géneros aislados, la mayoría (*Cladosporium*, *Epicoccum*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Bipolaris* y *Geotrichum*) presentan colonias oscuras; los pigmentos oscuros permiten a los hongos tolerar la radiación solar y UV. Las esporas oscuras son más abundantes en áreas rurales, esto es coincidente con la localización de la estación de muestreo, en una escuela rural (Kasprzyk y Worek 2006).

Tabla 2: Número y porcentaje de géneros fúngicos aislados a partir de los filtros del TCR-TECORA y sus potenciales efectos a la salud.

Género fúngico	Número de aislados	Porcentaje del total de géneros identificados	Efectos a la salud causados por especies de este género	Referencias
<i>Penicillium</i>	34	44.7	Queratitis, infecciones de oído externo, infecciones de tracto respiratorio y urinario, dermatitis eczematosa, suberosis, pulmón de los trabajadores del queso, pulmón de granjero, pulmón de trabajadores del salami, pulmón del procesador de peat moss.	Rimac et al. 2010; Pettigrew et al. 2010; Nordness et al. 2003
<i>Cladosporium</i>	8	10.3	Alergia tipo I, alergia tipo III, pneumonitis, queratomicosis rara, pulmón del sauna.	Borchers et al. 2006; Chew et al. 2009; Pettigrew et al. 2010; Nordness et al. 2003;
<i>Epicoccum</i>	8	10.3	Alergia tipo I, alergia tipo III, neumonitis, alveolitis alérgica extrínseca.	Pettigrew et al. 2010
<i>Aureobasidium</i>	6	8.3	Alergia tipo I, alergia tipo III, neumonitis, alveolitis alérgica extrínseca. Feohifomicosis, pulmón del aire acondicionado.	Pettigrew et al. 2010; Nordness et al. 2003
<i>Acladium</i>	2	2.7	No se encontraron reportes de daño a la salud.	
<i>Alternaria</i>	2	2.7	Alergia tipo I, alergia tipo III, lesiones nasals y subcutáneas en pacientes con SIDA, enfermedad de los cortadores de madera.	Borchers et al. 2006; Nordness et al. 2003; Pettigrew et al. 2010
<i>Chrysonilia</i>	2	2.7	Alergia tipo I, endoftalmitis.	Cartier 2010; Rainer et al. 2000
<i>Stachybotrys</i>	2	2.7	Dermatitis, tos, rinitis, sensacion de comeón o quemazón de la zona oral y vías nasales. Enfermedades derivadas de sus toxinas (síndrome del edificio enfermo)	Pettigrew et al. 2010; Yike et al. 2001
<i>Acremonium</i>	1	1.3	Alergi tipo I, neumonitis por hipersensibilidad tipo III, pulmón del humidificador, micetoma, maduromicosis, infecciones oculares.	Saijo et al. 2005; Piontelli y Vivar 2007
<i>Aspergillus</i>	1	1.3	Alergia tipo I, neumonitis por hipersensibilidad tipo III	Rimac et al. 2010; Borchers et al. 2006; Pettigrew et al. 2010; Nordness et al. 2003
<i>Bipolaris</i>	1	1.3	Alergia tipo I, sinusitis fúngica, infecciones oculares, en hueso, aortas, pulmones, cerebro, piel, queratitis, ostiomielitis, feohifomicosis.	Borchers et al. 2006; Pettigrew et al. 2010
<i>Botryoderma</i>	1	1.3	No se encontraron reportes de daño a la salud.	
<i>Chaetophoma</i>	1	1.3	Alergia tipo I, feohifomicosis.	Borchers et al. 2006
<i>Geotrichum</i>	1	1.3	Lesiones bronquiales, orales y vaginales; lesiones cutáneas dispersas; infección del torrente sanguíneo ocasional con sepsis.	Rainer et al. 2000
<i>Mammaria</i>	1	1.3	No se encontraron reportes de daño a la salud.	
<i>Memmoniella</i>	1	1.3	Alergia tipo I, produce micotoxinas, congestión y sinusitis	Borchers et al. 2006; Wilkins et al. 2003
<i>Varicosporium</i>	1	1.3	No se encontraron reportes de daño a la salud.	
<i>Monascus</i>	1	1.3	No se encontraron reportes de daño a la salud.	
<i>Sepedonium</i>	1	1.3	Neutropenia y fiebre en pacientes inmunocomprometidos.	Arellano-Galindo et al. 2008
<i>Paecilomyces</i>	1	1.3	Hialohifomicosis, queratomicosis y endoftalmitis, fungemia en pacientes con catéteres vasculares permanentes, infecciones cutáneas, sinusitis maxilar, peritonitis, otitis media supurativa, obstrucción de la derivación del líquido cefalorraquídeo, alveolitis alérgica.	Rainer et al. 2000; Nordness et al. 2003

Aunque el origen exacto de las esporas fúngicas es desconocido, los géneros aislados son capaces de crecer en una gran diversidad de sustratos en regiones templadas o semitropicales (Lee y Jo 2005; Kasprzyk y Worek 2006; El-Morsy 2006; Abdel-Hameed et al. 2007; Griffin et al. 2007; Negrin et al. 2007; O'Gorman y Fuller 2008).

El Valle de Toluca está rodeado de bosques y ciertas áreas son aún consideradas rurales aun cuando están dentro de la Zona Metropolitana. Esas características implican gran cantidad de vegetación que puede ser una fuente local de esporas.

CONCLUSIÓN

Este estudio de aire exterior provee datos de los niveles de esporas fúngicas aerotransportadas potencialmente alérgicas o patógenas en el Valle de Toluca, medidas en el otoño de 2009. Los métodos combinados de análisis usados proporcionan información sobre los géneros y la concentración de los propágulos fúngicos presentes. Los hongos pueden estar presentes en la fracción de las PM_{2.5} lo que les permite alcanzar la región inferior del tracto respiratorio.

El conocimiento de alérgenos inhalables locales ayuda a facilitar el diagnóstico y el tratamiento de las patologías relacionadas. Aunque los géneros aislados en este estudio son considerados ubicuos, 12 de ellos fueron detectados por primera vez en Toluca y la mayoría de ellos tiene potencial alérgico o patógeno en pacientes sensibles. Los géneros fúngicos aislados en el Valle de Toluca en el otoño de 2009 pueden ser considerados para ser incluidos en las pruebas realizadas a pacientes con manifestaciones clínicas. En nuestro conocimiento, este es el primer reporte de la colecta de géneros fúngicos usando un muestreador TCR-TECORA en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Red Automática de Monitoreo Atmosférico del Valle de Toluca, particularmente a la QFB Alejandra López Tinoco, a

los Quím. Carlos Edgardo Aguirre Campuzano y Rodrigo Castañeda Sandoval.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Hameed AA, Khoder MI, y Emad AA. (2007). Fertile fungal spores collected on different faced surfaces in the atmosphere of Giza, Egypt. *Aerobiologia* 23: 47-57.
- Adhikari A, Reponen T, Grinshpun SA, Martzevicius D, y Le Masters G. (2006). Correlation of ambient inhalable bioaerosols with particulate matter and ozone: a two year study. *Environmental Pollution* 140: 16-28.
- Alarcón-Valdez P, y Albores-Bernal BM. (1985). Aislamiento e identificación de hongos filamentosos anemófilos en la Ciudad de Toluca, Estado de México en las diferentes estaciones del año. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Al-Subai AAT. (2002). Airborne fungi at Doha, Qatar. *Aerobiologia*. 18: 175-183.
- Al-Suwaine AS, Hasnain SM, y Hassan-Bahkali A. (1999). Viable airborne fungi in Riyadh, Saudi Arabia. *Aerobiologia* 15: 121-130.
- Angelosante-Bruno A, Pace L, Tomassetti B, Coppola E, Verdecchia M, Pacioni G, yVisconti, G. (2007). Estimation of fungal spore concentrations associated to meteorological variables. *Aerobiologia* 23: 221-228.
- Arellano-Galindo J, Moreno-Galván M, y Sarti E. (2008). Infecciones por hongos y neutropenia en un hospital pediátrico de tercer nivel. *Salud Pública de México* 50: 197-198.
- Barnett HL, y Hunter BB. (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi* 4 ed. New York: Mc Millan.
- Barron GL. (1968). *The genera of Hyphomycetes from soil*. Florida: Robert Krieger Publish. Co.
- Borchers AT, Chang C, Keen CL, yGershwin ME. (2006). Airborne environmental injuries and human health. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* 31: 1-101.
- Brunekreef B, y Forsberg B. (2005). Epidemiological evidence of effects of coarse airborne particles on health. *European Respiratory Journal* 26: 309-318.
- Caballero-Segura B, Romero-Guzmán ET, Reyes-Gutiérrez LR, y José-Yacaman M. (2005). Bioaerosoles transportados por agua de lluvia en el valle de Toluca caracterizados por microscopia

- electrónica de barrido. Reporte de proyecto. COMECyT, EdoMex-CO1-09.
- Calderón C, Lacey J, McCartney A, y Rosas I. (1997). Influence of urban climate upon distribution of airborne Deuteromycete spore concentrations in Mexico City. *International Journal of Biometeorology* 40: 71-80.
- Calderón C, Ward E, Freeman J, y McCartney A. (2002). Detection of airborne fungal spores sampled by rotating-arm and Hirst-type spora traps using polymerase chain reaction assays. *Aerosol Science* 33: 283-296.
- Cartier A. (2010). The role of inhalant food allergens in occupational asthma. *Current Allergy and Asthma Reports* 10: 349-356.
- Castellanos-Moguel J, González-Barajas M, Mier T, Reyes-Montes M.R, Aranda E†, y Toriello C. (2007). Virulence testing yextracellular subtilisin-like (Pr1) ytrypsin-like (Pr2) activity during propagule production of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates from whiteflies (Homoptera:Aleyrodidae). *Revista Iberoamericana de Micología* 24: 62-68.
- Chew FLM, Subrayan V, Chong PP, Goh MC, yPeng Ng K. (2009). *Cladosporium cladosporides* keratomycosis: a case report. *Japan Journal of Ophthalmology* 53: 648-668.
- Damialis A, y Gioulekas D. (2006). Airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Greece: Forecasting possibilities. *Grana* 45: 122-129.
- Degobbi C, Lopes FDTQS, Carvalho-Oliveira R, Muñoz JE, y Saldiva PHN. (2011). Correlation of fungi and endotoxin with PM_{2.5} and meteorological parameters in atmosphere of Sao Paulo, Brazil. *Atmosphere Environment* 45: 2277-2283.
- Demerjian KL. (2000). A review of national monitorin networks in Nort America. *Atmosphere Environment* 34: 1861-1884.
- Dixit A, Lewis W, Baty J, y Crozier-Wedner W. (2000). Deuteromycete aerobiology and skin reactivity patterns-a twoyear concurrent study in Corpus Christi, Texas, USA. *Grana* 39: 209-218.
- Dury KTH, Muilenberg ML, Burge HA, y Seixas NS. (2002). Effect of sampling time on the culturability of airborne fungi and bacteria sampled by filtration. *Annals of Occupational Hygiene* 46: 113-118.
- El-Morsy, E-SM. (2006). Preliminary survey of indoor youtdoor airborne microfungi at coastal buildings in Egypt. *Aerobiologia* 22: 197-210.
- Esquivel P, Mangiaterra M, Giusiano G, y Sosa MA. (2003). Microhongos anemófilos en ambientes abiertos de dos ciudades del nordeste argentino. *Boletín Micológico* 18: 21-28.
- Fang Z, Ouyang Z, Hu L, Wang X, Zeng H, y Lin X. (2005). Culturable fungi in outdoor environments in Beijing, China. *Science of the Total Environment* 350: 47-58.
- Fierer N, Liu Z, Rodríguez-Hernández M, Knight R, Henn M, y Hernández MT. (2008). Short-term temporal variability in airborne bacterial and fungal populations. *Applied and Environmental Microbiology* 74: 200-207.
- Gerald IN y Gerald A. (2003). Procedures for handling aerometric data. APCA.
- Griffin DW, Kubilay N, Koçak M, Gray MA, Borden TC, y Shinn EA. (2007). Airborne desert dust and aeromicrobiology over the Turkish Mediterranean coastline. *Atmosphere Environment* 41: 4050-4062.
- Grinn-Gofrón A, y Mika A. (2008). Selected airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Szczecin, Poland, 2004-2006. *Aerobiologia* 24: 89-97.
- Hasnain SM, Fatima K, Al-Frayh A, y Al-Sedairy ST. (2005). One-year pollen and spore calendars of Saudi Arabia: Al Khoar, Abha and Hofuf. *Aerobiologia*: 21: 241-247.
- Haas D, Unteregger M, Habib J, Galler H, Marth E, y Reinthaler FF. (2010). Exposure to Bioaerosol from Sewage Systems. *Water, Air, and Soil Pollution* 207: 49-56.
- IAEA. (2008). Sampling and data evaluation methodologies for airborne particulate matter. Santiago de Chile: IAEA.
- Ibáñez V, Thompson I, and Mañalich J. (1998). Fluctuación estacional de hongos anemófilos en Santiago-Norte, Chile. *Boletín Micológico*, 13: 47-56.
- Kasprzyk, I. (2008). Aeromycology-main research fields of interest during the last 25 years. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 15: 1-7.
- Kasprzyk I, y Worek M. (2006). Airborne fungal spores in urban and rural environments in Poland. *Aerobiologia* 22: 169-176.
- Kauffman HF, and van der Heide S. (2003). Exposure, sensitization and mechanisms of fungus induced asthma. *Current Allergy and Asthma Reports* 3: 430-437.
- Kurup VP, Shen H-D, y Banerjee B. (2002). Respiratory fungal allergy. *Microbes and infection* 2: 1101-1110.
- Lacey ME, y West JS. (2006). The air spores. A manual for catching and identifying airborne biological particles. The Netherlands: Springer.

- Lee J-H, y Jo W-K. (2005). Exposure to airborne fungi and bacteria while commuting in passenger cars and public buses. *Atmospheric Environment* 39: 7342-7350.
- Mier T, Toriello C, y Ulloa M. (2002). Hongos microscópicos saprobios y parásitos: métodos de laboratorio. México: UAM-X, Instituto de Biología, UNAM.
- Negrin MM, Del Panno MT, y Ronco AE. (2007). Study of bioaerosols site influence in the La Plata area (Argentina) using conventional and DNA (fingerprint) based methods. *Aerobiologia* 23: 249-258.
- Nordness ME, Zacharisen MC, y Fink JN. (2003). Toxic and other non IgE-mediated effects of fungal exposures. *Current Allergy and Asthma Reports* 3: 438-446.
- O’Gorman CM, y Fuller HT. (2008). Prevalence of culturable airborne spores of selected allergenic and pathogenic fungi in outdoor air. *Atmospheric Environment* 42: 4355-4368.
- Oliveira M, Ribeiro H, Delgado JL, y Abreu I. (2009). Seasonal and intradiurnal variation of allergenic fungal spores in urban and rural areas of the North of Portugal. *Aerobiologia* 25: 85-98.
- Peled R. (2011). Air pollution exposure: who is at high risk? *Atmospheric Environment* 45: 1781-1785.
- Pettigrew HD, Selmi CF, Teuber SS, y Gershwin ME. (2010). Mold and human health: separating the wheat from the chaff. *Clinical Reviews of Allergy and Immunology* 38: 148-155.
- Piontinelli LE, y Vivar, MV. (2007). Casos clínicos: *Microsporium praecox* y *Acremonium strictum*. Nuevos agentes de micosis cutáneas oportunistas en la zona central de Chile. *Boletín Micológico* 22: 55-63.
- Potoglu-Erkara, I., Ilhan, S., y Oner, S. (2009). Monitoring and assessment of airborne *Cladosporium* Link. and *Alternaria* Nées spores in Sivrihisar (Eskisehir) Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment* 148: 477-484.
- Rimac D, Macan J, Varnai VM, Vučemilo M, Matković K, Prester L, Orct T, Trošić I, y Pavičić I. (2010). Exposure to poultry dust and health effects in poultry workers: impact of mould and mite allergens. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 83: 9-19.
- Rodríguez-Orozco AR, Vargas Villegas E, Tafolla Muñoz L, Ruiz Reyes H, Hernández Chávez LA, y Vázquez Garcidueñas S. (2008). Géneros fúngicos aislados en pacientes con rinitis alérgica y su relación con la prueba de hipersensibilidad subcutánea de Prick. *Revista Mexicana de Micología* 28: 89-94.
- Rosas I, Escamilla B, Calderón C, y Mosino P. (1990). The daily variations of airborne fungal in Mexico City. *Aerobiologia* 6: 153-158.
- Rosas I, Calderón C, Ulloa M, y Lacey J. (1993). Abundance of airborne *Penicillium* CFU in relation to urbanization in Mexico City. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 2648-2652.
- Y, Sata F, Mizuno S, Yamaguchi K, Sunagawa H, y Kishi R. (2005). Indoor airborne mold spores in new built dwellings. *Environmental Health and Preventive Medicine* 10: 157-161.
- Sousa SIV, Martins FG, Pereira MC, Alvim-Ferraz MCM, Ribeiro H, Oliveira M, y Abre I. (2008). Influence of atmospheric ozone, PM₁₀ and meteorological factors on the concentration of airborne pollen and fungal spores. *Atmospheric Environment* 42: 7452-7464.
- Stepalska D, y Wolek J. (2009). Intradiurnal periodicity of fungal spore concentrations (*Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Didymella*, *Ganoderma*). *Aerobiologia* 25: 333-340.
- Tsai FC, Macher JM, y Hung Y-Y. (2007). Biodiversity and concentrations of airborne fungi in large US office buildings from BASE study. *Atmospheric Environment* 41: 5181-5191.
- User’s Manual. (2003). ECHO, TCR TECORA Manual.
- Von Arx JA. (1981). The genera of fungi sporulating in pure culture. Berlin: Gartner Verlag.
- Wilkins K, Fog Nielsenm K, y Ud Din S. (2003) Patterns of volatile metabolites and non volatile trichothecenes produced by isolates of *Stachybotrys*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Trichothecium* and *Memnoniella*. *Environmental Science and Pollution Research* 10: 162-166.
- Wu Z, Tsumura Y, Blomquist G, y Wang X-R. (2003). 18S rRNA gene variation among common airborne fungi, and development of specific oligonucleotide probes for the detection of fungal isolates. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 5389-5397.
- Yamamoto N, Kimura M, Matsuki H, y Yanagisawa Y. (2010) Optimization of a real-time PCR assay to quantify airborne fungi collected on a gelatin filter. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 109: 83-88.
- Yike I, Miller MJ, Sorenson WG, Walenga R, Tomashefski Jr JF, y Dearborn DG. (2001). Infant animal model of pulmonary mycotoxicosis induced by *Stachybotrys chartarum*. *Mycopathologia* 154: 139-152.