

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE
MAESTRÍA EN ECOLOGÍA APLICADA

“Identificación de aislados de *Alternaria alternata* durante la primavera, verano y otoño para determinar zonas de riesgo a la salud en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT)”

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN ECOLOGÍA APLICADA

PRESENTA:

AIRAM ANGÉLICA LÓPEZ URBINA

CO-DIRECTORES:

DRA. MARIA JUDITH CASTELLANOS MOGUEL

DR. RAÚL VENANCIO DÍAZ GODOY

ASESORA:

DRA. MARIA DEL ROCIO REYES MONTES

Ciudad de México

Diembre, 2016

ÍNDICE

CAPITULO I	9
CONIDIOS FÚNGICOS PRESENTES EN EL AIRE DE LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE TOLUCA (ZMVT) DURANTE LA PRIMAVERA, VERANO Y OTOÑO Y SU RELACIÓN CON LOS PARÁMETROS AMBIENTALES DE HUMEDAD, TEMPERATURA, VELOCIDAD Y DIRECCIÓN DEL VIENTO	9
1.1. RESUMEN	2
1.2. ABSTRACT	4
1.3. INTRODUCCIÓN	5
1.4. REVISION BIBLIOGRÁFICA	8
1.4.1. <i>Partículas presentes en el aire</i>	8
1.4.2. <i>Partículas inorgánicas</i>	8
1.4.2.1. Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la ZMVT	9
1.4.3. <i>Bioaerosoles suspendidos en el aire</i>	11
1.4.4. <i>Conidios fúngicos y su relación con los parámetros meteorológicos de humedad relativa, temperatura, velocidad y dirección del viento</i>	12
1.4.4.1. Humedad relativa	13
1.4.4.2. Temperatura	13
1.4.4.3. Otros factores relacionados a la presencia de conidios en el aire	14
1.4.5. <i>Hongos como agente causal de enfermedades</i>	14
1.4.6. <i>Presencia de conidios en el aire</i>	15
1.4.6.1. Estudios realizados a nivel mundial	15
1.4.6.2. Géneros aerotransportados registrados en México	16
1.4.6.3. Presencia de conidios en la ZMVT	16
1.5. OBJETIVOS	18
1.5.1. <i>General</i>	18
1.5.2. <i>Particulares</i>	18
1.6. HIPOTESIS	19
1.7. MATERIAL Y METODOS	20
1.7.1. <i>Zona Metropolitana del Valle de Toluca</i>	20
1.7.2. <i>Conidios fúngicos suspendidos en el aire</i>	21
1.7.2.1. Obtención de conidios	21
1.7.2.2. Identificación y cuantificación	22
1.7.3. <i>Análisis estadístico</i>	23
1.7.3.1. Relación con parámetros ambientales	23
1.8. RESULTADOS	24
1.8.1. <i>Conidios registrados</i>	24
1.8.1.1. Variación espacial y temporal de conidios	24
1.8.1.2. Listado taxonómico	25
1.8.2. <i>Relación de parámetros ambientales con la presencia de conidios</i>	27
1.8.2.1. Humedad Relativa	27
1.8.2.2. Temperatura	28
1.8.2.3. Dirección y Velocidad del viento	29
1.8.2.4. Radiación Solar Total	32
1.9. DISCUSIÓN	34
1.10. CONCLUSIONES	38
1.11. LITERATURA CITADA	39
CAPITULO II	44
DETECCIÓN DEL GEN <i>ALT A 1</i> E IDENTIFICACIÓN GENOTÍPICA DE AISLADOS DE <i>ALTERNARIA</i> MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)	44

2.1	RESUMEN	45
2.2.	ABSTRACT	46
2.3.	INTRODUCCIÓN	47
2.4.	REVISION BIBLIOGRÁFICA	49
2.4.1.	<i>Alternaria como agente causal de enfermedades</i>	49
2.4.1.1.	Morfología y Ecología de <i>Alternaria</i> spp.	50
2.4.1.2.	Taxonomía	53
2.4.2.	<i>Alt a 1 como principal alérgeno de Alternaria alternata</i>	53
2.4.3.	<i>Expresión diferencial de genes por PCR</i>	¡Error! Marcador no definido.
2.5.	OBJETIVOS	57
2.5.1.	<i>General</i>	57
2.5.2.	<i>Particulares</i>	57
2.6.	MATERIAL Y METODOS	58
2.6.1.	<i>Aislamiento y purificación de Alternaria</i>	58
2.6.2.	<i>Identificación de Alternaria alternata</i>	59
2.6.3.	<i>Extracción de DNA</i>	59
2.6.4.	<i>Amplificación del gen Alt a 1</i>	60
2.6.5.	<i>Electroforesis</i>	61
2.6.6.	<i>Análisis de las secuencias</i>	61
2.7.	RESULTADOS	62
2.7.1.	<i>Aislados obtenidos</i>	62
2.7.2.	<i>Amplificación por PCR utilizando cebadores específicos para Alt a 1</i>	65
2.8.	DISCUSIÓN	67
2.9.	CONCLUSIONES	70
2.10.	LITERATURA CITADA	71
CAPITULO III		74
ANÁLISIS DE RIESGO A LA SALUD POR LA EXPOSICIÓN A CONIDIOS DE ALTERNARIA EN LA ZMVT		74
3.1.	RESUMEN	75
3.2.	ABSTRACT	76
3.3.	INTRODUCCIÓN	77
3.4.	REVISION BIBLIOGRÁFICA	79
3.4.1.	<i>Riesgo a la Salud por la exposición a conidios</i>	79
3.4.2.	<i>Reactividad hacia Alternaria</i>	81
3.4.3.	<i>Población en la ZMVT</i>	81
3.5.	OBJETIVOS	83
3.5.1.	<i>General</i>	83
3.5.2.	<i>Particulares</i>	83
3.6.	MATERIAL Y METODOS	84
3.6.1.	<i>Determinación de UFC/m³</i>	84
3.6.2.	<i>Análisis de Riesgo</i>	84
3.7.	RESULTADOS	86
3.8.	DISCUSIÓN	89
3.9.	CONCLUSIONES	92
3.10.	LITERATURA CITADA	93
CAPITULO IV		98
TRANSFERENCIA DE CONOCIMIENTO SOBRE LA PRESENCIA DE CONIDIOS FÚNGICOS PRESENTES EN EL AIRE		98

4.1.	RESUMEN	99
4.2.	ABSTRACT	100
4.3.	INTRODUCCIÓN	101
4.4.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	103
4.4.1.	<i>Necesidad de mantener a la población informada sobre Bioaerosoles fúngicos</i>	103
4.4.2.	<i>Audiovisual como herramienta de información</i>	104
4.5.	OBJETIVOS	106
4.5.1.	<i>General</i>	106
4.5.2.	<i>Particulares</i>	106
4.6.	MATERIAL Y MÉTODOS	107
4.6.1.	<i>Audiovisual informativo como herramienta para la transferencia de conocimiento</i>	107
4.7.	RESULTADOS	109
4.8.	DISCUSIÓN	111
4.9.	CONCLUSIONES	114
4.10.	LITERATURA CITADA	115

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo I. Conidios fúngicos presentes en el aire de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca durante la Primavera, Verano y Otoño y su relación con los parámetros ambientales de humedad, temperatura, velocidad y dirección del viento

FIGURA 1.1 DELIMITACIÓN DE LA ZMVT Y UBICACIÓN DE LOS 4 SITIOS DE MUESTREO.	20
FIGURA 1. 2 UBICACIÓN DEL FILTRO EN EL EQUIPO DE MUESTREO.	22
FIGURA 1.3 UFC REGISTRADAS POR IMPACTACIÓN DIRECTA Y MEDIANTE FILTROS EN LOS 4 SITIOS DE MUESTREO.	24
FIGURA 1. 4 UFC REGISTRADAS DURANTE TODO EL MUESTREO CON AMBAS METODOLOGÍAS (MEDIANTE SEDIMENTACIÓN POR GRAVEDAD Y FILTROS) EN LOS 4 SITIOS DE MUESTREO.	25
FIGURA 1.5 LISTADO TAXONÓMICO DE LOS 90 GÉNEROS REGISTRADOS EN LA ZMVT (GÉNEROS CON * CATALOGADOS COMO ALÉRGICOS DE ACUERDO CON LEVETIN ET AL., 2016 Y TWAROCH ET L., 2015 Y CON ** GÉNEROS QUE REGISTRARON ELEVADAS CONCENTRACIONES).	26
FIGURA 1.6 DISPERSIÓN DE LAS UFC EN RELACIÓN AL PORCENTAJE DE HUMEDAD RELATIVA EN LOS 4 SITIOS DE MUESTREO POR EL MÉTODO DE SEDIMENTACIÓN POR GRAVEDAD (SG) Y FILTROS (FIL).	28
FIGURA 1. 7 DISPERSIÓN DE LAS UFC EN RELACIÓN AL PORCENTAJE DE TEMPERATURA EN LOS 4 SITIOS DE MUESTREO POR EL MÉTODO DE SEDIMENTACIÓN POR GRAVEDAD (SG) Y FILTROS (FIL).	29
FIGURA 1.8 VARIACIÓN EN LA DIRECCIONALIDAD DE LOS VIENTOS DURANTE EL PERIODO DE MUESTREO EN LOS CUATRO SITIOS.	30
FIGURA 1. 9 DISPERSIÓN DE LAS UFC EN RELACIÓN AL PORCENTAJE DE VELOCIDAD DEL VIENTO EN LOS 4 SITIOS DE MUESTREO POR EL MÉTODO DE SEDIMENTACIÓN POR GRAVEDAD (SG) Y FILTROS (FIL).	32
FIGURA 1.10 DISPERSIÓN DE LAS UFC EN RELACIÓN AL PORCENTAJE DE RADIACIÓN SOLAR TOTAL EN LOS 4 SITIOS DE MUESTREO POR EL MÉTODO DE SEDIMENTACIÓN POR GRAVEDAD (SG) Y FILTROS (FIL).	33

Capítulo II. Detección del gen *Alt a 1* e identificación genotípica de aislados de *Alternaria* mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

FIGURA 2.1 MORFOLOGÍA DE <i>ALTERNARIA ALTERNATA</i> . MODIFICADO DE SIMMONS (2007). MARCADOR NO DEFINIDO.	¡ERROR!
FIGURA 2.2 CULTIVOS MONOSPÓRICOS DE <i>ALTERNARIA</i> .	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
FIGURA 2.3 AMPLIFICACIÓN UTILIZANDO LOS OLIGONUCLEÓTIDOS DIR3ALTA2/INV4ALTA1- <i>ALTERNARIA</i> SP.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
FIGURA 2.4 AMPLIFICACIÓN DE LOS 23 AISLADOS, UTILIZANDO LOS OLIGONUCLEÓTIDOS AALTERA1/AALTERA8.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
FIGURA 2.5 ÁRBOL FILOGENÉTICO DE LOS 23 AISLADOS DE <i>ALTERNARIA</i> .	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

Capítulo III. Análisis de Riesgo a la Salud por la exposición a conidios de *Alternaria* en la ZMVT

FIGURA 3.1 DIAGRAMA DE CICLO DE CONTROL Y PREVENCIÓN DE LA ENFERMEDAD.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
FIGURA 3.2 INTERVALO EN EL QUE SE REGISTRARON LOS CONIDIOS DE <i>ALTERNARIA</i> EN CUANTO A LA HUMEDAD RELATIVA (%), TEMPERATURA (°C) Y VELOCIDAD DEL VIENTO (M/S).	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
FIGURA 3.3 VARIACIÓN EN LA CUANTIFICACIÓN DE UFC/M ³ REGISTRADA DURANTE LOS 17 MUESTREOS EN LOS 4 SITIOS.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
FIGURA 3.4 ANÁLISIS DE RIESGO EN LOS CUATRO SITIOS DE MUESTREO, DURANTE LOS 17 MUESTREOS.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

FIGURA 3.5 CASOS REPORTADOS DE INFECCIONES RESPIRATORIAS, CONJUNTIVITIS, ASMA Y NEUMONÍA
PARA LA REGIÓN DE TOLUCA. **¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.**

Capítulo IV. Transferencia de conocimiento sobre la presencia de conidios fúngicos presentes en el aire

FIGURA 4.1 DESGLOSE DE FORTALEZAS, DEBILIDADES, OPORTUNIDADES Y AMENAZAS. 110

ÍNDICE DE TABLAS

Capítulo I. Conidios fúngicos presentes en el aire de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca durante la Primavera, Verano y Otoño y su relación con los parámetros ambientales de humedad, temperatura, velocidad y dirección del viento

TABLA 1.1 NORMATIVIDAD MEXICANA QUE ESTABLECE LÍMITES PARA CONTAMINANTES CRITERIO.	10
TABLA 1.2 VALOR DE R OBTENIDO AL REALIZAR EL COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE LA HUMEDAD RELATIVA Y LAS UFC REGISTRADAS EN LOS 4 SITIOS DE MUESTREO EN LOS DOS MÉTODOS: SEDIMENTACIÓN POR GRAVEDAD (SG) Y FILTROS.	27
TABLA 1.3 VALOR DE R OBTENIDO AL REALIZAR EL COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE LA TEMPERATURA Y LAS UFC REGISTRADAS EN LOS 4 SITIOS DE MUESTREO EN LOS DOS MÉTODOS.	28
TABLA 1.4 VALOR DE R OBTENIDO AL REALIZAR EL COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE LA DIRECCIÓN DEL VIENTO Y LAS UFC REGISTRADAS EN LOS 4 SITIOS DE MUESTREO CON LOS DOS MÉTODOS; SEDIMENTACIÓN POR GRAVEDAD (SG) Y FILTROS (FIL).	30
TABLA 1.5 VALOR DE R OBTENIDO AL REALIZAR EL COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE LA VELOCIDAD DEL VIENTO Y LAS UFC REGISTRADAS EN LOS 4 SITIOS DE MUESTREO EN LOS DOS MÉTODOS; SEDIMENTACIÓN POR GRAVEDAD (SG) Y FILTROS (FIL).	31
TABLA 1.6 VALOR DE R OBTENIDO AL REALIZAR EL COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE LA RADIACIÓN SOLAR TOTAL (RST) Y LAS UFC REGISTRADAS EN LOS 4 SITIOS DE MUESTREO EN LOS DOS MÉTODOS: SEDIMENTACIÓN POR GRAVEDAD (SG) Y FILTROS (FIL).	32

Capítulo II. Detección del gen *Alt a 1* e identificación genotípica de aislados de *Alternaria* mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

TABLA 2.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO ALTERNARIA, SECCIÓN ALTERNATA.	53
TABLA 2.2 ALÉRGENOS DE <i>A. ALTERNATA</i> APROBADOS POR EL COMITÉ DE NOMENCLATURA DE ALÉRGENOS DE LA OMS/IUIS.	54
TABLA 2.3 OLIGONUCLEÓTIDOS UTILIZADOS EN LA AMPLIFICACIÓN.	60
TABLA 2.4 PROGRAMA DE AMPLIFICACIÓN	61
TABLA 2.5 MORFOLOGÍA QUE PRESENTARON LOS AISLADOS OBTENIDOS DE <i>ALTERNARIA</i> .	63

Capítulo III. Análisis de Riesgo a la Salud por la exposición a conidios de *Alternaria* en la ZMVT

TABLA 3.1 POBLACIÓN POR GRUPO DE EDAD EN EL MUNICIPIO DE TOLUCA Y SAN MATEO ATENCO.	82
-------------------------------------------------------------------------------------	----

Capítulo IV. Transferencia de conocimiento sobre la presencia de conidios fúngicos presentes en el aire

TABLA 4.1 ACTIVIDAD EN LA QUE COLABORÓ CADA PERSONA EN LA ELABORACIÓN DEL VIDEO.	107
----------------------------------------------------------------------------------	-----

ÍNDICE DE ANEXOS

Capítulo I. Conidios fúngicos presentes en el aire de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca durante la Primavera, Verano y Otoño y su relación con los parámetros ambientales de humedad, temperatura, velocidad y dirección del viento

Capítulo II. Detección del gen *Alt a 1* e identificación genotípica de aislados de *Alternaria* mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Capítulo III. Análisis de Riesgo a la Salud por la exposición a conidios de *Alternaria* en la ZMVT

ANEXO 3.1 TEMPORADA DE SIEMBRA Y COSECHA DETERMINADA PARA LA REGION TOLUCA DE ACUERDO AL SIAP, PARA LOS CULTIVOS DE MAÍZ, PAPA, ZANAHORIA Y LECHUGA. 97

Capítulo IV. Transferencia de conocimiento sobre la presencia de conidios fúngicos presentes en el aire

ANEXO 4.1 LEY GENERAL DE SALUD, ARTÍCULOS Y SUS FRACCIONES RELACIONADAS CON EL MEJORAMIENTO EN LA CALIDAD DE VIDA, GENERACIÓN DE CONOCIMIENTO Y DIFUSIÓN DE INFORMACIÓN RELACIONADA A LA INCIDENCIA Y PREVALENCIA DE ENFERMEDADES. 117

ANEXO 4.2 GRABACIÓN EN ESTACIÓN DE LA RAMAT-SAN CRISTÓBAL 120

ANEXO 4.3 CONTENIDO SUSTENTADO QUE SE ABARCA EN EL AUDIOVISUAL. 122

ANEXO 4.4 ADAPTACIÓN DE LA INFORMACIÓN PROPORCIONADA EN EL AUDIOVISUAL. 123

CAPITULO I

Conidios fúngicos presentes en el aire de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT) durante la primavera, verano y otoño y su relación con los parámetros ambientales de humedad, temperatura, velocidad y dirección del viento

1.1. RESUMEN

La presencia de partículas inorgánicas y de Bioaerosoles en particular de conidios fúngicos se ha relacionado con la incidencia y prevalencia de enfermedades respiratorias en específico de alergias, de las cuales la demanda de consulta pediátrica ha ido en aumento y se considera que comprometen hasta el 30 % de la población, sin embargo la concentración y diversidad de estos está influida por diversos factores como la ubicación geográfica, el clima y parámetros meteorológicos de humedad, velocidad y dirección del viento, temperatura y radiación solar. En México han sido pocos los estudios que se han realizado para conocer la diversidad fúngica “a pesar de esto” se ha encontrado la prevalencia de *Cladosporium* y la presencia de *Alternaria*, *Fusarium*, *Aspergillus-Penicillium* tales géneros han sido catalogados como alérgenos y al realizar las pruebas de sensibilidad son los que muestran mayor reactividad en los pacientes sensibles. El objetivo de la investigación fue identificar la biota fúngica presente en el aire de la ZMVT en tres épocas del año y su relación con los factores meteorológicos de humedad, temperatura, velocidad y dirección del viento. Se hizo un muestreo con dos metodologías; 1) sedimentación por gravedad y 2) con filtros para partículas con diámetro aerodinámico de 2.5 micrómetros (PM_{2.5}); en cuatro sitios: San Mateo Atenco, Aeropuerto, San Cristóbal Huichochitlan y Oxtotitlán, para conocer si había relación entre los parámetros meteorológicos y la concentración de conidios se aplicó el Coeficiente de correlación de Pearson. Se registró mayor cantidad de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) con el método de sedimentación que con los filtros. La mayor cantidad de UFC se registró en San Mateo seguida de Aeropuerto, San Cristóbal y por ultimo Oxtotitlán. Se identificaron 95 géneros, 19 de estos han sido catalogados como alérgenos. *Cladosporium* fue el género más abundante. De los parámetros meteorológicos la humedad fue el que mostró mayor relación, la temperatura, velocidad y dirección del viento mostraron relación pero esta no fue estadísticamente significativa, la radiación solar presentó relación pero únicamente en la primavera.

El registro de conidios fúngicos con diámetro aerodinámico ≤ 2.5 micrómetros demuestra que estos tienen la dimensión para poder ingresar en el tracto respiratorio y llegar hasta los alveolos. Conocer e identificar los conidios que están suspendidos en el aire es sumamente importante por la elevada concentración y diversidad que llegan a presentar debido a que algunos géneros al ser inhalados en grandes cantidades son nocivos para el ser humano.

Aunado a esto determinar la relación que tienen los conidios con los parámetros meteorológicos ya sea positiva o negativa es primordial para establecer y verificar la variación que registran a lo largo del año y a través de los años esto para ir conociendo el riesgo que tiene la población y poder tomar medidas preventivas que mermen la incidencia y prevalencia de enfermedades alérgicas en la ZMVT que está en constante crecimiento.

Palabras clave: Bioaerosoles, parámetros meteorológicos, ZMVT

1.2. ABSTRACT

1.3. INTRODUCCIÓN

Las partículas suspendidas en el aire están conformadas por fracciones que tienen dos composiciones: una orgánica y una inorgánica, a ambas se les ha relacionado con la incidencia y prevalencia de enfermedades respiratorias, por eso la relevancia de su estudio; la aerobiología se especializa en el comportamiento de partículas presentes en el aire. El contenido de estas en el aire es dinámico y está cambiando constantemente por la localización, clima, estacionalidad y hora del día donde se realicen los estudios (Lacey y West 2006).

En cuando a las partículas de origen químico, éstas se producen principalmente por las actividades antropogénicas, por lo que un producto colateral del desarrollo económico ha sido el incremento en la concentración de las mismas. Se calcula que en los últimos 20 años ha aumentado la incidencia de enfermedades alérgicas alrededor del mundo (Chang et al., 2013) debido a que la prevalencia de dichas enfermedades se da especialmente en áreas urbanas y países industrializados.

Los Bioaerosoles que son las partículas cuya composición es orgánica, están conformados por virus, bacterias, conidios y esporas de hongos, además de fragmentos de insectos, briofitas, plantas y nematodos microscópicos. Al tener ventajas como la pared celular que les permite sobrevivir a la desecación y su tamaño, las esporas y conidios de hongos son las partículas que se encuentran en mayor proporción debido a que se liberan grandes cantidades de estas durante su reproducción (Kendrick, 2000), aunado a esto han adquirido adaptaciones adicionales que les permiten sobrevivir en el aire (Madelin, 1994). De acuerdo a las condiciones de precipitación, humedad relativa, velocidad y dirección del viento, temperatura y radiación solar, dependerá la diversidad y concentración de conidios fúngicos (Grin-Grofón y Bosiacka, 2015).

Green et al. (2005) sugieren que 100 géneros son reconocidos como fuentes de alérgenos, estos aeroalérgenos contienen algunos componentes moleculares antigénicos, usualmente son proteínas, la importancia reside en su disponibilidad en el ambiente y el tamaño de la partícula para ser atrapada por el tracto respiratorio.

Las partículas que implican daño a la salud tienen un diámetro aerodinámico comprendido entre 1 a 10 μm , al tener esa dimensión una vez que son inhaladas pueden penetrar el tracto respiratorio, las más grandes alcanzan solamente las vías superiores y las que son $\leq 5 \mu\text{m}$ pueden llegar a los alveolos y depositarse en éstos (Green et al., 2005), sin embargo la incidencia de las enfermedades va a depender de la composición y tiempo de exposición a los conidios y la reactividad

inmunológica del individuo (Lacey, 1994). Las reacciones alérgicas vinculadas con hongos que presentan los individuos predispuestos genéticamente incluyen asma, rinitis alérgica, aspergilosis bronquiopulmonar alérgica, sinusitis alérgica, entre otras (Sharma et al., 2012 y Crameri et al., 2009). Teniendo en cuenta que este tipo de hipersensibilidad se presenta hasta en un 30% de la población debe tratarse como un problema de salud pública (Moreno, 1999).

Hasta el momento no hay un método estandarizado para el monitoreo de contaminantes biológicos (Organización Mundial de la Salud, 2007), por lo que es variable la concentración que se llega a registrar en los estudios que se realizan, el método que se utilice dependerá de los objetivos que se planteen como análisis de diversidad, viabilidad de conidios cultivables, filogenéticos o únicamente para cuantificar los conidios presentes; en distintos sitios alrededor del mundo se han realizado estudios para conocer la concentración de partículas, por mencionar algunos; Lee y Wo (2006) en Corea, detectaron la presencia de conidios de los géneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, de los cuales la concentración de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) fue constante y géneros como *Fusarium*, mostraron variación en cuanto a su presencia o ausencia durante las temporadas muestreadas; Ianovich et al. (2013) detectaron la prevalencia de esporas de *Cladosporium* comparado con *Alternaria*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Phitomyces* y *Nigrospora* en 4 sitios con altitudes y promedio de temperatura anual diferentes en Rumania durante el 2008. Al cultivar muestras haciendo un lavado de la mucosa nasal se han encontrado géneros como *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Stemphyllium*, *Rhodotorula*, *Paecilomyces*, *Crhysonilia*, *Cladophialophora*, *Candida*, *Aureobasidium*, *Chryptococcus*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Trichoderma* y *Verticillium*, siendo los 4 primeros los más comunes (Sellart et al., 2007).

En México han sido pocos los estudios que se han realizado para detectar la presencia de conidios suspendidos en el aire, por mencionar algunos: en hogares de pacientes asmáticos Rosas et al. (1997), en la Ciudad de México, registraron la presencia de los géneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Aspergillus* siendo dominante *Cladosporium*, al norte del país, en el Área Metropolitana de Monterrey (AMM) se estudió la presencia de géneros como *Alternaria*, *Cladosporium*, *Coprinus*, *Curvularia* y *Venturia* de los cuales *Cladosporium* fue el que se encontró en mayor proporción (Rocha et al., 2013), al sureste de México Ponce et al. (2010) verificaron la relación de esporas dentro y fuera de viviendas en la ciudad de Mérida, Yucatan: encontrando géneros como *Cladosporium*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Alternaria* y *Bipolaris*, prevaleciendo el

género *Cladosporium* y realizando un muestreo anual en una zona suburbana de Villahermosa Tabasco, se encontró la presencia de *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Helminthosporium*, *Monilia* y *Penicillium*, encontrando a *Aspergillus* como el género más abundante (Rosique et al., 2013), y en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), es relativamente bajo el número de estudios elaborados.

A raíz del aumento en la incidencia de enfermedades alérgicas alrededor del mundo y que la prevalencia de estas enfermedades conlleva problemas como la inhibición social, baja autoestima, déficit del funcionamiento cognitivo diario, excesiva somnolencia y efectos secundarios por la administración de fármacos antihistamínicos, además de costos por las visitas al médico y los medicamentos para el tratamiento de la enfermedad, es de vital importancia conocer la variabilidad y diversidad de conidios fúngicos suspendidos en la ZMVT que pueden llegar a inducir el en ser humano estos padecimientos, esto con la finalidad de coadyuvar en el diagnóstico, tratamiento y prevención de dichas enfermedades.

1.4. REVISION BIBLIOGRÁFICA

1.4.1. Partículas presentes en el aire

El material particulado (PM por sus siglas en inglés) es una mezcla de sólidos y líquidos de sustancias orgánicas e inorgánicas suspendidas en el aire, las cuales se clasifican de acuerdo con su diámetro aerodinámico, los principales componentes son: sulfatos, nitratos, amonios, ozono, cloruro de sodio y carbón; a las partículas que tienen una composición orgánica se les denomina bioaerosoles, están conformadas por virus, bacterias, esporas y conidios de hongos, polen, protozoarios y restos de microorganismos. Las partículas que miden $\leq 10 \mu\text{m}$ (PM_{10}) o menos pueden penetrar el tracto respiratorio, las $\text{PM}_{2.5}$ ($\leq 2.5 \mu\text{m}$) pueden llegar hasta la cavidad alveolar, causando problemas a la salud. La exposición crónica a estas partículas puede influir en el desarrollo de enfermedades respiratorias y cardiovasculares, sin embargo cada partícula tiene un potencial distinto para producir efectos en la salud humana, esto dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas, frecuencia, volumen de aire aspirado y duración de la exposición, para producir estos efectos adversos dependerá de dos factores: 1) la vulnerabilidad de las personas expuestas y 2) la magnitud de la exposición. (Pro Aire 2011-2020). El periodo de vida media de estas partículas varía de días hasta semanas, si las condiciones ambientales son adecuadas, viajan distancias de 100 km o más, en áreas urbanas suelen ser espacialmente homogéneas.

1.4.2. Partículas inorgánicas

La presencia de contaminantes de origen químico en las grandes ciudades es principalmente atribuida a las actividades antropogénicas que emiten diversas partículas generadas durante la obtención de servicios como electricidad, medios de transporte, cocción de alimentos, ebullición de agua, etc., además de la fabricación de bienes de consumo como: alimentos, medicinas o productos de limpieza (Informe Especial 2008).

La Dirección de Investigación sobre la Calidad del Aire (DICA) clasifica las fuentes de contaminación en 4 grupos: puntuales, móviles, de área y naturales (Pro Aire 2012 - 2017);

- Puntuales: son aquellos contaminantes cuya fuente es un punto fijo o estacionario, como las plantas de energía, industrias químicas, refinerías de petróleo, fábricas. De acuerdo con la industria o procesamiento que lleve a cabo pueden llegar a emitir uno o varios contaminantes criterio (contaminantes regulados por una norma que define los niveles de

concentración recomendables), además de otros contaminantes peligrosos. Dentro de estos se encuentran el SO_2 y el PM originados en la generación de energía eléctrica, ya que este proceso involucra la combustión de grandes cantidades de combustibles fósiles, de igual forma las industrias químicas son responsables de emitir Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs).

- **Móviles:** estos contaminantes incluyen las diversas formas de transporte como los automóviles, camiones, aviones, etc. La principal fuente móvil es el automóvil, ya que produce grandes cantidades de CO, en menor cantidad los óxidos de nitrógeno (NO_x) y COVs.
- **Fuentes de Área:** se refiere a una serie de fuentes pequeñas, numerosas y dispersas, no son incluidas de forma eficiente en un inventario de fuentes puntuales, pero en conjunto pueden afectar la calidad del aire en una región; como el uso de madera para cocinar o calentar agua, las imprentas, las tintorerías, etc.
- **Fuentes Naturales:** son aquellos fenómenos naturales así como la vida animal y vegetal que juegan un papel importante en el problema de la contaminación del aire, describiéndose dos fuentes que se consideran en los inventarios de emisiones atmosféricas que son las emisiones biogénicas y las emisiones de los suelos; dentro de las emisiones biogénicas se ha establecido que la vegetación, emite cantidades significativas de hidrocarburos a la atmósfera, por otra parte en las emisiones de los suelos se incluyen el óxido nitroso (N_2O), la erosión eólica y en menor proporción el metano (CH_4) emitido por las termitas, los NO_x que se emiten por los relámpagos, los SO_x generados por los volcanes y la actividad geotérmica.

1.4.2.1. Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la ZMVT

El monitoreo atmosférico se realiza para determinar la cantidad de contaminantes presentes en el aire en un lugar y tiempo determinado, es una herramienta fundamental para proteger a la población de los impactos negativos de la contaminación atmosférica (SINEICA 2014).

En México la Calidad del Aire se mide mediante un indicador que es el Índice Metropolitano de la Calidad del Aire (IMECA), el cual vigila y evalúa los niveles de la contaminación del aire con un valor de referencia que permite a la población conocer la peligrosidad que exhibe la atmósfera en un tiempo y lugar determinado. La información de este Índice para la Zona Metropolitana del Valle

de Toluca es proporcionada por la Red de Monitoreo Atmosférico del Valle de Toluca (RAMAT) y puede ser consultada en su página de internet (<http://rama.edomex.gob.mx/calidad-aire/reporte-diario>).

Los principales problemas de la Calidad del Aire en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), se relacionan con altas concentraciones de PM_{10} y O_3 .

Algunos de los problemas de salud pública que se han relacionado con la prevalencia de PM son:

- Afectaciones al sistema respiratorio
- Reducción de la función pulmonar
- Incremento de sintomatología de bronquitis y asma en niños
- Irritación en los ojos
- Inflamación en el tracto respiratorio
- Cáncer de pulmón (Almanaque 2010)

En un estudio realizado en Ciudad Juárez, Chihuahua, México se determinó que existe una relación entre las consultas por asma y enfermedades respiratorias altas cuando hay un incremento en la exposición a PM_{10} , incrementándose las consultas por asma cuando los niveles de ozono aumentaban, cabe destacar que los niveles de contaminación que registra esta ciudad son relativamente menores que los de la Cd. de México y las concentraciones de PM_{10} , no exceden el límite permisible de la Normatividad Mexicana (Hernández et al., 2000).

La Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA) mide 6 contaminantes: O_3 , CO, SO_2 , NO_2 , PST, PM_{10} y $PM_{2.5}$, estos forman parte de los contaminantes criterio, denominados así por las afectaciones a la salud y a los ecosistemas, la normatividad en México establece las concentraciones que no deberían ser excedidas por estos contaminantes, ya sea en promedio por hora o por día (Tabla 1.1).

Tabla 1.1 *Normatividad Mexicana que establece límites para contaminantes criterio.*

Contaminante criterio	Norma Oficial Mexicana
Ozono (O_3)	NOM-020-SSA1-1993
Monóxido de Carbono (CO)	NOM-021-SSA1-1993
Bióxido de Azufre (SO_2)	NOM-022-SSA1-1993
Bióxido de Nitrógeno (NO_2)	NOM-023-SSA1-1993
Partículas Suspensas Totales (PST)	NOM-024-SSA1-1993

Partículas Menores de 10 y 2.5 micrómetros (PM ₁₀ Y PM _{2.5})	NOM-025-SSA1-1993
Plomo (Pb)	NOM-026-SSA1-1993

La normatividad en México, únicamente establece los límites para contaminantes inorgánicos, no se hace ningún tipo de referencia respecto a los límites permisibles para contaminantes biológicos presentes en la atmósfera.

La ZMVT cuenta con 7 estaciones de monitoreo atmosférico, que miden los parámetros meteorológicos de: Temperatura Ambiente, Humedad Relativa, Velocidad y Dirección del Viento, Presión Atmosférica, Radiación Solar Total y Precipitación Pluvial (Red de Monitoreo 2014); abarcando la zona sur (Metepéc, Ceboruco, San Mateo Atenco), norte (Aeropuerto, San Cristóbal Huichochitlán) y centro (Toluca Centro y Oxtotitlán) del valle, las cuales operan los 365 días del año. Cada estación tiene una caseta que cuenta con un equipo para material particulado situado en el techo de misma, la medición de los contaminantes se hace en la caseta y se pasa a los analizadores que procesan los datos que se generan y se envía al Centro de Control vía internet, ahí son almacenados y se validan, una vez recopilados los datos se integran los diferentes reportes de calidad del aire, cabe mencionar que no todas las casetas miden los mismos contaminantes y parámetros meteorológicos.

Las estaciones San Mateo Atenco, Aeropuerto, San Cristóbal Huichochitlán y Oxtotitlán, de acuerdo con la Agencia de Protección Ambiental (EPA por sus siglas en inglés) son las de mayor importancia, esto en base a su ubicación y la densidad poblacional.

Para las partículas con diámetro aerodinámico de 2.5 micrómetros la RAMA utiliza un equipo de monitoreo de la marca TCR TECORA, el cual succiona un flujo de aire de 16.700 litros por metro cúbico y procesa el aire como una unidad de volumen, este determina la concentración gravimétrica de las PM_{2.5} como $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (ECHO 2003). En el interior se colocan 2 filtros de 47 mm de diámetro, donde se impactan todas las partículas que son aerotransportadas durante la succión, las partículas que sean $\geq 10 \mu\text{m}$ se impregnan en un primer filtro, y las que sean $\leq 2.5 \mu\text{m}$ se adhieren a un segundo filtro de fibra de vidrio, que es el que se colecta para analizar las partículas que se hayan impregnado.

1.4.3. Bioaerosoles suspendidos en el aire

Los Bioaerosoles que están presentes en el aire incluyen virus, bacterias, actinomicetos, fragmentos, esporas y conidios de hongos, fragmentos de líquenes y sus esporas, protistas, esporas

de plantas, polen, fragmentos de plantas y semillas pequeñas, invertebrados (ej: nematodos, ácaros e insectos), sus fragmentos y materia fecal; además piel, cabello, mucosa seca y excrementos de animales grandes (Lacey y West 2006).

Es de importancia biológica y económica la presencia de microorganismos en el aire ya que diversas enfermedades en plantas son ocasionadas por hongos, virus y bacterias que se transportan por el aire ocasionan pérdidas económicas en las cosechas contaminando los alimentos y materia orgánica como cueros, textiles y papel, en el caso del hombre se han dado brotes epidémicos por la presencia de algunos de estos organismos en la atmósfera (De la Rosa et al., 2002.).

Los microorganismos se encuentran en la atmósfera como células vegetativas pero es más frecuente encontrarlos en su forma esporulada, ya que metabólicamente son menos activos, su pared celular gruesa les permite sobrevivir a la desecación en el aire, las formas de resistencia que tienen pigmentación oscura sobreviven a la radiación ultravioleta, su baja densidad les permite permanecer suspendidas sin sedimentarse, al tener estrategia de reproducción *r* se asegura la supervivencia y dispersión, estas esporas son producidas por hongos, algas líquenes, algunos protozoarios y bacterias.

El número de microorganismos del aire en zonas pobladas depende de la actividad en la región, ya sea industrial o agrícola, de los seres vivos y la cantidad de polvo presente, su permanencia en la atmósfera va a depender de su forma, tamaño y peso, además de las corrientes de aire que los sostengan o eleven, el transporte lo realizan sobre partículas de polvo, fragmentos de hojas secas, piel, fibras de ropa y gotas de agua principalmente, en algunos casos en gotas de saliva expulsadas al toser, estornudar o hablar (De la Rosa et al., 2002.).

La exposición de la población a esporas fúngicas se diferencia del polen por la cantidad, las esporas fúngicas por metro cúbico son mayores que las de granos de polen, incluso 10 000 veces más (Bial y Aristegui 2002), los conidios suelen prevalecer por más tiempo puesto que duran meses mientras que el polen suele durar semanas.

1.4.4. Conidios fúngicos y su relación con los parámetros meteorológicos de humedad relativa, temperatura, velocidad y dirección del viento

Los parámetros meteorológicos influyen de diferente forma ya sea favorable o desfavorablemente en el crecimiento, la esporulación y dispersión de esporas y conidios.

La dispersión está dividida en tres fases: la descarga o liberación, el transporte y la deposición, esta dispersión se ve favorecida con un nivel de humedad relativa ambiental bajo y con la acción de la fuerza y de la velocidad del viento, siendo máxima durante los periodos vespertinos. La dispersión depende principalmente del movimiento de masas de aire, la turbulencia e inversión térmica, además de características de las partículas como su tamaño, forma, densidad y textura de la superficie (Lacey y West 2006).

La liberación de las esporas en muchos casos es de forma pasiva, ya sea por acción de la gravedad, aire o corrientes de agua, salpicaduras de la lluvia o por animales, especialmente por insectos, a su vez la dispersión también se realiza por el tráfico humano (Webster y Weber, 2007).

1.4.4.1. Humedad relativa

De todos los parámetros meteorológicos, la humedad relativa y la precipitación están asociadas con la disponibilidad de agua en el ambiente (Ianovici, 2016), la humedad es el factor más importante para mantener la estabilidad de los conidios ya que el agua brinda y mantiene la viabilidad de los microorganismos.

Al disminuir la humedad, se reduce el agua disponible en el ambiente para los microorganismos y al tener estos una biomembrana en la forma de bicapas de fosfolípidos, la pérdida de agua induce un cambio de una fase cristalina a una fase de gel, estas transformaciones promueven a cambios en las proteínas de la célula, que a su vez da como resultado una pérdida de viabilidad por deshidratación de la pared celular (Mohr, 2016).

1.4.4.2. Temperatura

Se ha demostrado que el aumento de la temperatura tiene un efecto que tiende a disminuir la viabilidad de los microorganismos en el aire, de igual forma la inactivación de las células inducida por la temperatura se manifiesta en la alteración de los fosfolípidos de membrana.

Cabe mencionar que se ha encontrado correlación positiva significativa con la temperatura promedio, mínima y máxima y la concentración de esporas en la atmósfera, ya que Ianovici (2016), registró una dependencia de esporas de *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Pithomyces* y *Torula* con la temperatura.

1.4.4.3. Otros factores relacionados a la presencia de conidios en el aire

Algunos factores que causan la inactivación de los aerosoles son los radicales de oxígeno y la radiación solar, además se ha observado una relación negativa entre la concentración de oxígeno y la viabilidad de los microorganismos (Griffiths et al., 2001).

El cambio climático es un factor que se ha determinado como influencia en la presencia de aeroalérgenos, de acuerdo con Reid y Gamble (2009), la concentración de CO₂ puede tener impacto en la producción, distribución, dispersión y contenido alérgico y en el crecimiento y distribución de organismos que lo producen (pastos, árboles y hongos), esto podría incrementar la incidencia de enfermedades alérgicas por la alta concentración de aeroalérgenos. De acuerdo a Cecci et al. (2010) el cambio climático también influye significativamente en la concentración de aeroalérgenos.

Por otro lado, al aumentar la presión atmosférica registra una correlación con la menor concentración de esporas en la atmósfera (Ianovici 2016).

1.4.5. Hongos como agente causal de enfermedades

Los hongos ocupan distintos nichos en la naturaleza como necrótrofos, micorrízicos, saprobios, etc. (Hawksworth y Merrer, 2005), sin embargo a algunos se les ha relacionado con patologías hacia el ser humano como: micosis (crecimiento del hongo como parásito que afecta los tejidos del hospedero), micotoxicosis (intoxicaciones ocasionadas por la ingestión de alimentos contaminados con metabolitos secundarios tóxicos excretados por los hongos), micetismo (envenenamiento por el consumo de cuerpos fructíferos de macrohongos) y alergias como rinitis alérgica, conjuntivitis y asma bronquial.

El contacto que tiene el ser humano con los hongos presentes en el aire es a través de la inhalación, ingestión y contacto directo con la epidermis, la inhalación como la ruta predominante de exposición trae consigo resultados adversos para la salud (Pepper y Gerba 2004), las partículas pueden alojarse en distintos sitios de acuerdo a su dimensión, las más grandes permanecerán en el tracto respiratorio superior (nariz y nasofaringe), las que sean $< 5 \mu\text{m}$ son eliminadas mediante estornudos o al realizar la limpieza de la nariz, las que logran llegar hasta la faringe que tienen un diámetro de entre $2\text{-}5 \mu\text{m}$ son deslizadas por acción mucociliar y son ingeridas, aquellas partículas con diámetro de 1 a $5 \mu\text{m}$ pueden ser transportadas al pulmón y aquellas cuyo diámetro oscila de 1 a $2 \mu\text{m}$ pueden quedar retenidas y alojarse en los alveolos (Stetzenabach, 2016).

En los últimos 20 años, la incidencia de enfermedades alérgicas se ha incrementado alrededor del mundo (Chang et al., 2013), aunado a esto, la sensibilización contra los alérgenos se encuentra en aumento, comprometiendo hasta un 30% de los individuos en algunas comunidades y determinando que más de 6.5 millones de personas asmáticas presentan sensibilidad a los hongos (Denning et al., 2014). Esta sensibilidad de los individuos, generalmente es resultado de la exposición repetitiva a los antígenos del hongo (Goldman et al., 2009). En pruebas de sensibilidad *Skin prick test* a infantes, de 28.4 % pacientes sensibilizados, 7.5 % reaccionaron hacia hongos (LeMasters et al., 2006). La presencia de alérgenos fúngicos persiste tanto en espacios abiertos como cerrados, la exposición intensa y prolongada contribuye a la cronicidad y severidad del asma y alergias en personas sensibilizadas.

1.4.6. Presencia de conidios en el aire

1.4.6.1. Estudios realizados a nivel mundial

Los estudios que se han realizado a nivel mundial varían en cuanto a la ubicación geográfica, tiempo de la toma de muestra, hora, mes, meses, año o años en que se realice, equipo utilizado, medios de cultivo que se emplean. A causa de que no hay un método estandarizado los resultados que se arrojan en muchas ocasiones no pueden ser comparables.

Hameed et al. (2009) en Egipto, registraron variación en la concentración de UFC durante el transcurso del día, detectando un incremento de las 18 a las 20 hrs, siendo constante el incremento en primavera, otoño e invierno, lo cual se atribuye a la reducción en la temperatura y radiación solar y un incremento en las actividades del hombre, aunado a esto, se detectó un incremento en la humedad relativa lo cual podría ayudar a reparar el daño físico de los microorganismos que están presentes en el aire y favorecer su viabilidad.

Al sureste de Estados Unidos Yamamoto et al. (2012) hicieron un estudio para conocer si había una relación entre el tamaño de los conidios y la diversidad estacional de hongos alérgenos y patógenos, determinando que aumenta la abundancia del Filum Ascomycota (>5.8 – 9.0 μm ; Ej.: *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Curvularia*) cuando incrementa el diámetro aerodinámico de los propágulos, comparado con el Filum Basidiomycota (<2.1 μm , Ej.: *Cryptococcus*, *Rhodotorula*); en cuanto a la estacionalidad, el otoño registró mayor abundancia respecto a la primavera y el verano.

En Taipei, Lin y Li (2000), correlacionaron la concentración de hongos del aire con los contaminantes, se registró una correlación positiva de *Penicillium* con el PM₁₀ y de *Cladosporium* con hidrocarburos y una correlación negativa se registró entre el ozono y los aerosoles fúngicos.

1.4.6.2. Géneros aerotransportados registrados en México

En México han sido limitados los muestreos que indican la presencia, cantidad y frecuencia de aparición de conidios aerotransportados.

Rocha et al. (2010) en un muestreo realizado en la Ciudad de Mérida en Febrero de 1997, en el aire exterior e interior de 30 viviendas detectaron la presencia de 16 géneros, registrando a *Cladosporium* como el más abundante seguido de *Fusarium*, *Curvularia* y *Acremonium*, en menor cantidad se encontró *Alternaria*, *Bipolaris*, *Aspergillus*, *Absidia*, *Chrysosporium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Scopulariopsis* y *Trichophyton*.

En la ciudad de México, Hernández et al. (2014) detectaron la presencia de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Alternaria* a diferente profundidad en dos estaciones (Tacubaya y Azcapotzalco) del Sistema de Transporte colectivo Metro durante Diciembre de 2010 y Abril de 2011 que abarcan la temporada seca fría y seca cálida respectivamente, registrando concentraciones superiores durante la temporada seca cálida que en la seca fría, sin embargo la diferencia no es estadísticamente significativa, cabe destacar que las partículas detectadas, corresponden a la fracción respirable. Aunado a esto se ha encontrado la presencia de géneros como *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Chrysosporium*, *Penicillium* entre otros (Rosas et al., 1997; Rosas et al., 1990; Calderón et al., 1997; López-Urbina, 2011).

Martínez et al. (2016), hizo un estudio de diversidad en distintas salas dentro de 2 hospitales en la Ciudad de México durante la época de lluvias y secas, sin embargo no registró diferencias significativas en la concentración de UFC/m³ entre las 2 épocas de muestreo, los géneros que registraron fueron *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Paecilomyces*, *Mucor*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Trichoderma*, *Cladophialophora* y *Rhizopus*, siendo los 3 primeros los más abundantes.

1.4.6.3. Presencia de conidios en la ZMVT

Han sido escasos los estudios que se han realizado en la ZMVT, y los que se han realizado en cuanto a la presencia de conidios ha sido poco el tiempo y número de muestras obtenidas.

Galindo-Martínez (2011) de Diciembre a Noviembre de 2009 utilizando un muestreador de la marca TCR Tecora para $PM_{2.5}$, registró la presencia de 17 géneros fúngicos, en dos sitios en el valle de Toluca, *Penicillium*, *Cladosporium* y *Epicoccum* fueron los más abundantes, géneros como *Acladium*, *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botryoderma*, *Chaetophora*, *Chrysonilia*, *Geotrichum*, *Mammaria*, *Memnoniella*, *Stachybotrys* y *Varicosporium* fueron registrados en menor cantidad.

Rivera-Pérez (2011) en un estudio hecho en el mismo periodo que Galindo-Martínez, reporta la presencia de 10 géneros siendo los más abundantes *Geotrichum*, *Monascus*, *Sepedonium*, *Cladosporium* e *Isaria*.

1.5. OBJETIVOS

1.5.1. General

Determinar la presencia de conidios suspendidos en el aire de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca y conocer su relación con los parámetros ambientales de velocidad y dirección del viento, humedad y temperatura.

1.5.2. Particulares

Obtención de conidios fúngicos suspendidos en el aire de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca para su identificación y cuantificación.

Relacionar los conidios encontrados con los parámetros ambientales de velocidad y dirección del viento, humedad y temperatura.

1.6. HIPOTESIS

La variación en las concentraciones de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), se atribuye entre otros factores a los parámetros meteorológicos de Humedad, Temperatura y Velocidad y Dirección del viento.

1.7. MATERIAL Y METODOS

1.7.1. Zona Metropolitana del Valle de Toluca

La Zona Metropolitana está ubicada en la Zona sur del Valle de Toluca (Arteaga, 2005) está conformada por 8 municipios (Fíg.1.1), comprenden una superficie de 2,669.6 que corresponde al 11.9% del territorio estatal, se localiza a una altura de 2,650 msnm, entre los paralelos 19°05' y 19°27' latitud norte y los meridianos 99°23' y 99°53' longitud oeste.

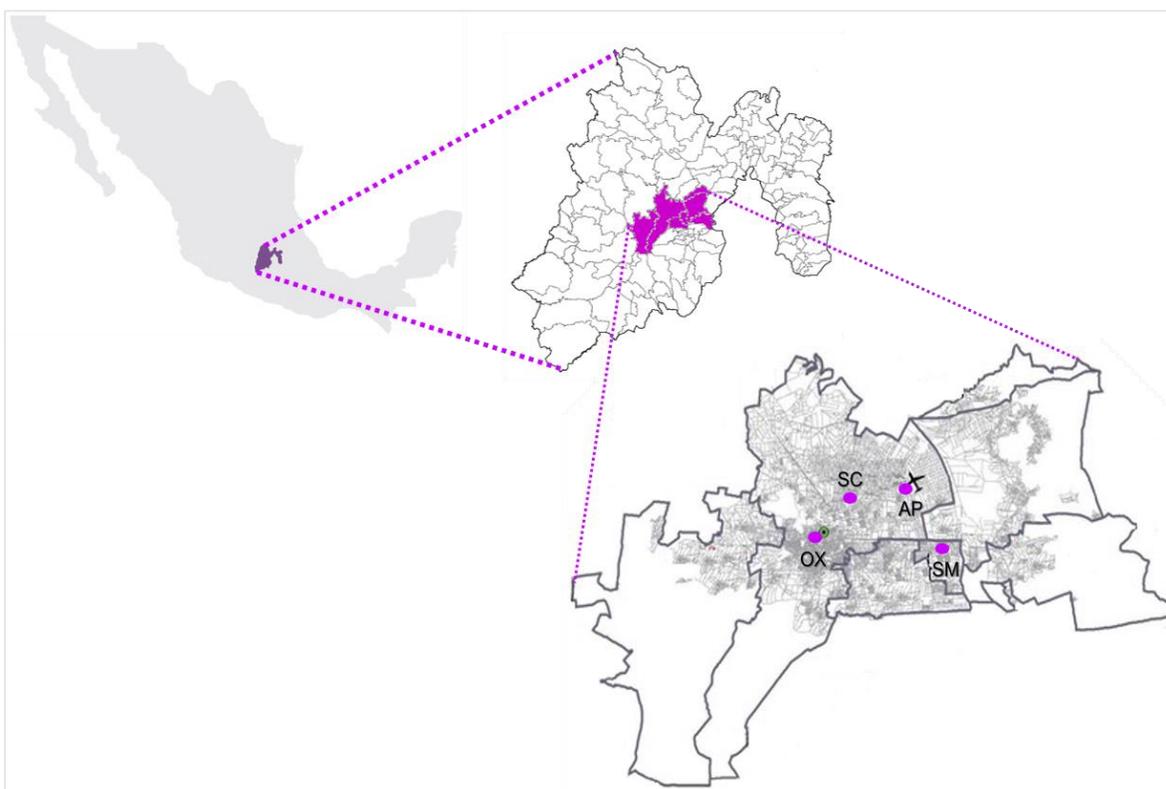


Figura 1.1 Delimitación de la ZMVT y ubicación de los 4 sitios de muestreo.

La ZMVT antes denominada Zona Metropolitana de la Ciudad de Toluca cuenta con 3 tipos de clima: 1) clima templado subhúmedo con régimen de lluvias en verano, este abarca la mayor parte de los municipios, 2) clima semifrío subhúmedo con régimen de lluvias en verano, este presenta dos tipos de subclima: (a) el semifrío subhúmedo, es característico de zonas con altitud considerable como el Nevado de Toluca, la Sierra de Monte Alto y la Sierra de las Cruces; (b) el semifrío húmedo, se localiza solamente en una porción del municipio de Xalatlaco; y 3) clima frío con temperatura media anual entre $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, este es característico de zonas altas como el volcán Nevado de Toluca. De igual forma se presentan 3 épocas climatológicas: 1) época seca-

fría, registra la temperatura promedio mensual más baja durante el año, comprende los meses de noviembre a febrero oscilando entre los 9° y 11°C, 2) época seca-cálida, comprende los meses de marzo a mayo presentando un ascenso en la temperatura hasta llegar a los 15° C, 3) época de lluvia está definida por los meses de junio a octubre, registra una disminución en la temperatura llegando a los 11° y 13° C. En cuanto al comportamiento del tiempo hay una marcada dominancia de los vientos del sur y suroeste, a diferencia del Valle de México, la ZMVT no está encerrada por barreras naturales lo cual favorece la circulación del viento que se observa la mayor parte del año (Sistema de Monitoreo Atmosférico 2007). La mayoría de los municipios que conforman la ZMVT son de carácter rural por lo que predomina el uso de suelo agrícola con un 63.6%, seguido del forestal con 19.4%, otros usos con 12.85% y el uso urbano 4.15 % (ProAire 2012 -2017).

La toma de muestra se realizó en cuatro de las estaciones pertenecientes a la RAMAT estas son: San Mateo Atenco, Aeropuerto, San Cristóbal Huichochitlán y Oxtotitlán. Los parámetros ambientales de humedad, temperatura, velocidad y dirección del viento y radiación UV fueron obtenidos de la RAMAT el día de la toma de muestra.

1.7.2. Conidios fúngicos suspendidos en el aire

El muestreo se realizó de abril a diciembre de 2014 con una periodicidad de 15 días, teniendo un total de 17 muestreos, abarcando la estaciones primavera, verano y otoño, englobando las épocas de secas y lluvias, se obtuvieron dos muestras: una para comprobar que los conidios suspendidos pueden tener la dimensión suficiente para lograr penetrar el tracto respiratorio mediante un filtro colocado en un equipo para PM_{2.5} y la segunda por el método de Sedimentación por gravedad en cajas de Petri con Agar Rosa de Bengala para corroborar la viabilidad de los conidios.

1.7.2.1. Obtención de conidios

Para las muestras obtenidas a partir del equipo para PM_{2.5}, este se programó por un lapso de 24 hrs para captar las partículas que estuvieran presentes en los alrededores de las estaciones, las cuales quedaron impregnadas en el filtro. Al extraer el filtro del equipo, se colocó en un porta filtro (Fig. 1.2) y fue tratado como espécimen biológico, se transportó al laboratorio de Micología del Departamento el Hombre y su Ambiente de la UAM-X y se mantuvo en refrigeración para no modificar la composición y mantener la viabilidad de los conidios hasta el momento de realizar la extracción de los mismos mediante un lavado que consisto en cortar la mitad del filtro, colocándolo dentro de un tubo Falcon con 3 ml de Tween 80 al 0.05% estéril, se agitó con un Vortex-Genie®

durante 2 minutos repitiendo este proceso dos veces, de la suspensión resultante se tomaron 100 μ l y se colocaron en una caja de Petri con agar Rosa de Bengala esparciendo la suspensión con un rastrillo de vidrio hasta que el líquido fue absorbido por el medio.



Figura 1. 2 Ubicación del filtro en el equipo de muestreo.

En cuanto a las muestras de sedimentación por gravedad, se expusieron cajas de Petri con agar Rosa de Bengala (se le agregó Cloranfenicol (500mg/1L) para inhibir el crecimiento de microorganismos diferentes a los hongos, especialmente bacterias) en la misma zona donde se ubica el muestreador para PM_{2.5} de la marca TCR TECORA durante un lapso de 15 minutos, posterior a la toma de muestra se transportaron al laboratorio de la UAM-X bajo las mismas condiciones que los filtros.

Tanto las cajas de Petri resultantes del lavado de los filtros como las muestras obtenidas por gravedad se incubaron a 28°C de 5 a 7 días, para favorecer el crecimiento de las colonias y poder realizar la identificación.

1.7.2.2. Identificación y cuantificación

La identificación consistió en dos etapas: macromorfológica y micromorfológica.

a) Identificación Macromorfológica

Al alcanzar un crecimiento óptimo y basándose en características morfológicas como tamaño, color, forma, consistencia, difusión y pigmentación (Mier et al., 2002) principalmente se seleccionaron las colonias que presentaran características diferentes.

Se cuantificaron todas las colonias que presentaron morfología diferente y se registraron como Unidades Formadoras de Colonia (UFC).

b) Identificación Micromorfológica

De cada una de las colonias que presentan morfología diferente se hizo una preparación en fresco, la cual consistió en extraer directamente de la colonia un fragmento con un asa colocándolo en un porta objetos y se tiñó con azul de algodón, se cubrió con un cubre objetos, seguido de esto se observó en un microscopio óptico Nikon®, para así diferenciar y verificar la presencia de estructuras reproductoras (conidios y esporas), septos o ausencia de estos en las hifas, además de pigmento que llegara a presentar la colonia y de acuerdo con claves taxonómicas (Barnett y Hunter 1987; Samson et al., 1984) se identificó la diversidad de géneros fúngicos que lograron desarrollar un crecimiento óptimo.

1.7.3. Análisis estadístico

1.7.3.1. *Relación con parámetros ambientales*

Para conocer la relación de las partículas con los parámetros ambientales, se calculó el Coeficiente de Correlación de Pearson que permitió determinar si hay relación entre las variables y que tan fuerte es la asociación.

Se representa por r y se obtiene tipificando el promedio de los productos de las puntuaciones diferenciales de cada caso en las dos variables correlacionadas teniendo que:

$$r_{xy} = \frac{\sum x_i y_i}{n S_x S_y}$$

donde:

x_i e y_i = se refieren a las puntuaciones diferenciales de cada par

n = el número de casos

S_x y S_y = las desviaciones típicas de cada variables

El coeficiente toma valores entre -1 y 1: un valor de 1 indica relación lineal perfecta positiva; un valor de -1 indica relación lineal perfecta negativa (en ambos casos los puntos se encuentran dispuestos en una línea recta); un valor de 0 indica relación lineal nula.

1.8. RESULTADOS

1.8.1. Conidios registrados

Durante el muestreo realizado de abril a noviembre de 2014 se tomaron 17 muestras por cada sitio de muestreo (San Mateo Atenco, Aeropuerto y San Cristóbal Huichochitlán), a excepción de Oxtotitlán del que solo se obtuvieron 15 muestras por cuestiones de funcionamiento del equipo para PM_{2.5}.

1.8.1.1. Variación espacial y temporal de conidios

Se registró un total de 2595 UFC, 2132 UFC (82%) obtenidas por la impactación directa y 463 UFC (18%) obtenidas de los filtros para PM_{2.5}.

San Mateo Atenco registró 812 UFC, 846 UFC para Aeropuerto, 927 y 1035 UFC para San Cristóbal y Oxtotitlán respectivamente (Fig. 1.3).

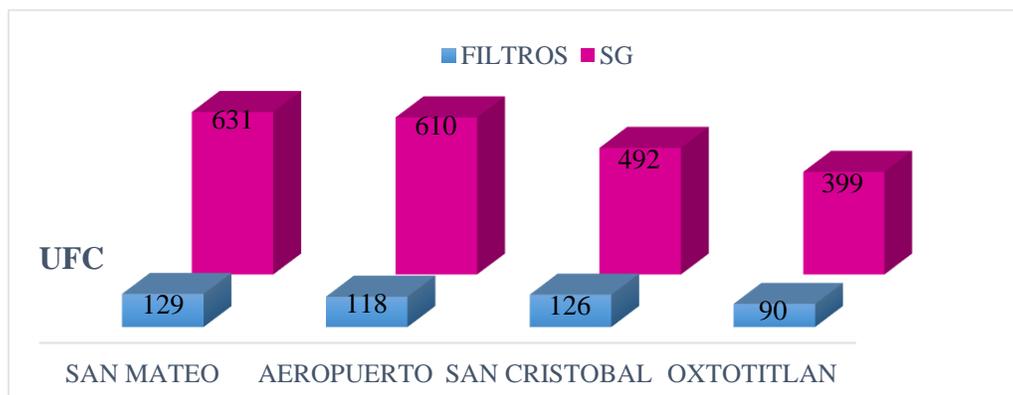


Figura 1.3 UFC registradas por Impactación directa y mediante filtros en los 4 sitios de muestreo.

El pico más alto se registró en el muestreo 10 (28/08/2014), siendo San Mateo la estación que registró mayor UFC seguido de Aeropuerto en el muestreo 3. El muestreo que registró menor cantidad de UFC fue el muestreo 5 realizado el 18 de junio (Fig. 1.4).

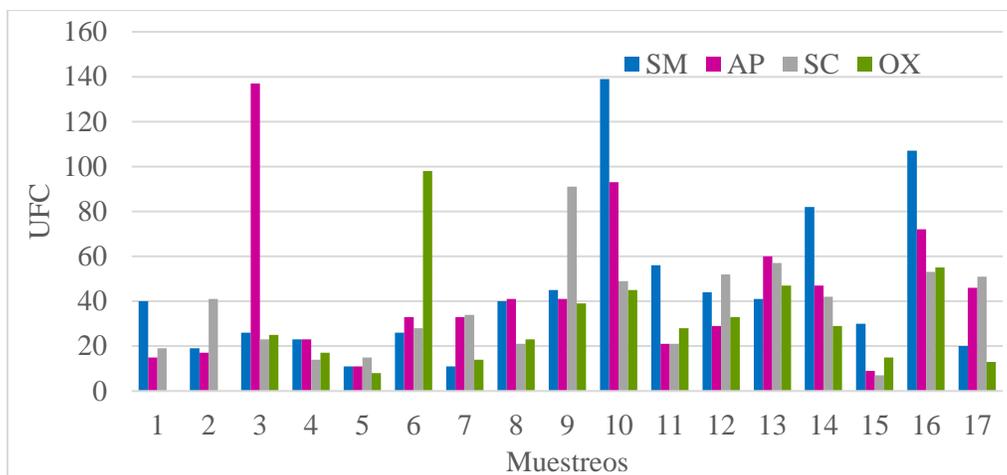


Figura 1. 4 UFC registradas durante todo el muestreo con ambas metodologías (mediante sedimentación por gravedad y filtros) en los 4 sitios de muestreo.

1.8.1.2. Listado taxonómico

Una vez realizada la identificación micromorfológica se determinó la presencia de 95 géneros fúngicos (Fig. 1.5), además se registró la presencia de colonias que no desarrollaron estructuras que permitieran determinar el género al que pertenecían por lo que se registraron como Levaduras, Picnidios, Clamidosporas, Hongos Dematiaceos y Micelio Estéril, conforme a la morfología que se observó en el microscopio.

De los géneros registrados 19 han sido catalogados como alérgenos, estos son: *Mucor*, *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Curvularia*, *Bipolaris*, *Stemphylium*, *Phoma*, *Epicoccum*, *Aureobasidium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Monilia*, *Acremonium*, *Botrytis* y *Verticillium*. Únicamente *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Monilia* registran elevadas concentraciones.

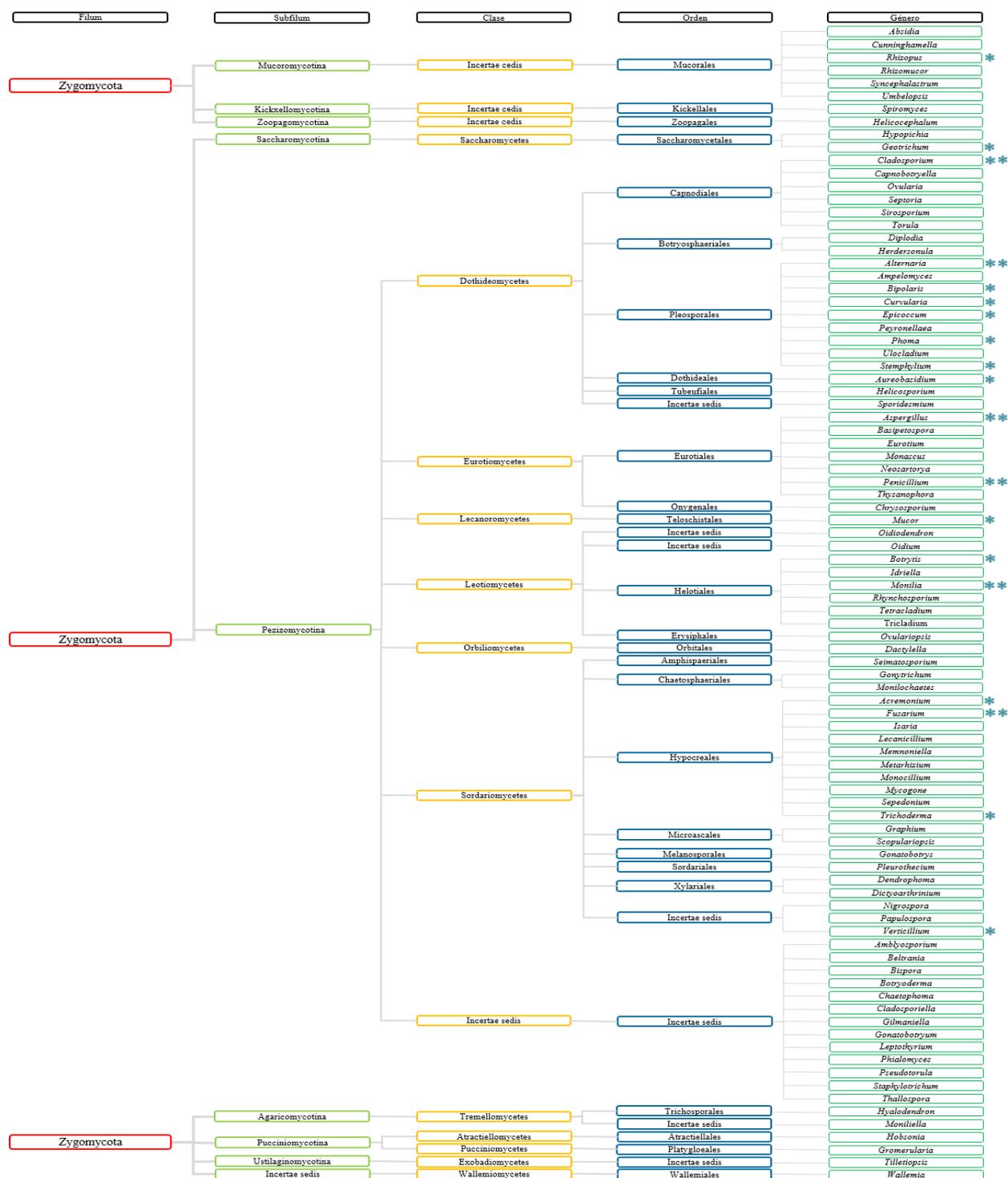


Figura 1.5 Listado taxonómico de los 90 géneros registrados en la ZMVT (Géneros con * catalogados como alérgenos (Levetin et al., 2016; Twaroch et al., 2015) y con ** géneros que registraron elevadas concentraciones).

La clasificación que se muestra es de acuerdo con Indexfungorum (<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>) y Mycobank (<http://www.mycobank.org/quicksearch.aspx>).

Los géneros *Candelabella*, *Diplococcum*, *Echinotryum*, *Olptrychium* y *Verticladium*, están en proceso de clasificación.

1.8.2. Relación de parámetros ambientales con la presencia de conidios

La presencia de conidios fúngicos en la atmósfera varía por diversos factores como las condiciones climáticas (humedad, temperatura, velocidad y dirección del viento), la época del año, la hora del día y el lugar en el que se toma la muestra principalmente, además del método con que se realice y tiempo durante el que se tome la muestra.

Al realizar el Coeficiente de Correlación de Pearson se registró variabilidad en cuanto a la relación que registraron los parámetros con el UFC de los conidios registrados.

1.8.2.1. Humedad Relativa

De los cuatro sitios de muestreo las estaciones San Cristóbal y Oxtotitlán fueron las que mostraron relación positiva significativa (>5) con la humedad relativa. La época del año en que se observó una relación positiva significativa entre los conidios y la humedad fue el Verano en San Cristóbal y en San Mateo, esto con los datos obtenidos con el método de Sedimentación por gravedad; con este mismo método en el otoño se registró relación positiva significativa en los cuatro sitios, únicamente en Aeropuerto ($r=0.38$) no fue significativa la relación. En cuanto a los datos obtenidos de los filtros, únicamente en San Cristóbal y Oxtotitlán se registró relación positiva significativa durante la primavera, cabe mencionar que San Mateo y Aeropuerto durante esta estación obtuvieron una r positiva, sin embargo este valor no es significativo (Tabla 1.2), durante el verano y otoño los valores de r que se registraron fueron negativos.

Tabla 1.2 Valor de r obtenido al realizar el coeficiente de Correlación de Pearson entre la Humedad relativa y las UFC registradas en los 4 sitios de muestreo en los dos métodos: sedimentación por gravedad (SG) y filtros.

Sitio	Primavera		Verano		Otoño	
	Filtros	SG	Filtros	SG	Filtros	SG
San Mateo	0.17	-0.72	-0.29	0.16	0.06	0.51
Aeropuerto	0.16	-0.48	0.31	0.20	-0.54	0.38
San Cristóbal	0.76	-0.35	-0.22	0.70	-0.23	0.60
Oxtotitlán	0.60	-0.28	0.33	0.72	-0.12	0.80

En cuanto al intervalo de Humedad relativa en que se registraron las UFC fue de 53 a 94 %, siendo 60 – 80 % el porcentaje en que se detectó mayor presencia de UFC (Fig. 1.6).

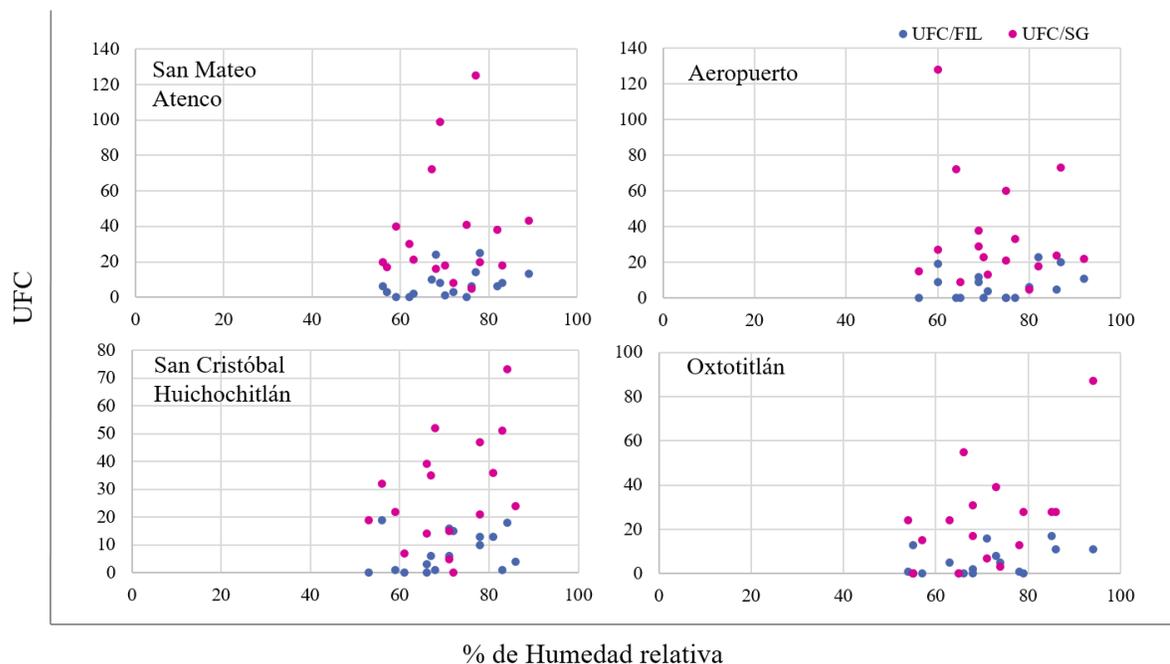


Figura 1.6 Dispersión de las UFC en relación al porcentaje de Humedad relativa en los 4 sitios de muestreo por el método de sedimentación por gravedad (SG) y filtros (FIL).

1.8.2.2. Temperatura

Los valores que se registraron al realizar la Correlación de Pearson entre temperatura y cantidad de conidios únicamente fueron significativos ($>.5$) durante la primavera para las estaciones San Mateo y Oxtotitlán en las muestras obtenidas de los filtros y en el otoño en la estación Aeropuerto con el método de sedimentación por gravedad (Tabla 1.3).

Tabla 1.3 Valor de r obtenido al realizar el coeficiente de Correlación de Pearson entre la Temperatura y las UFC registradas en los 4 sitios de muestreo en los dos métodos.

Sitio	Primavera		Verano		Otoño	
	Filtros	SG	Filtros	SG	Filtros	SG
San Mateo	0.61	-0.91	0.28	0.15	-0.18	0.28
Aeropuerto	0.34	-0.22	-0.36	0.05	-0.39	0.61
San Cristóbal	-0.65	0.20	0.52	-0.29	-0.15	0.22
Oxtotitlán	0.94	0.15	-0.21	-0.93	-0.05	0.25

La temperatura en la que se registraron los conidios osciló entre 8.8 y 19.3 °C, siendo los 15°C la temperatura en donde se registró mayor presencia de conidios (Fig. 1.7).

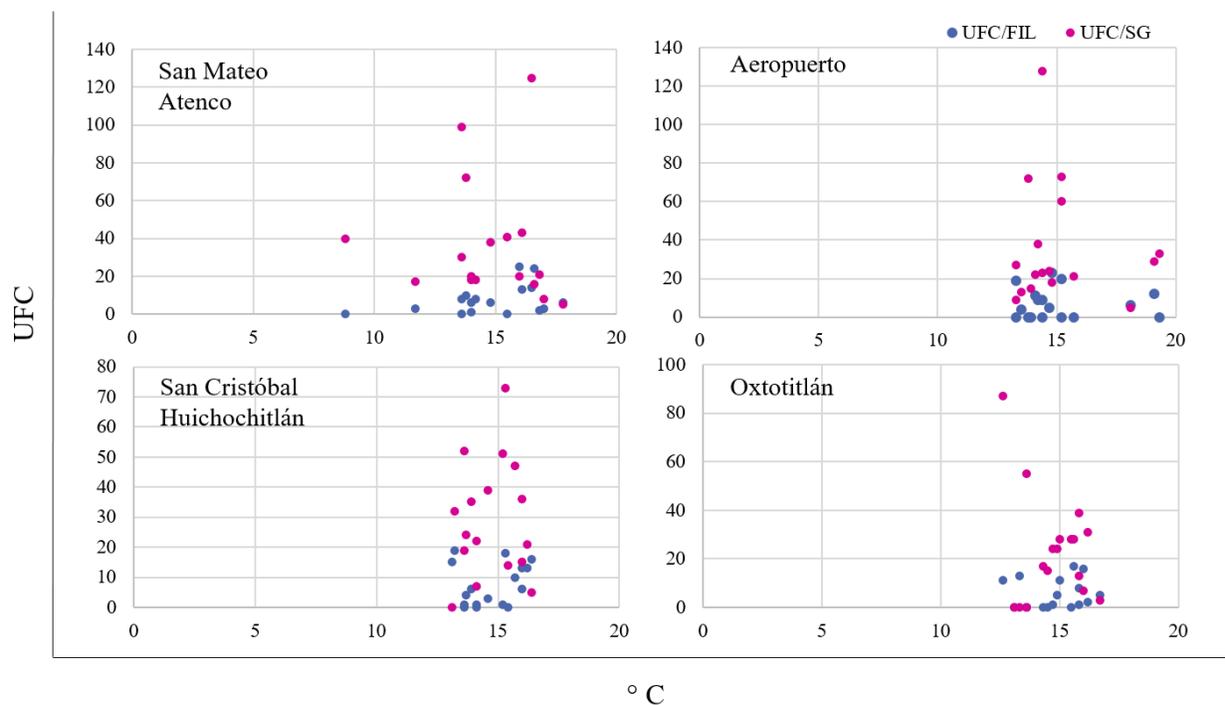


Figura 1. 7 Dispersión de las UFC en relación al porcentaje de Temperatura en los 4 sitios de muestreo por el método de sedimentación por gravedad (SG) y filtros (FIL).

1.8.2.3. Dirección y Velocidad del viento

En cuanto a la direccionalidad San Mateo, Aeropuerto y San Cristóbal muestran la procedencia de vientos del sur, siendo San Cristóbal el sitio que registra mayor variabilidad en cuanto al ingreso de los vientos. En Oxtotitlán se registra tanto del este como del oeste (Fig. 1.8).

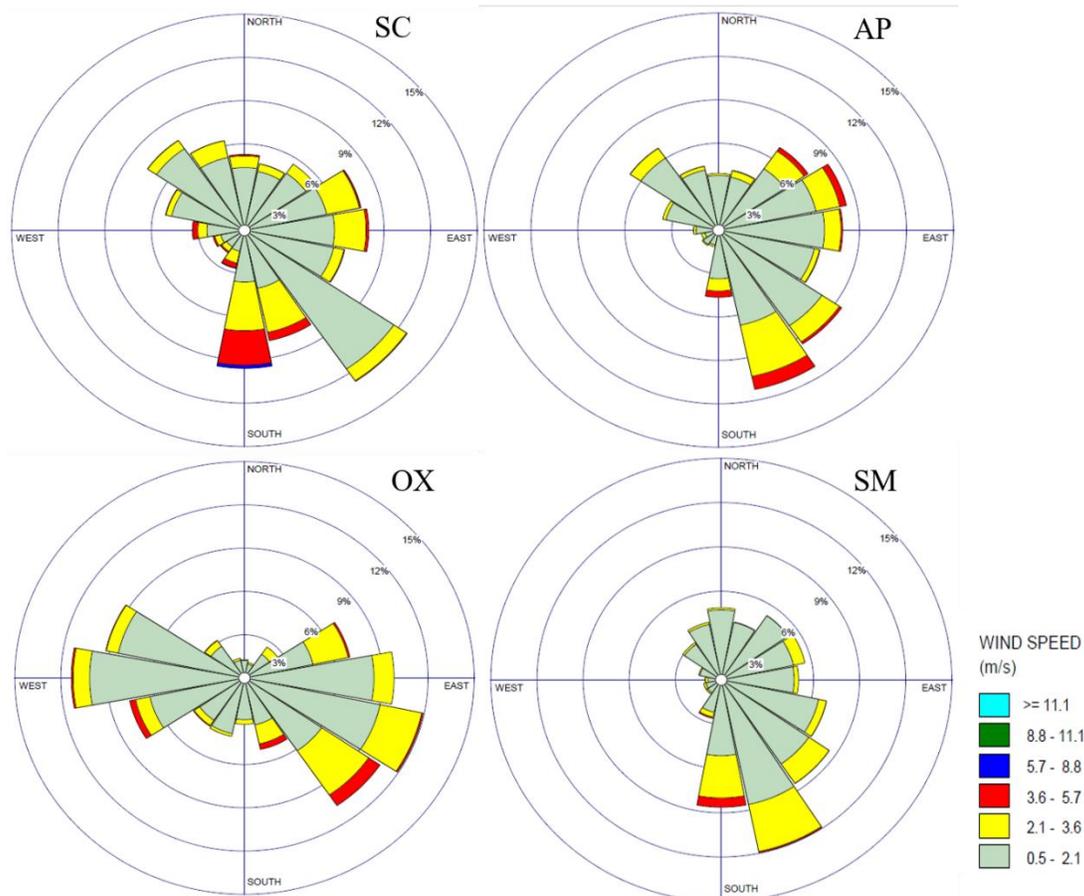


Figura 1.8 Variación en la direccionalidad de los vientos durante el periodo de muestreo en los cuatro sitios.

La presencia de UFC con relación a la dirección del viento únicamente se observó relación positiva significativa ($r = > 0.5$) en otoño por el método de sedimentación por gravedad y únicamente en primavera en los conidios obtenidos a partir de los filtros, el resto de los valores para ambos métodos no fueron significativos. Con el método de sedimentación por gravedad en la primavera se registraron valores de r positivos pero estos no fueron mayores que 0.5 por lo que se considera que no tienen relación estadísticamente significativa (Tabla 1.4).

Tabla 1.4 Valor de r obtenido al realizar el coeficiente de Correlación de Pearson entre la dirección del viento y las UFC registradas en los 4 sitios de muestreo con los dos métodos; sedimentación por gravedad (SG) y filtros (FIL).

Sitio	Primavera		Verano		Otoño	
	Filtros	SG	Filtros	SG	Filtros	SG
San Mateo	0.72	-0.87	-0.59	-0.12	0.52	0.71
Aeropuerto	0.44	0.36	-0.002	-0.35	-0.40	0.97
San Cristóbal	-0.68	0.20	-0.70	0.18	-0.86	-0.05
Oxtotitlán	-0.81	0.24	-0.35	-0.74	-0.59	0.44

La cantidad de conidios únicamente registró relación positiva significativa (> 0.5) con la velocidad del viento durante el otoño en los sitios Aeropuerto, San Cristóbal y Oxtotitlán cuando se utilizó el método de método de sedimentación por gravedad, el cual registró el valor de r más alto con 0.90. Para las muestras obtenidas de los filtros únicamente se registró relación positiva significativa en la estación Oxtotitlán durante la primavera. De igual forma el método de sedimentación por gravedad registró valores positivos comparados con los obtenidos de los filtros, sin embargo estos no fueron significativos (Tabla 1.5).

La velocidad en que se registró mayor cantidad de UFC fue 10 m/s.

Tabla 1.5 Valor de r obtenido al realizar el coeficiente de Correlación de Pearson entre la velocidad del viento y las UFC registradas en los 4 sitios de muestreo en los dos métodos; sedimentación por gravedad (SG) y filtros (FIL).

Sitio	Primavera		Verano		Otoño	
	Filtros	SG	Filtros	SG	Filtros	SG
San Mateo	-0.50	0.45	-0.01	0.005	-0.58	-0.04
Aeropuerto	-0.28	0.48	0.37	0.32	-0.32	0.67
San Cristóbal	-0.34	0.40	-0.22	-0.24	0.26	0.67
Oxtotitlán	0.69	0.23	0.19	0.46	-0.66	0.90

La velocidad de viento durante el periodo del muestreo fue variable, siendo más constante el rango de velocidad de 0.5 a 2.1 m/s, seguido de 2.1 a 3.6 m/s y presentándose en menor proporción velocidad de 3.6 a 5.7 m/s, siendo esta más frecuente en Oxtotitlán comparado con el resto de los sitios.

En San Mateo se registró menor variación de velocidad comparado con el resto de las estaciones, San Cristóbal fue más variable en las velocidades que registro, llegando hasta 30 m/s en uno de los muestreos, 5 m/s fue la menor velocidad que presentó Aeropuerto y en Oxtotitlán registró en varias ocasiones velocidades mayores a los 20 m/s (Fig. 1.9).

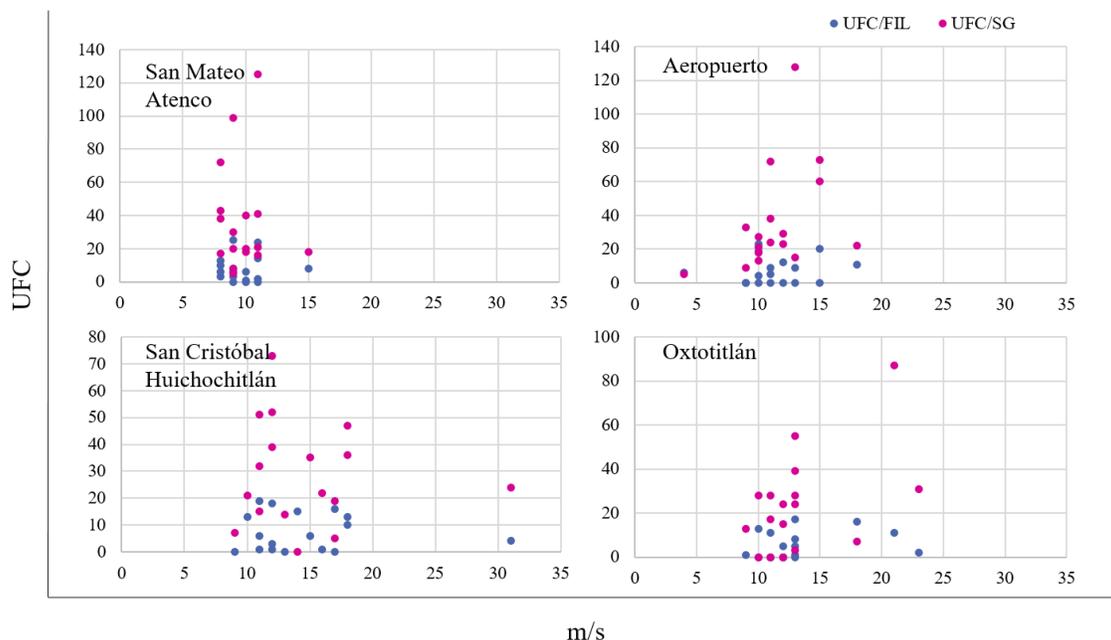


Figura 1. 9 Dispersión de las UFC en relación al porcentaje de velocidad del viento en los 4 sitios de muestreo por el método de sedimentación por gravedad (SG) y filtros (FIL).

1.8.2.4. Radiación Solar Total

Para este parámetro únicamente se registró una relación positiva significativa en San Cristóbal, cuando se utilizó el método de sedimentación por gravedad durante la Primavera con una $r=0.72$ (Tabla 1.6).

Tabla 1.6 Valor de r obtenido al realizar el coeficiente de Correlación de Pearson entre la Radiación Solar Total (RST) y las UFC registradas en los 4 sitios de muestreo en los dos métodos: sedimentación por gravedad (SG) y filtros (FIL).

Sitio	Primavera		Verano		Otoño	
	Filtros	SG	Filtros	SG	Filtros	SG
San Cristóbal	0.01	0.72	0.21	-0.42	-0.15	-0.50

Los valores radiación solar total que se registraron durante la primavera fueron muy variables, desde los 100 hasta los 320 watt/m^2 , registrando mayor presencia de UFC entre los 150 y 230 watt/m^2 (Fig.1.10).

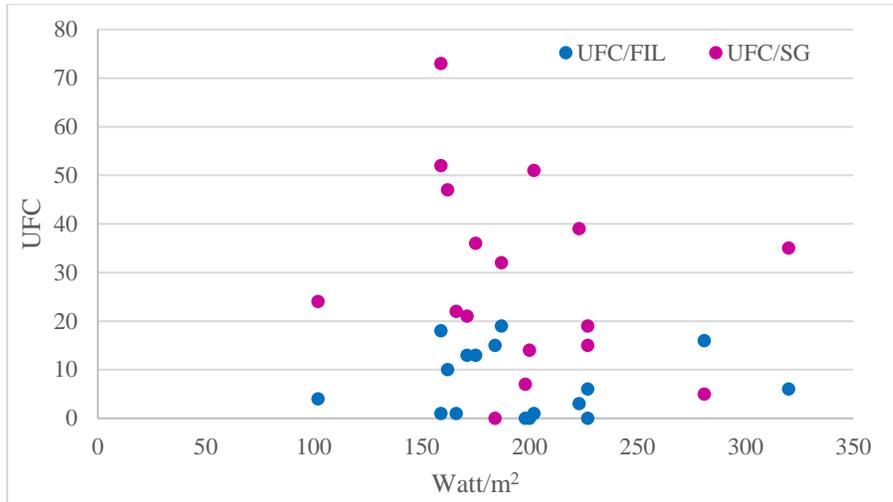


Figura 1.10 Dispersión de las UFC en relación al porcentaje de Radiación Solar Total en los 4 sitios de muestreo por el método de sedimentación por gravedad (SG) y filtros (FIL).

1.9. DISCUSIÓN

Las condiciones del clima como temperatura, presión atmosférica, dirección y velocidad del viento, precipitación y humedad, en conjunto con componentes geográficos como la altitud, son factores que en su interacción e interrelación pueden provocar impactos, en este caso a esto podría atribuirse la variación de UFC en la ZMVT, Grinn-Gofrón y Bosiacka (2015), reportaron que los factores meteorológicos de temperatura, precipitación, humedad relativa y velocidad del viento explican la variación en la composición de esporas. Aunado a esto en el hinterland de esta zona metropolitana están influyendo en la condiciones del clima: a) el Volcán Xinantécatl y la Sierra de las Cruces cuya altitud supera los 3 000 msnm; b) la dirección de los vientos del suroeste (Volcán Xinantécatl) hacia el norte; y c) la ubicación geográfica que sitúa a el valle en la Sierra Volcánica Transversal del Altiplano Mexicano (Juan et al., 2010).

Siendo la ZMVT una zona en la que el 63.56% del territorio es de uso agrícola, y que la mayor fuente de emisiones de conidios hacia la atmósfera es la vegetación, coincide con la alta concentración de UFC que se registró durante el muestreo. Comparando las UFC obtenidas de los filtros de este estudio con trabajos previos, fueron relativamente mayores ya que se registraron 463 UFC comparado con Galindo (2011) que únicamente registró 80 UFC, cabe resaltar que el número de muestras analizadas por este último es mucho menor. La concentración más elevada se encontró en el mes de Agosto y la menor en Junio, lo cual difiere a lo reportado por Valle et al. (2016) en Morelos, que registraron la concentración más alta en el mes de Junio durante el mismo año de muestreo que este estudio y la menor en Septiembre.

En cuanto a la variación en los sitios de muestreo, San Mateo fue donde se registró mayor número de UFC, seguido de Aeropuerto, tomando en cuenta que conforme aumentan las concentraciones de PM aumenta la concentración de conidios se esperaría que en el norte de la ZMVT, donde se reportan elevadas concentraciones de PM₁₀ esto coincidiera con las concentraciones de conidios observadas, sin embargo, solo Aeropuerto coincide con esto, mientras que San Cristóbal que es la otra estación que está en esa zona, no presenta esa tendencia, a pesar de que se encuentra en un área semi rural con avenidas de terracería y tiene un flujo vehicular medio dominando el transporte público y de carga (Cuarto almanaque de datos y tendencias de la calidad del aire en 20 ciudades mexicanas 2000-2009) y estos serían factores que incrementarían la concentración de conidios, sin embargo no es el caso.

En cuanto a la diversidad Galindo en el 2011, a partir de muestras obtenidas de filtros para PM_{2.5} determino la presencia de 17 géneros en el valle de Toluca, de estos el que se encontró en mayor cantidad fue *Penicillium*, otros géneros que encontró fueron *Acladium*, *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botryoderma*, *Chaetophora*, *Chrysonilia*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Geotrichum*, *Mammaria*, *Memmnoniella*, *Stachybotrys* y *Varicosporium* de estos únicamente 6 géneros no fueron registrados en el presente estudio; estos son *Acladium*, *Chaetophora*, *Crysonilia*, *Mammaria* y *Variscosporium*. Durante el 2014 en un estudio de un agroecosistema en Cuernavaca Morelos, que utilizó el mismo método de muestreo se registraron 32 géneros fúngicos, siendo los más frecuentes *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Alternaria* y *Nigrospora* (Valle et al., 2016). Lopez (2011) en un muestreo en la Ciudad de México durante cuatro temporadas del año, utilizando el método de sedimentación por gravedad, registró la presencia de 65 géneros fúngicos, *Cladosporium* fue el género dominante. Respecto a la diferencia que se registró en los géneros registrados obtenidos por las dos metodologías, Das y Gupta (2012) empleando métodos en la obtención de conidios viables y no viables, de 37 géneros registrados durante su muestreo, únicamente concuerda en 6, los autores hacen énfasis en la necesidad de utilizar metodologías que se complementen para enriquecer los datos que se obtienen.

Algunos de los géneros que se encontraron han sido catalogados como invasivos tanto para plantas como animales, entre estos están: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Curvularia*, *Phoma*, *Ulocladium*, *Mucor*, *Rhizopus* y *Rhizomucor*, algunas de las enfermedades con las que inciden en el ser humano son principalmente infecciones en tejidos epiteliales, otitis, infecciones oculares, algunas incluso pueden diseminarse hacia los pulmones (Gauthier y Keller, 2013), de estos géneros coinciden 11 con los registrados en el presente estudio. En la ciudad industrializada de Thessaloniki, Grecia; durante 15 años se registró la presencia de 15 géneros catalogados como alérgenos, los que coinciden con el presente estudio son *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Phoma*, *Stemphyllum* y *Torula*, registrando el mayor porcentaje *Cladosporium* (72.22%), seguido de *Alternaria* (9.82%), el resto de los géneros no sobrepasó el 1% (Gioulekas et al., 2004), esto demuestra la ubicuidad de los géneros alérgenos mencionados y su presencia una ciudad industrializada.

En cuanto a la estacionalidad, el verano (junio a septiembre) es la época que registra mayor cantidad de UFC, seguido por el otoño (septiembre a diciembre) y en último lugar la primavera (marzo-junio), esto no coincide con lo reportado por Martínez et al. (2016) en la ciudad de Montevideo,

Uruguay, ya que la concentración muestra una alza en los conidios durante la primavera (agosto a noviembre), del mismo modo Ibañez et al. (2001) en un estudio realizado en Santiago, Chile registro la mayor concentración de conidios durante el otoño (marzo a junio), registrando el pico más alto en el mes de mayo (otoño), ambos estudios difieren estacionalmente con lo registrado en este estudio. Por otro lado Raisi et al. (2013), registraron que no hay una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la estacionalidad.

Al realizar la correlación de Pearson el factor que registra mayor relación con valores de r que son estadísticamente significativos es la Humedad, esto podría deberse a que cuando los niveles de humedad incrementan en un 50%, las células obtienen protección contra la inactivación inducida por los rayos UV, aunado a esto la humedad es el factor más importante con respecto a la estabilidad, además las gotas de agua sirven como medio de transporte dependiendo el diámetro de las partículas.

Los vientos dominantes en la ciudad de Toluca son los provenientes del sureste y del este, esto se puede observar en la figura 7, la dirección del sureste es la más constante durante el año, estos vientos al encontrarse con partículas atmosféricas contaminantes los traslada hacia el norte y noroeste (Morales 2007), a esto se podría atribuir la concentración de conidios que se registra en San Mateo que es la más alta respecto al resto de los sitios, ya que podría deberse al acarreo de partículas provenientes de las direcciones predominantes del viento.

A pesar de que el viento juega un papel importante en la liberación y dispersión de los conidios, se registró baja relación con valores de r entre 0.20 y 0.40, lo que no es estadísticamente significativo, esto coincide con Grifrin-Grofón y Bosiacka (2015) que encontraron que la velocidad del viento es poco significativa estadísticamente, por otro lado Di Giorgio et al. (1996) demostraron que la velocidad del viento afecta significativamente en la concentración de esporas.

En este estudio de acuerdo con los datos obtenidos en San Cristóbal Huichochitlan de radiación solar total, la primavera registra una relación positiva significativa presentando los valores de radiación más altos comparados con el verano y otoño, alcanzado hasta 320 watt/m^2 , Ulevičius et al. (2000) demostraron que la radiación solar tiene un efecto letal en los propágulos fúngicos presentes en el aire exterior, lo cual concuerda con los datos obtenidos ya que la menor cantidad de UFC se registra en la primavera, y el otoño que registra bajos niveles en la RST es la estación que obtuvo mayor cantidad de UFC.

La relación de los conidios con la temperatura registro valores que no son estadísticamente significativos, se ha documentado que la temperatura promedio máxima y mínima anual ha incrementado desde 1970 hasta el 2007, atribuyéndolo a las actividades antropogénicas, en cuanto a la precipitación ha disminuido con relación al incremento de la temperatura (Juan et al., 2010), sin embargo no se puede hacer una comparación en cuanto a si ha aumentado la concentración de conidios debido a la falta de estudios.

1.10. CONCLUSIONES

El método de Sedimentación por Gravedad comprobó la viabilidad que presentan los conidios presentes en la ZMVT, del mismo modo este método registró mayor cantidad de UFC y diversidad de géneros comparado con las muestras obtenidas de los filtros.

La culturabilidad de conidios obtenidos a partir de filtros para $PM_{2.5}$ comprueba que algunos géneros pueden tener la dimensión suficiente para lograr ingresar al tracto respiratorio.

De los 4 sitios muestreados, San Mateo Atenco fue quien registró mayor UFC, seguido de Aeropuerto y San Cristóbal Huichochitlan, siendo Oxtotitlán quien registró menor UFC.

Se registró un total de 90 géneros fúngicos, 19 de estos han sido catalogados como alérgenos, sin embargo únicamente *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Monilia*, registraron elevadas concentraciones.

En cuanto a los parámetros ambientales, la Humedad fue quien registró mayor relación, siendo el otoño la estación que presentó valores de r que son estadísticamente significativos, en cuanto a la temperatura, únicamente en San Mateo y Oxtotitlán durante la primavera se registraron valores de $r > 0.05$.

La dirección y velocidad del viento fueron los parámetros que mostraron menor relación, ya que únicamente en San Mateo y Aeropuerto durante el otoño registraron valor de $r > 0.05$, y la velocidad del viento mostró relación positiva significativa en Aeropuerto, San Cristóbal y Oxtotitlán.

Los datos obtenidos al realizar la Correlación de Pearson muestran la relación significativa de los parámetros ambientales con las UFC obtenidas durante el periodo de muestro, al mismo tiempo fundamentan la necesidad de realizar monitorio con mayor frecuencia debido a los cambios que muestran las UFC durante todo del año atribuidos principalmente a la estacionalidad y los cambios en estos parámetros.

La diversidad de géneros registrados y las altas concentraciones que presentan géneros catalogados como alérgenos, del mismo modo justifican la necesidad de realizar un monitoreo constante, para de este modo poder hacer una calendarización y esto coadyuve en mermar la incidencia y prevalencia de enfermedades en la ZMVT.

1.11. LITERATURA CITADA

- Ansari, T., Valsan A., Ojha N., Ravikrishna R., Narasimhan B. y Gunthe S. (2015). Model simulations of fungal spore distribution over the indian region. *Atmospheric Environment*, 122, 552-560.
- Arteaga, B. N. (2005). Los estudios sobre la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, aproximaciones estructurales y centradas en los actores. *Región y Sociedad*, 8(33), 71-105.
- Ayala, M., Montesinos R. y Berlanga A. (2012). Obtención de cultivos monospóricos de hongos entomopatógenos. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Dirección General de Sanidad Vegetal, SENASICA. Ficha Técnica CB-27, 4 p.
- Barnett, H. L. y Hunter B. B., (1987). *Illustrated genera of imperfect fung.* Minnesota, Estados Unidos de América: MacMillan Publishing Company.
- Cecchi, L., D'Amato G., Ayres J., Galan C., Forastiere F., Forsberg B., Gerritsen J., Nunes C., Behrendt H., Akdis C., Dahl R. y Annesi-Maesano I. (2010). Projections of the effects of climate change on allergic asthma: the contribution of aerobiology. *Allergy*, 65, 1073-1081.
- Chang, M. L., Shao B., Liu Y. H., Li L. L., Pei L. C. y Wang B. Y. (2013). Analysis of Allergens in 5 437 Patients with Allergic Diseases in Harbin, China. *Biomedical and Environmental Sciences*, 26(11): 886-893.
- Cramer, R., Zeller S., Glaser A., Vilhelmsson M. y Rhyner C. (2009). Cross-reactivity among fungal allergens: a clinically relevant phenomenon?. *Mycoses*, 52(2): 99-106.
- Das, S. y Gupta S. (2012). Monitoring and assessment of airborne fungi in Kokata, India, by viable and non-viable air sampling methods. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184: 4671-4684.
- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. (2011). Cuarto almanaque de datos y tendencias de la calidad del aire en 20 ciudades mexicanas (2000-2009). Recuperado el 02 de Junio de 2016 de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/652/toluca.pdf>.
- De la Rosa, M. C., Mosso M. A. y Ullán C. (2002). El aire: habitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio medioambiental* 5, 375-402.
- Díaz, G. V., y Domínguez E. R. (2009). Health risk by inhalation of PM_{2.5} in the metropolitan zone of the City of Mexico. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(3), 866-871.
- Di Giorgio C., Krempff A., Guiraud H., Binder P., Tiret C. y Dumenil G. (1996). Atmospheric pollution by airborne microorganisms in the city of Marseilles. *Atmospheric Environment*, 30(1), 155-160.
- Galindo, A. (2011). *Identificación de propágulos fúngicos en zonas urbanas.* (Tesis de Licenciatura). Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Ciudad de México.
- Gauthier, G. y Keller N. (2013). Crossover fungal phogens: The biology and pathogenesis of fungi capable of crossing kingdoms to infect plants and humans. *Fungal Genetics and Biology*, 51, 146-157.
- Gioulekas, D., Damialis A., Papakosta D., Spieksma F., Giouleka P. y Patakas D. (2004). Allergenic fungi spore records (15 years) and sensitization in patients with respiratory allergy in Thessaloniki-Greece. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 14(3), 225-231.

- Goldman, D. y Huffnagle G.† (2009). Potential contribution of fungal infection and colonization to the development of allergy. *Medical Mycology*, 47, 445-456.
- Green, B. J., Sercombe J. K. y Tovey E. R. (2005). Fungal fragments and undocumented conidia function as new aeroallergen sources. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 115(5), 1043-1048.
- Grinn-Gofrón, A. y Bosiacka B. (2015). Effects of meteorological factor on the composition on selected fungal spores in the air. *Aerobiologia*, 31: 63-72.
- Hameed, A., Khoder M., Yousra S., Osman A. y Ghanem S. (2009). Diurnal distribution of airborne bacteria and fungi in the atmosphere of Helwan área, Egypt. *Science of the Total Environment*, 407, 6217-6222.
- Hawksworth, D. y Muerrer G. (2005). Fungal Communities: Their Diversity and Distribution. En: J. Dighton, J. White y P. Oudemans. (Ed.), *The fungal Community* (pp. 30). Nueva York, United States of America, CRC Press.
- Hernández, O., Mugica V., Castañeda M., Murcia J., García F. y Falcón Y. (2014). Aerobiological study in the Mexico City subway system, *Aerobiologia*, 30:357-367.
- Hernández, L., Téllez M., Sanin L., Lacasaña M., Campos A. y Romieu I. (2000). Relación entre consultas a urgencias por enfermedad respiratoria y contaminación atmosférica en Ciudad Juárez, Chihuahua. *Salud Pública de México*, 24(4), 228-297.
- Ianovici, N., Maria C., Rădotouiu N., Haniş A. y Tudorică D. (2013). Variation in Airborne Fungal Spore Concentrations in Four Different Microclimate Regions in Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(2): 450-457.
- Ianovici, N. (2016). Atmospheric concentrations of selected allergenic fungal spores in relation to some meteorological factors in Timișoara (Romania). *Aerobiologia*, 32: 139-156.
- Ibáñez, V., Rojas G. y Roure J. (2001). Airborne fungi monitoring in Santiago, Chile. *Aerobiología*, 17: 137-142.
- Juan, P. J., Némiga X. A., Monroy J. F., Gutiérrez J. G., Balderas M. A., Loik M. E., Hernández M. M. y Camacho J. M. (2010). Variaciones climáticas en la Zona Metropolitana de la Ciudad de Toluca, Estado de México: 1960-2007. *Ciencia Ergo Sum*, 17(2), 143-153.
- Lacey, J. y Dutkiewicz J. (1994). Bioaerosols and occupational lung disease. *Journal of Aerosol Science*, 25(8), 1371-1404.
- Lacey, M. y West J. (2006). Introduction to Aerobiology y The Aerobiology pathway. En su, *The Air Spora* (pp. 1-14 y 15-34). Dordrecht, Países Bajos: Springer.
- Lee, J. y Jo W. (2006). Characteristics of indoor and outdoor bioaerosols at Korean high-rise apartment buildings. *Environmental Research*, 101(1): 11-17.
- LeMasters, G., Wilson K., Levin L., Biagini J., Ryan P., Lockey J., Stanforth S., Maier S., Yang J., Burkle J., Villareal M., Khurana G. y Berstein D. (2006). High prevalence of aeroallergen sensitization among infants of atopic parents. *The Journal of pediatrics*, 149(4), 505-511.

- Levetin, E., Horner E. y Scott J. 2016. Taxonomy of Allergenic fungi. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 4(3): 375 – 385.
- Lin, W. y Li C. (2000). Associations of fungal aerosols, air pollutants, and meteorological factors. *Aerosol science and technology*, 32: 359-368.
- López, A. A. (2011). *Presencia de Cladosporium y Alternaria en la zona urbana del Distrito Federal, relacionado con los niveles de IMECA (Índice Metropolitano de la Calidad del Aire)*. (Informe de Servicio Social). Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Ciudad de México.
- Madelin, T. M. (1994). Fungal aerosols: a review. *Journal of Aerosol Science*, 25(8): 1405-1412.
- Martínez, E O., Frías de León M. G., Duarte E., Calderón M. C., Jiménez M. C., Acosta G., Rivera F. Toriello C. y Reyes M. R. Fungal diversity and *Aspergillus* in hospital environments. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 23(2): 298-303.
- Martínez X., Tejera L. y Beri A. (2016). First volumetric record of fungal spores in the atmosphere of Montevideo City, Uruguay: a 2-year survey. *Aerobiologia*, 32: 317-333.
- Mier, T., Torello C. y Ulloa M. (2002). Hongos microscópicos saprobios y parásitos: Métodos de laboratorio. División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco. México, D. F.
- Mohr, A. J. (2016) Introduction to Fate and Transport of Microorganisms in Air. En Yates, M., Nakatsu C., Miller, R. y Pillai, S. (Eds), *Manual of Environmental microbiology* (pp. 961-971). Washington, Estados Unidos de América: ASM press.
- Morales, M. C., Madrigal D. U. y González B.A. (2007). Isla de calor en Toluca, México. *Ciencia Ergo Sum*, 14(3): 307-316.
- Moreno, H. (1999). La importancia de estudiar en México la especialidad de alergología. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*, 8(1): 4.
- Neaville, W., Bush R., Ausdenmoore R. y Lierl M. (2005). Aeroalergenos. Adelman D, Casale T. y Corren J. (Eds.). *Alergia e Inmunología*. Madria, España: Editorial Marbann. 2005.
- Norma Oficial Mexicana NOM-020-SSA1-1993. Secretaria de Salud. Obtenido el 04 de Junio de 2015 de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/020ssa13.html>
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-SSA1-1993. Secretaria de Salud. Obtenido el 04 de Junio de 2015 de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/021ssa13.html>
- Norma Oficial Mexicana NOM-022-SSA1-1993. Secretaria de Salud. Obtenido el 04 de Junio de 2015 de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/022ssa13.html>
- Norma Oficial Mexicana NOM-023-SSA1-1993. Secretaria de Salud. Obtenido el 04 de Junio de 2015 de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/023ssa13.html>
- Norma Oficial Mexicana NOM-024-SSA1-1993. Secretaria de Salud. Obtenido el 04 de Junio de 2015 de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/024ssa13.html>

- Norma Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-1993. Secretaria de Salud. Obtenido el 04 de Junio de 2015 de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/025ssa13.html>
- Norma Oficial Mexicana NOM-026-SSA1-1993. Secretaria de Salud. Obtenido el 04 de Junio de 2015 de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/026ssa13.html>
- Organización Mundial de la Salud. Recuperado 21 de Febrero de 2015, de http://www.worldallergy.org/esp/ptm_2007.pdf
- Pepper, I. L. y Gerba C. P. (2004). *Environmental Microbiology: A laboratory manual*. San Diego, California, United States of America: Elsevier Academic Press.
- Ponce, C., Cerón I., López M., et al. 2010. Indoor-outdoor fungal-aerosols ratios of domestic homes in Merida, Mexico. *Ingeniería*, 14(3): 169-175.
- Ponce, C., Cerón I., López M., Gamboa M. y Quintal C. (2010). Indoor-outdoor fungal-aerosols ratios of domestic homes in Merida, Mexico. *Ingeniería*, 14(3):169-175.
- Programa para mejorar la calidad del aire de la Zona Metropolitana del Valle de México (ProAire) 2011-2020. Recuperado el 20 de Junio de 2014, de <http://respiramexico.org.mx/wp-content/uploads/2015/07/proaire2011-2020.pdf>
- Programa para mejorar la calidad del aire Valle de Toluca 2012 – 2017. Recuperado el 20 de Junio de 2014, de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/69287/8_ProAire_ZMVT.pdf
- Raisi, L., Aleksandropoulou V., Lazaridis M. y Katsivela E. (2013). Size distribution of viable, cultivable, airborne microbes and their relationship to particule matter concentrations and meteorological conditions in a Mediterranean site. *Aerobiología*, 29: 233-248.
- Red Automática de Monitoreo Atmosférico del Valle de Toluca. Recuperado el 20 de Junio de 2014, de http://www.portal2.edomex.gob.mx/rama/contaminacion_atmosferica/index.htm.
- Reid, C. y Gamble J. (2009). Aeroallergens, Allergic Disease, and Climate Change: Impacts and Adaptation. *Ecohealth*, 6: 458-470.
- Rocha, A., Alvarado M., Gutierrez R., et al. 2013. Variación temporal de esporas de *Alternaria*, *Cladosporim*, *Coprinus*, *Curvularia* y *Venturia* en el aire del área Metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México. *Rev. Int. Contam. Ambie*, 29(2): 155-165.
- Rosas, I., Calderón C., Martínez L., et al. 1997. Indoor and outdoor airborne fungal propagule concentrations in Mexico City. *Aerobiologia*, 13: 23-30.
- Rosique, J., Fócil R. y Cid A. 2013. Hongos del aire de una zona suburbana de la ciudad de Villahermosa, Tabasco. *Kuxulkab'*, 19(37): 23-27.
- Rotem, J. (1994). *The Genus Alternaria: Biology, Epidemiology and Pathogenicity*. St Paul, MN, Estados Unidos de América: APS Press.
- Samson, R. A., Hoekstra S. E. y Van Oorschot C. (1984). *Introduction to food-borne fungi*. Baarn, Netherland: Institute of the Royal Netherland, Academy of Arts and Sciences.

- Sellart, M., Torres J., Gómez de Ana S. y Alvarado E. (2007). Microbiota fúngica nasal en sujetos alérgicos y sanos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 24: 125-130.
- Sharma, R., Gaur S., Singh V. y Singh A. (2012). Association between indoor fungi in Delhi homes and sensitization in children with respiratory allergy. *Medical Mycology*, 50(3): 281 - 290.
- Sistema de Monitoreo Atmosférico. (2007). *Inventario de emisiones de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca*, 2004. Recuperado de http://sma.edomex.gob.mx/sites/sma.edomex.gob.mx/files/files/sma_pdf_ie_zm_vt.pdf.
- Stetzenbach, L.D. (2016). Introduction to Aerobiology. En Yates, M., Nakatsu C., Miller, R. y Pillai, S. (Eds). *Manual of Environmental microbiology* (pp. 925-938). Washington, Estados Unidos de América: ASM Press.
- Twaroch T., Curin M., Valenta R. y Swoboda I. (2015). Mold Allergens in Respiratory Allergy: From Structure to Therapy. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 7(3): 205-220.
- Ulevičius, V., Pečiulite D., Mordas G. y Lugauskas A. (2000). Field study on changes in viability of airborne fungal propagules exposed to solar radiation. *Journal of Aerosol Science*, 31(1): 961-962.
- Valle, G., Velázquez M., Corona M., Amora E. y Hernández A. (2016). First aeromycological study in an avocado agroecosystem in México. *Aerobiologia*, 1-11.
- Vennewald, I. y Wollina U. (2005). Cutaneous infections due to opportunistic molds: uncommon presentations, *Clinics in Dermatology* 23: 565-571.
- Webster, J. y Weber R. (2007). *Introduction to Fungi*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press.
- World Allergy Organization. Recuperado el 21 de Febrero de 2015 de www.worldallergy.org
- Yamamoto, N., Bibby K., Qian J., Hospodsky D., Rismani-Yazdi H., Nazaroff W. y Peccia J. (2012). Particle-size distributions and seasonal diversity of allergenic and pathogenic fungi in outdoor air. *The ISME Journal*, 6: 1801-1811.

CAPITULO II

Detección del gen *Alt a 1* e identificación genotípica de aislados de *Alternaria* mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

2.1 RESUMEN

El género *Alternaria* está conformado por aproximadamente 300 especies agrupados en 8 secciones, los estudios que se han hecho son por su importancia económica como patógeno de plantas y el elevado potencial alérgeno hacia el ser humano, inducido por las proteínas estructurales alérgenas y metabolitos tóxicos que secreta. Alta 1 es el principal alérgeno, en las pruebas de sensibilidad muestra reactividad en más del 90% de las pruebas, y se ha demostrado que conforme aumentan la concentración de Alta 1 aumentan los síntomas de alergia, cabe mencionar que Alta 1 se ha establecido como proteína de la familia Pleosporaceae. El objetivo fue detectar la presencia del gen *Alta 1* en los aislados obtenidos de *Alternaria* para comprobar que los conidios presentes en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT) tiene el potencial de inducir alergias. Los aislados se hicieron a partir de muestras obtenidas por el método de sedimentación por gravedad sobre cajas de Petri con medio rosa de Bengala expuestas en 4 sitios: San Mateo Atenco, Aeropuerto, San Cristóbal Huchochitlán y Oxtotitlán, durante los meses de Abril a Noviembre con una periodicidad de 15 días. Para la PCR se utilizaron 2 primers uno que se tomó en base a la literatura y el otro se diseñó con base en una secuencia del gen *Alta 1* para *A. alternata*; se mandó secuenciar el amplicón resultante y con las secuencias se hizo un árbol filogenético en base al criterio de máxima verosimilitud. Los 23 aislados mostraron el amplicón (pares de bases) requerido de 350 bp demostrando así que los 23 aislados poseen el gen *Alta 1*. En cuanto al árbol filogenético todos los aislados corresponden a la sección *A. alternata*, únicamente los aislados 13, 14 y 15 se agrupan con *A. alternata*, para el resto de los aislados es indispensable utilizar otros oligonucleótidos que ayuden en su identificación a nivel de especie dentro de esta sección, ya que el gene *Alta 1* utilizado no fue apto al no discriminar entre los aislados por lo que no fue posible identificarlos a nivel de especie.

La detección de Alta 1 en los aislados de *Alternaria* de la ZMVT demuestra que tienen el potencial alérgeno para la incidencia de enfermedades, sin embargo es necesario el uso de otros métodos ya que esta proteína no se encuentra únicamente en los conidios sino que forma parte de la estructura micelial. La identificación de aislados como parte de la sección *A. alternata* es relevante ya que esta información podría coadyuvar en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades alérgicas que se presenten en la ZMVT.

Palabras clave: Alérgeno, Alta 1, PCR, *Alternaria*.

2.2. ABSTRACT

2.3. INTRODUCCIÓN

Alternaria es un hongo cosmopolita, en la naturaleza puede llegar a presentarse como saprofito, principalmente es fitopatógeno de ahí la importancia de su estudio, ya que llega a ocasionar pérdidas económicas por la invasión en cultivos. De acuerdo con estudios aerobiológicos es el segundo hongo después de *Cladosporium* que prevalece en el aire exterior, aunado a esto secreta gran cantidad de metabolitos tóxicos, tanto para plantas como para el ser humano.

Alternaria es un género conformado por aproximadamente 300 especies, la mayoría de estas relevantes por ser fitopatógenas, *Alternaria alternata* es la especie que incide en mayor proporción en las enfermedades humanas ya que se han catalogado 17 proteínas alérgicas, sin embargo no todas muestran la misma reactividad.

Entre las enfermedades que ocasiona al ser humano está principalmente la hipersensibilidad por su elevado potencial antigénico, cerca del 70% de los pacientes que presentan alergias por hongos, muestran reactividad a *A. alternata* (Sanchez y Bush 2001), sin embargo incide en patologías distintas a la alergia como la alternariosis cutánea producida por *A. alternata*, de igual forma se relaciona a esta especie con la aparición de queratomicosis y endoftalmitis en personas que han sufrido algún traumatismo o cirugía ocular (Rubio et al., (s.f.)), se ha confirmado que los síntomas de asma se exacerban conforme aumentan las concentraciones de *Alternaria* (Salo et al., 2006).

De acuerdo con Gabriel et al. (2016) el alérgeno Alta 1 ha sido reportado como el mayor incidente de alergias por hongos aerotransportados en pacientes sensibilizados, así mismo en pacientes monosensibilizados a *A. alternata* se detectó una correlación positiva entre la presencia de Alta 1 y el número de síntomas que se presentaron 3 días después del aumento en la concentración de dicha molécula (Brito et al., 2012). El alérgeno Alta 1 no únicamente pertenece a *A. alternata*, sino que se ha detectado en otras géneros de la familia Pleosporaceae, pudiendo concluir que es un alérgeno de esta familia (Hong et al., 2005; Sáenz de Santamaría et al., 2006).

La similitud que presentan las especies de *Alternaria* repercute en la identificación micromorfológica que se hace, debido a esto las herramientas moleculares otorgan una mayor precisión en cuanto a identificación y clasificación filogenética, empleando análisis como ITS y la subunidad mitocondrial ribosomal de ADN (Pryor y Gilbertson 2000) además del uso de PCR tiempo final y PCR en tiempo real (Kordalewska et al., 2015).

En clasificaciones hechas con base en estudios moleculares se ha determinado que *A. alternata* es una sección del género *Alternaria*, sin embargo en los estudios que se hacen respecto a sensibilidad no se especifica que sea la sección *A. alternata*, se toma únicamente como especie *A. alternata*.

La incidencia y prevalencia de enfermedades ocasionadas por la presencia de hongos en el aire conlleva repercusiones sociales y económicas, debido a que se suele confundir el agente que causa la enfermedad por lo que el tratamiento que se asigna es erróneo, esto propicia la continuidad de la enfermedad.

En México hasta el momento no se ha reportado un estudio en el que se sondee el alérgeno Alta 1 en aislados de *Alternaria*, he aquí la relevancia del presente trabajo, de la misma forma la detección del alérgeno puede coadyuvar en el diagnóstico de enfermedades alérgicas que llegaran a presentarse en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca principalmente.

2.4. REVISION BIBLIOGRÁFICA

2.4.1. *Alternaria* como agente causal de enfermedades

Los hongos dependiendo al especie, producen cuatro tipos de patologías en el ser humano: micosis (crecimiento del hongo como hospedero que afectan los tejidos), micotoxicosis (intoxicaciones ocasionadas por la ingestión de alimentos contaminados con metabolitos secundarios tóxicos excretados por los hongos), micetismo (envenenamiento por el consumo de cuerpos fructíferos de macrohongos) y alergias como rinitis alérgica, conjuntivitis y asma bronquial.

Las personas con alergias respiratorias causadas por hongos desarrollan una hipersensibilidad a la inhalación de propágulos (esporas y conidios) que puede manifestarse de diferentes maneras como inflamación tisular y mal funcionamiento orgánico, los cuales son frecuentes en individuos genéticamente predispuestos (atópicos) y normales.

La hipersensibilidad hace referencia a aquellas reacciones del sistema inmunitario en las que la respuesta al inmunógeno ocasiona daño a los tejidos, entre las causas que desencadenan estas reacciones se encuentran el fallo en el establecimiento de la autotolerancia y las respuestas incontroladas o excesivas frente a antígenos extraños, como los microorganismos y antígenos ambientales no infecciosos, se distinguen cuatro tipos de hipersensibilidad.

- Hipersensibilidad de tipo I o hipersensibilidad inmediata: tras un primer contacto se producen inmunoglobulinas de la clase E (IgE) específica como respuesta al inmunógeno, está IgE específica se fija a la membrana de mastocitos y basófilos a través de receptores específicos de alta afinidad, una segunda reacción al alérgeno da lugar a la interacción de la IgE con el antígeno.
- Hipersensibilidad de tipo II o citotóxica: se producen anticuerpos de tipo IgG o IgM contra antígenos situados en la superficie celular o de la matriz extracelular de los tejidos propios.
- Hipersensibilidad de tipo III: son reacciones mediadas por depósito de inmunocomplejos, los antígenos circulantes pueden inducir la unión de anticuerpos de tipo IgM o isotopos de la IgG.
- Hipersensibilidad del tipo IV o hipersensibilidad retardada: tarda en desarrollarse más de 12 horas tras la exposición al antígeno y en ellas están implicados mecanismos de inmunidad celular (linfocitos T), la sensibilización se produce tras la penetración del

antígeno (vía cutánea, inhalación o ingestión), que es capturado por las CPA (células presentadoras de antígeno) (Artencia et al., 2007)

Estas alergias ocurren cuando un individuo que ha estado en contacto con los hongos y sus estructuras, desarrolla cantidades elevadas de IgE, las cuales se adhieren a células cebadas y basófilos que al ponerse en contacto nuevamente con el antígeno, se degranulan liberando sustancias farmacológicamente activas como la histamina y serotonina, las cuales dependiendo del órgano con el que tengan contacto pueden ocasionar fenómenos anafilácticos locales, manifestándose como asma bronquial, rinitis alérgica entre otras (Velasco y Tay 2004).

La Rinitis alérgica engloba trastornos nasales que se caracterizan por la presencia de estornudos, prurito nasal, rinorrea y obstrucción, se define como una enfermedad inflamatoria de la mucosa nasal, mediada por la IgE y causada por la exposición de alérgenos. Se ha considerado a la rinitis como una enfermedad leve, sin embargo en los últimos años se ha constituido una de las principales causas de morbilidad, que constituye costos importantes para quien la sufre. De igual forma la conjuntivitis alérgica es una enfermedad frecuentemente asociada con rinitis alérgica, se presenta en un 40 a 60 % de la población alérgica, consiste en la inflamación cutánea del párpado o de la conjuntiva debido a las reacciones de hipersensibilidad.

La alternariosis cutánea es producida por *A. alternata*, la cual se manifiesta con lesiones únicas o múltiples en forma de placas pardorrojizas papulonodulares, pustulosas o ulcerocostrosas, localizadas en superficies corporales expuestas, se considera una infección oportunista que aparece en personas inmunodeficientes, a esta especie también se le relaciona con la aparición de queratomycosis y endoftalmítis en personas que han sufrido algún traumatismo o cirugía ocular, además *Alternaria* se encuentra entre los hongos que producen más conjuntivitis alérgica (De la Torre et al., 2007) y se ha llegado a aislar de infecciones oculares (Laich et al., 2008).

2.4.1.1. Morfología y Ecología de *Alternaria* spp.

Alternaria es un hongo ubicuo que incluye especies saprobias, endofíticas y patógenas, capaz de vivir en diversos sustratos como: cuero, pinturas, papel, madera, lana, semillas, restos vegetales, también se encuentra en alimentos y tejidos, así como en diferentes tipos de suelo, de esto se desprende que se detecten elevadas concentraciones de conidios en las grandes ciudades. Crece como saprobio o parásito sobre plantas y material vegetal, sigue la tendencia de habitar sustratos orgánicos en descomposición o por morir y en el suelo, desde ahí los propágulos y fragmentos de

las colonias son levantados por el viento en donde tienen un comportamiento aerodinámico, al ser un género patógeno de plantas es de importancia económica por las pérdidas que llega a causar (Saharan et al., 2016). Se ha detectado su crecimiento sobre: tomates, pimientos y berenjenas en putrefacción, plátanos, frijoles, coliflor, pepino, melón, chicharos, papas, trigo, cebada, semilla de girasol, nueces, cacahuates, avellanas y soya (Pitt y Hocking, 2009).

Por su facilidad de desplazamiento y abundancia, sus conidios no solo se encuentran al aire libre, sino que también son una constante en el aire de interiores (Moral de Gregorio et al., 2007).

Las características geográficas y climáticas influyen en la frecuencia y concentración de este género. Por la adaptación de los hongos al medio, pueden persistir a temperaturas menores de 0 °C, sin embargo el espectro de temperatura de crecimiento varía entre 0.5 y 40 °C, siendo entre 25-27 °C y 20-30 °C las temperaturas óptimas de crecimiento y esporulación (Saharan et al., 2016). En clima seco, las esporas pueden permanecer hasta 10 años en semillas como el trigo (Rotem, 1994).

Para su crecimiento precisa de medios relativamente húmedos, determinando que la humedad relativa para el crecimiento es del 70%, aunque puede crecer con mayor lentitud con una humedad relativa inferior al 65%. La humedad no solo afecta al crecimiento y la esporulación, también en la dispersión. En condiciones de lluvia y niebla, aparecen elevadas concentraciones atmosféricas de esporas. Para *A. alternata* la supervivencia bajo condiciones de alta humedad es baja, sin embargo tienen una supervivencia aproximada de 300 días en suelo seco (Rotem, 1994).

La mayoría de hongos no soportan el estrés hídrico, algunos sí resisten la alternancia de períodos de sequedad y humedad, como en el caso de los que colonizan las hojas lo cual ocurre en especies de *Alternaria*.

La luz UV es un factor significativo en la supervivencia de los hongos en la naturaleza. La resistencia de *Alternaria* a este tipo de radiación, puede atribuirse a su pigmentación oscura, estos pigmentos son melaninas, las cuales incrementan la resistencia a microbios y la hidrólisis enzimática, aunado a esto las paredes celulares que conforman la espora incrementan la resistencia. Generalmente crece a un intervalo de pH de 4.5 a 8.

Son aerobios estrictos, sin embargo pueden crecer con una baja concentración de O₂ pero su producción es menor del 10 % comparada con la que se conseguiría en condiciones aeróbicas óptimas.

La estacionalidad marca una diferencia en las concentraciones de las esporas ya que en los días de lluvia se pueden encontrar concentraciones elevadas de propágulos en aire seco debido a que las gotas de lluvia impactan sobre las superficies o substratos en los que crece el hongo, por un mecanismo de vibración, libera las esporas, y la lluvia deshace la masa mucilaginosa en la que crece el hongo dispersándola.

Durante los meses de verano se produce un aumento de esporas de *A. alternata*, tanto en el exterior como en el interior de los domicilios interiores (Moral de Gregorio et al., 2007).

Generalmente presenta rápido crecimiento (3 o 4 días), las colonias son vellosas al principio, de color gris, después el centro se oscurece (tonos tendiendo a negro, en 7 días alcanzan 5-7 cm de diámetro; posteriormente presentan textura de aterciopelada a lanosa; su superficie se torna de color gris a marrón-oliváceo y el reverso es marrón a negro, exhibiendo bordes grisáceos, sin embargo esta morfología varía dependiendo el medio en el que desarrolla su crecimiento (Bial y Aristegui 2002).

Los conidióforos son de color marrón, ramificados, simpodiales y porógenos, con más de ocho tabiques transversales y con varios tabiques longitudinales u oblicuos, de 20-63 μm de longitud y 9-18 μm de grosor en su parte más ancha (Fig. 2.1, A). Los conidios son multicelulares, con septos tanto transversales como longitudinales, generalmente llevados en cadenas. Los dictioconidios maduros son de color marrón, arreglados en cadenas acrópetas, obclavados, subesféricos a elipsoides, con una célula apical más o menos elongada, pueden presentar conidios con ápices redondeados (Simmons, 2007). La forma de las esporas es ovoide con una extremidad redondeada más ancha y otra más delgada. La pared de la espora es marrón y presenta de 3 a 8 septos transversales y de 1 a 3 longitudinales (Fig. 2.1). En los extremos se forman conidios muriformes, de color marrón oscuro, con septos transversales, verticales de disposición irregular. Por gemación de la célula apical se genera un nuevo conidio, teniendo una catenulación de 10 o más conidios. Se le conoce como “moho negro”.

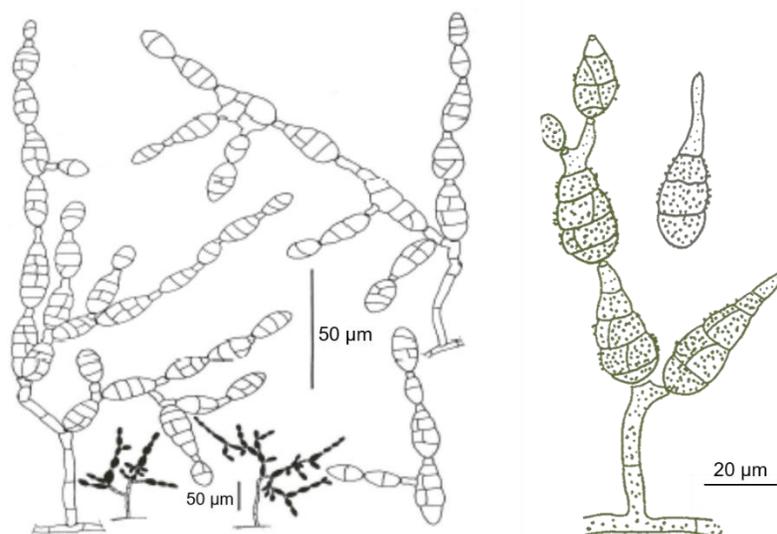


Figura 2.1 Morfología de *Alternaria alternata*. Modificado de Simmons (2007).

2.4.1.2. Taxonomía

La clasificación taxonómica de *Alternaria* (Tabla 2.1) es difícil por sus semejanzas fenotípicas en cuanto a los conidios principalmente. Se han identificado 300 especies del género *Alternaria*, Simmons (2007) ha descrito 88 especies relacionadas con el género *Alternaria*.

Hasta el momento, Saharan et al. (2016) concluye 8 secciones para *Alternaria*, siendo *A. alternata* una de estas.

Tabla 2.1 Clasificación taxonómica del género *Alternaria*, sección *alternata*.

Clasificación taxonómica	
Reino	Fungi
Filum	Ascomycota
Subdivisión	Pezizomycotina
Clase	Dothideomycetes
Orden	Pleosporales
Familia	Pleosporaceae
Género	<i>Alternaria</i>
Sección	<i>Alternaria alternata</i>

2.4.2. Alta 1 como principal alérgeno de *Alternaria alternata*

Alternaria se considera como el hongo aerotransportado más alérgico, siendo responsable de la mayoría de los diferentes tipos de asma y rinitis en los pacientes sensibilizados.

La reacción alérgica puede resultar de la exposición directa de las esporas, células vegetativas o los metabolitos del hongo (Kurup et. al., 2000)

Cerca del 70% de los pacientes que presentan alergias por hongos, muestran reactividad a la presencia de *Alternaria* (Sánchez y Bush 2001) y en pruebas de hipersensibilidad cutánea se ha detectado en el 35.3% (Rodríguez et. al., 2010), además *A. alternata* es la principal especie productora de alérgenos del género.

Aunado a esto, *A. alternata* produce micotoxina como: AOH (Alternariol), AME (Alternariol monometil éter), ALT (Altenueno), TeA (Ácido tenuazónico) y ATX I, II y III (Alterotoxina) y otros metabolitos secundarios tóxicos (Ostry, 2008).

Hasta el momento se han aislado e identificado 17 proteínas alergénicas de *A. alternata*, 12 de estas han sido reconocidas oficialmente por el Comité de Nomenclatura de Alérgenos de la Organización Mundial de la Salud y la Unión Internacional de Sociedades Inmunológicas (OMS/IUIS) (Tabla 2.2).

Tabla 2.2 Alérgenos de *A. alternata* aprobados por el Comité de Nomenclatura de Alérgenos de la OMS/IUIS.

Alérgeno	Tipo de proteína	% de Sensibilidad	Relevancia clínica	No. de acceso de Nucleótido	No. de acceso de Proteína
Alta 1	Glicoproteína dimérica	80 – 90%	Mayor alérgeno	U82633	P79085
Alta 3	Proteína de choque térmico	5%	Menor alérgeno	U87807	P78983
Alta 4	Disulfuro isomerasa		Menor alérgeno	X84217	Q00002
Alta 5	Proteína ribosomal P2	8%	Menor alérgeno	X89222	P42037
Alta 6	Enolasa	8%	Menor alérgeno	U82437	Q9HDT3
Alta 7	Flavodoxina, Proteína YCP4	7%	Menor alérgeno	X78225	P42058
Alta 8	Manitol deshidrogenasa		Menor alérgeno	AY191815	P0C0Y4
Alta 10	Aldehído deshidrogenasa	2%	Menor alérgeno	X78227	P42041
Alta 12	Proteína ácido ribosomal P1		Menor alérgeno	X84216	P49148
Alta 13	Glutación S-transferasa		Menor alérgeno	AY514673	Q6R4B4
Alta 14	Manganeso superóxido desmutasa		Menor alérgeno	KC23297	P86254
Alta 15	Serina proteasa vacuolar		Menor alérgeno	KJ558435	-

Modificado de Gabriel et al. (2016) y obtenido de OMS/IUIS

El principal alérgeno de *A. alternata* es Alta 1, corresponde a una proteína, que presenta numerosas isoformas y cuya concentración depende del estado de germinación en el que se encuentren las esporas, por lo que no todas las esporas presentes en el aire liberan la misma cantidad de alérgeno,

sin embargo al germinar las espores se incrementa la proporción en que este se libera (Mitakakis et al., 2001), cabe mencionar que Alta 1 se encuentra en los conidios y en particular en la pared celular (Twaroch et al., 2012), a este alérgeno lo reconocen los anticuerpos IgE de más del 80% de los pacientes alérgicos a *A. alternata* (Vailes et al., 2001), seguida de Alta 2 con 60 %, Alta 6 con 50 %, Alta 7 con 7% y Alta 10 con 2 % (Sánchez y Bush, 2001).

Existen toxinas que solo las sintetizan determinadas cepas patógenas, dentro de estas se incluyen las toxinas AAL (*A. alternata* f. sp. *lycopersici*), toxina AS (*A. alternata* patotipo del girasol), toxina AF (*A. alternata* f. sp. *fragariae*), toxina ACR (*A. alternata* patotipo del limón rugoso) y toxina ACTG (*A. alternata* patotipo de las mandarinas).

Gutiérrez et al. (2011) determinaron que *Alta 1* está presente en *Stemphylium botryosum* y *Ulocladium botrys*. Sáenz de Santamaría (2006) detectó el alérgeno en *Curvularia lunata*, comprobando así que *Alta 1* no es exclusivo de *A. alternata* sino que es un alérgeno específico de la familia Pleosporaceae.

2.4.3. Amplificación de genes por PCR

Han sido diversos los métodos que se han utilizado en la identificación de sp de *Alternaria*; empleando los oligonucleótidos universales ITS 1- ITS4 e ITS1-ITS2 (Loganathan et al., 2016 y Chou y Wu 2002), además del uso de Barcode evaluando distintos marcadores como Alta 1, AOX, COX1 e ITS (Rodríguez Roa, 2014) igualmente se han usado los genes *Alta 1* y *Gliceraldeido-3-fosfatasa deshidrogenasa (gdp)* (Hong et al., 2005).

Las técnicas genéticas se basan en el reconocimiento de fragmentos de ácidos nucleicos presentes en los organismos, la técnica consiste en la amplificación de un determinado fragmento de un gen por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa por sus siglas en inglés) y su posterior secuenciación.

Para la identificación de especies se diseñan cebadores específicos para la amplificación selectiva de fragmentos de ADN, para esto es necesario disponer de marcadores genéticos como un grado de variabilidad interespecífica adecuado, teniendo como ventaja la rapidez y utilidad para un número elevado de muestras.

Los marcadores moleculares contribuyen al conocimiento de la variabilidad genética en grupos de organismos ya que es posible detectar diferencias tan sólo en una posición y en la secuencia del

DNA en donde haya ocurrido una sustitución o una deleción en las bases, esto se hace evidente en el análisis del producto amplificado cuando se utilizan los oligonucleótidos adecuados (Torres y Baca 1995).

Por lo que los métodos moleculares tienen ventaja sobre los métodos de identificación fenotípica ya que éstos en algunos casos suelen ser subjetivos, puesto que no discriminan especies muy relacionadas.

2.5. OBJETIVOS

2.5.1. General

Detectar mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) la presencia del gen que codifica el alérgeno *Alta 1* en aislados de *Alternaria*.

2.5.2. Particulares

Aislar y purificar colonias de *Alternaria* sp. obtenidas del ambiente de la ZMVT.

Diseñar un cebador específico para el gen *Alta 1*.

Detectar el gen *Alta 1* en aislados de *Alternaria* sp. utilizando como herramienta la PCR.

2.6. MATERIAL Y METODOS

2.6.1. Aislamiento y purificación de *Alternaria*

La obtención de muestras se describe en el apartado 1.4.2. Una vez identificadas las colonias de *Alternaria* se procedió a el aislamiento, el cual consistió en hacer una resiembra directa de un fragmento de la colonia en medio Agar Papa Dextrosa (PDA), esto con la finalidad de obtener colonias puras y que el micelio estuviera fresco para su posterior manipulación, el procedimiento se repitió hasta lograr una morfología uniforme libre de contaminación.

Debido a que las muestras tenían bastante tiempo en refrigeración (aproximadamente 1 año) pudo causar que los conidios perdieran su viabilidad y esto provocara el nulo crecimiento, ya que al realizar la resiembra únicamente se obtuvieron 23 aislados de 208 colonias identificadas morfológicamente como *Alternaria*.

Una vez aisladas las colonias de *Alternaria* se procedió a la obtención de cultivos monospóricos para esto se preparó una suspensión de conidios en Tween 80 al 0.05% y se cuantificó en una cámara de Neubauer, se hicieron diluciones decimales hasta obtener una suspensión de 1×10^3 conidios/ml. Se colocaron 50 μ l de esta suspensión en el centro de cajas de Petri con agar PDA y se esparció con un rastrillo de vidrio estéril, la siembra se realizó por duplicado y se incubó a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, transcurridas 24 h de incubación, se revisó con un microscopio estereoscópico para localizar conidios germinados, una vez ubicado un conidio aislado, se extrajo cortando con un bisturí el área en donde se encontraba el conidio y se transfirió a una caja de Petri con agar PDA, incubándose a $28^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ (Fig. 2.2 a), transcurridas 72 h se realizaron observaciones a 40x para confirmar que el crecimiento era originado a partir de un solo conidio y que estaba libre de contaminación (Figura 2.2. b, c y d), logrado esto los aislados se mantuvieron en refrigeración hasta su uso (Ayala *et al.*, 2012).

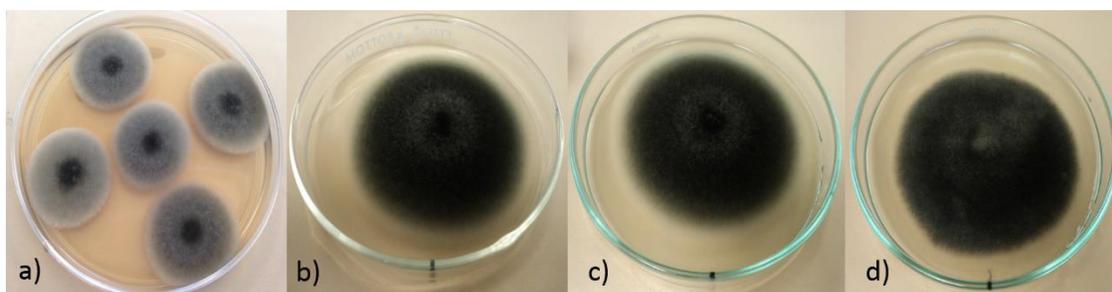


Figura 2.2 Cultivos monospóricos de *Alternaria*.

2.6.2. Identificación de *Alternaria alternata*

Al tener los cultivos monospóricos de los aislados se procedió a la identificación de *A. alternata*, de acuerdo con el manual de Identificación de *Alternaria* de Simmons (2007), las características que maneja para la identificación son; forma y terminación del conidio, tiempo de esporulación, catenulación, crecimiento de la colonia y número de septos principalmente.

Para visualizar el crecimiento y conidiación se realizaron microcultivos de Riddel que permitieron observar la catenulación y septación de cada uno de los aislados y poder realizar la medición de lo largo y ancho de los conidios (se promediaron 10 cuantificaciones por cadena y conidios) utilizando la reglilla que posee el microscopio Olympus®.

2.6.3. Extracción de DNA

Para la extracción de DNA cada uno de los aislados fue sembrado en Medio YPG (Extracto de Levadura 40%, Peptona 10%, Glucosa 10%) y fue incubado de 4 a 5 días a 28 °C en una incubadora con agitación orbital a 90 revoluciones por minuto (rpm), transcurrido ese tiempo el inóculo fue filtrado utilizando un embudo Buchner con papel filtro Whatman No. 3, el micelio se lavó con agua destilada y secó con papel filtro, la masa micelial fue colocada en microtubos de 2 ml con tapón de rosca y se conservó a -20 °C hasta su uso.

En la extracción de ADN se utilizó el kit Molecular Biology Kit (Bio Basic Inc.®), se colocaron 100 mg de la masa micelial en un microtubo de 2 ml al que previamente se le agregaron perlas de vidrio (525-600 micrones SIGMA®), se adicionaron 180 µl de amortiguador de lisis y se agitó en un equipo Fast Prep (MP Biomedicals®) durante 40 s a 6 m/s, al terminar se introdujo el tubo en hielo durante 5 min, repitiendo el procedimiento 6 veces, posteriormente se agregaron 20 µl de Proteinasa K y se incubó por 10 min a 56 °C, se adicionó nuevamente 4 µl de RNAsa, se incubó 10 min a 65°C, se agregaron 100 µl de amortiguador Universal PF y se mezcló invirtiendo el tubo dejando incubar 5 min a 20 °C, posteriormente, la muestra se centrifugó a 12,000 rpm durante 5 min a temperatura ambiente y se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo (Eppendorf de 1.5 ml), se le adicionaron 200 µl de amortiguador Universal BD y se mezcló con un vórtex, subsiguientemente se agregaron 200 µl de etanol (100%) y se mezcló nuevamente con un vórtex. Los aislados que después de este paso presentaron un consistencia gelatinosa fueron incubados a 70°C por 5 minutos, la solución se transfirió a una columna EZ-10 y se centrifugó a 12 000 rpm durante un min, el sobrenadante se desechó y al tubo se le agregaron 500 µl de solución PW y se

centrifugó a 12 000 rpm durante un min, se desechó el sobrenadante y se agregó solución de lavado universal y se centrifugó a 12 000 rpm durante un min, se desechó el sobrenadante y nuevamente se centrifugó a 12 000 rpm durante un minuto, en un tubo nuevo (Eppendorf de 1.5 ml) se colocó la columna y se añadió 100 µl de agua Mili Q dejando reposar por 1 min, posteriormente se centrifugo a 12 000 rpm durante un min, obteniendo la primera elusión ADN, la columna se transfirió a un tubo nuevo (Eppendorf de 1.5 ml), se agregaron 50 µl de agua Mili Q y se centrifugó a 12 000 rpm durante un minuto, adquiriendo una segunda elusión de ADN.

La cuantificación de ADN se hizo utilizando el Espectofotómetro (DeNovix Inc. Silverside, DE, US), la lectura se llevó a cabo a una absorbancia 260/280 nanometros(nm), para obtener una concentración de ADN en nanogramos por mililitro (ng/ml). Para verificar la concentración proporcionada en el Espectofotómetro se cuantifico el ADN por electroforesis en gel de agarosa al 1% utilizando concentraciones del fago λ (GIBCO, Brooklyn, US) de 10, 30 y 50 ng en amortiguador TBE 0.5 X a 100 Volts durante una hora, el colorante empleado en cada muestra fue 1µl de una solución 30X de Azul de Bromofenol (AB) y Gel Red 30X (GR) (Biotium, USA).

2.6.4. Amplificación del gen *Alta 1*

La reacción para la amplificación se llevó a cabo de acuerdo con Pavón et al. (2010) con las siguientes modificaciones: en un volumen total de 25 µl, la mezcla de reacción contenía 10 ng de ADN, B10X, 200 µM de cada dNTP, 2 mM MgCL₂, 1 U de Taq DNA polimerasa y 50 pmol de cada oligonucleótido. Los oligonucleótidos utilizados se muestran en la tabla 2.3. De éstos, los oligonucleótidos Dir3Alta1/Inv4Alta1 fueron diseñados por Pavón et al. (2010) con base en el alineamiento de secuencias del gen *Alta 1* de *Alternaria* spp. y los oligonucleótidos Aaltera1/Aaltera8 fueron diseñados utilizando la herramienta Blast basado en la secuencia de *A. alternata* con número de acceso en el GenBank FN689396 con la finalidad de demostrar que los aislados pertenezcan a *A. alternata*, tal secuencia está descrita como gen parcial que codifica al alérgeno *Alta 1*.

Tabla 2.3 Oligonucleótidos utilizados en la amplificación.

Primer	Secuencia (5' - 3')
Dir3Alta1 (F)	CGAGGGTGACTACGTCTGGAAG
Inv4Alta1 (R)	CGCGGCAGTAGTTGGGAA
Aaltera1 (F)	CGAGGGTGACTACGTCTGGAAGATCTCCGA
Aaltera8 (R)	TAGCGACATAGGTGATGCTGGGAATATGT

El programa de amplificación se hizo en un Termociclador Esco Swift®Maxi™ThermalCycler Block (EscoHealthcare Pte. Ltd., Singapore) como se describe en Pavón et al. (2010). Tabla 2.4.

Tabla 2.4 Programa de amplificación

Ciclo	Temperatura y duración del ciclo
Ciclo de desnaturalización	94 °C x 1 min
Ciclos de amplificación (35)	94 °C x 30 seg para desnaturalización
	55 °C x 30 seg para alineación del primer
	72 °C x 45 seg para extensión final del DNA
Extensión final	72 °C x 5 min

2.6.5. Electroforesis

Los productos de la reacción fueron observados y analizados en geles de agarosa al 1.5% en amortiguador TBE 0.5 X a 100 V durante una hora y media para los oligonucleótidos Alta1 y 2 hrs. para Aaltera. El producto de PCR (5 µl) fue mezclado con 1 µl de 30X AB+GR. Se utilizó el estándar de tamaño molecular de 100 bp DNA Ladder (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA). Las imágenes de los geles se capturaron en un Fotodocumentador GelDoc™XR (Bio-Rad, Hercules, USA).

2.6.6. Análisis de las secuencias

La secuenciación se hizo directamente del producto de la PCR en ambas direcciones usando los Oligonucleótidos Alta1 (Tabla 2.3) en el Instituto Macrogen Corp (Rockville, Maryland, USA), la edición de las secuencias se hizo con el programa Bioedit, y fueron analizadas con el algoritmo Blast, para correlacionar la identidad de cada uno de los aislados. Para obtener el mejor modelo evolutivo se utilizó el programa JModeltest determinando el modelo HKY+G para el análisis filogenético.

El análisis filogenético se generó a partir del programa Mega 7, utilizando el método de máxima verosimilitud, con 1000 replicaciones bootstrap para estimar las distancias evolutivas de los aislados.

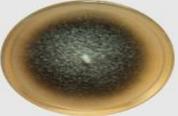
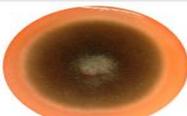
Para el análisis se incluyeron las secuencias de referencia con número de acceso KP123932.1 (*A. alternata*), FN689399.1 (*Alternaria citri*), FN689401.1 (*Alternaria gaisen*), FN689406.1 (*Alternaria solani*) y JN383515.1 (*Nimbya scirpivora*) como grupo externo.

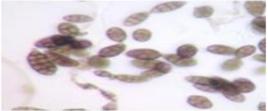
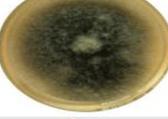
2.7. RESULTADOS

2.7.1. Aislados obtenidos

Al realizar el aislamiento de las colonias identificadas como *Alternaria*, únicamente se lograron aislar 23 colonias, las cuales presentaron macro y morfología diversas, el tiempo de esporulación, pigmentación y catenulación fue diferente entre los aislados (Tabla 2.5).

Tabla 2.5 *Morfología que presentaron los aislados obtenidos de Alternaria.*

Aislado	Morfología de colonia	Microcultivo	Morfología de conidios
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			

Aislado	Morfología de colonia	Microcultivo	Morfología de conidios
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			

2.7.2. Amplificación por PCR utilizando cebadores específicos para Alt a 1

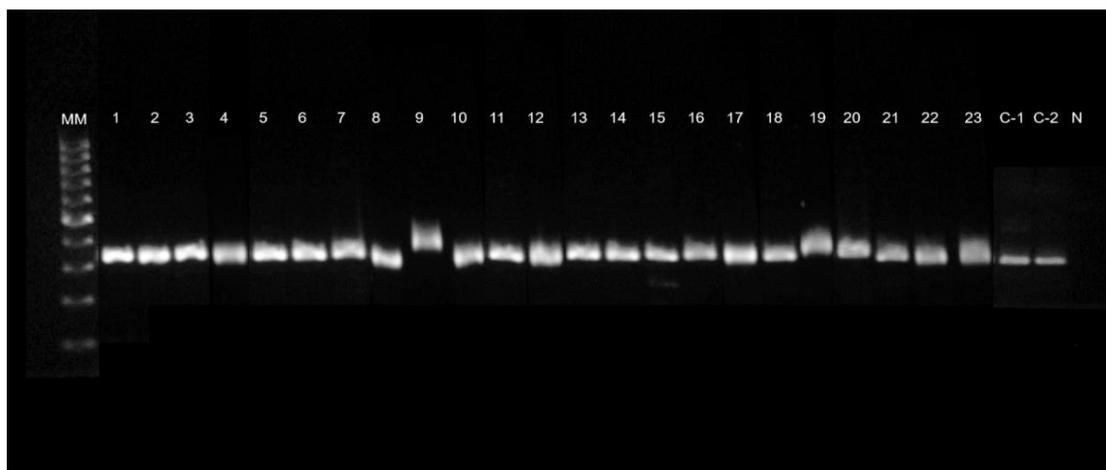


Figura 2. 3 Amplificación utilizando los oligonucleótidos Dir3Alta2/Inv4Alta1- *Alternaria* spp.

La amplificación con los oligonucleótidos Dir3Alta1/Inv4Alta1 se muestra en la figura 2.3. Los 23 aislados amplificaron el tamaño del amplicón esperado de 350 bp, lo cual coincide con lo descrito por Pavon et al. (2010), confirmando que los aislados presentan el alérgeno Alta 1 y pertenecen al género *Alternaria*.

La amplificación con los oligonucleótidos Aaltera1/Aaltera8a, se muestra en la figura 2.4, donde los DNA de los 23 aislados estudiados amplifican el fragmento esperado de 320 bp, confirmando que todos los aislados codifican hacia *A. alternata*.

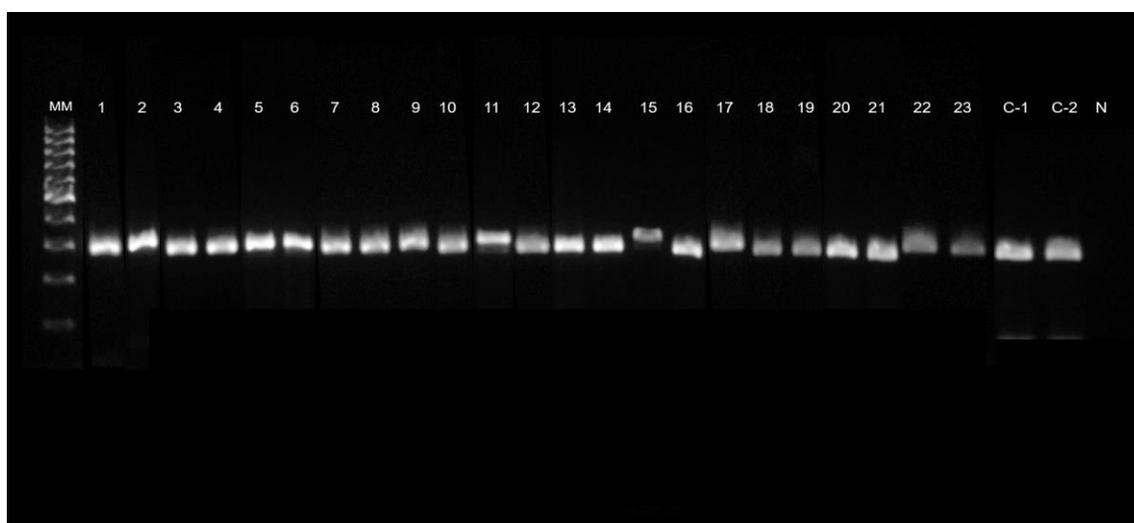


Figura 2.4 Amplificación de los 23 aislados, utilizando los oligonucleótidos Aaltera1/Aaltera8.

En el árbol filogenético obtenido en el que se incluyeron las secuencias de referencia con especies que pertenecen a la sección Alternata (Fig. 2.5) demuestra que todos los aislados corresponden a la sección *A. alternata*, no obstante únicamente los aislados 13, 14 y 15 se agrupan directamente con *A. alternata*, el resto de los aislados se agrupan con *A. citri*.

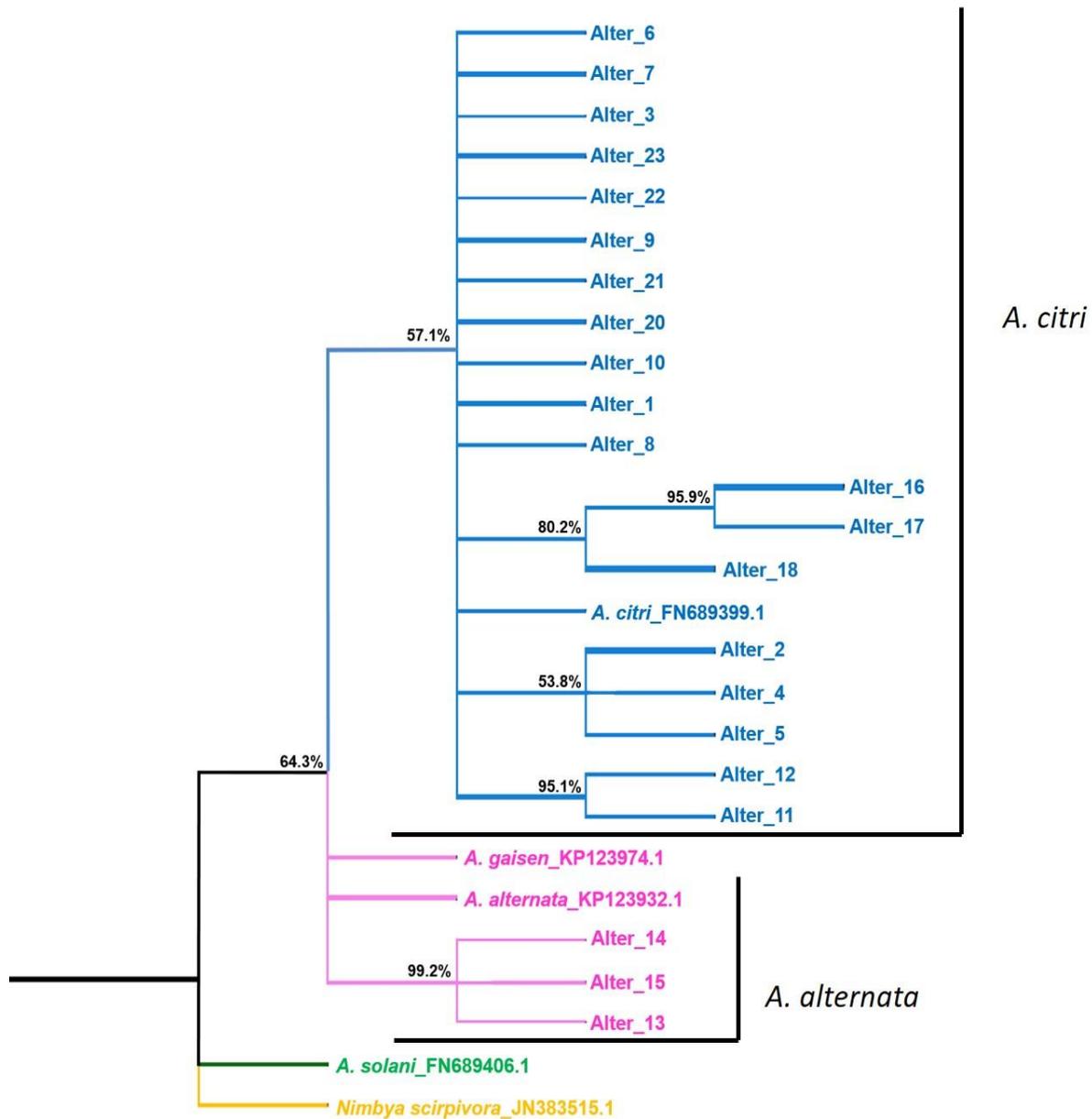


Figura 2.5 Árbol filogenético de los 23 aislados de *Alternaria*.

2.8. DISCUSIÓN

Comparado con la identificación de las colonias registradas como *Alternaria*, el número de aislados es relativamente bajo ya que de 208 colonias identificadas como *Alternaria* únicamente se aislaron 23, esto podría deberse al efecto negativo que tienen los contaminantes (la interacción entre la humedad relativa y el ozono que pueden producir radicales libres de hidroxilo) sobre la fracción cultivable de estos, la cual está definida como el número total de microorganismos en una muestra y capacidad para formar colonias sobre condiciones óptimas de cultivo (Griffiths et al., 2001).

En cuanto a la amplificación de los oligonucleótidos *Alta1* (Pavón et al., 2010), todos los aislados amplificaron la secuencia parcial del gen *Alta 1*, lo que corrobora que el alérgeno está presente en los 23 aislados obtenidos en la ZMVT lo cual es relevante pero al mismo tiempo muestra que los aislados de *Alternaria* presente en la ZMVT portan el gen que induce reacciones adversas a la salud, esto comprueba que los oligonucleótidos *Alta 1*, se pueden utilizar en la detección del alérgeno *Alta 1* en aislados de *Alternaria*, cabe mencionar que Martínez et al. (2006) demostraron que la expresión de *Alta 1* varía entre distintas cepas de *A. alternata*.

Aunado a esto se ha reportado que el alérgeno no es exclusivo de *Alternaria* sino que se ha registrado en géneros como *Ulocladium*, *Nimbya* y *Embellisia* (Hong et al., 2005) *Stemphylium* y *Ulocladium* (Gutiérrez et al., 2011), y *Curvularia* (Sáenz de Santamaría, 2006) que pertenecen a la familia Pleosporaceae, al registrarse *Ulocladium*, *Curvularia* y *Stemphylium* durante el muestreo realizado esto incrementaría el riesgo al que está expuesta la población de la ZMVT.

Con el fin de identificar las especies de *Alternaria* spp. se procedió a diseñar una sonda para identificar la especie *A. Alternata*, ésta se obtuvo a partir de un fragmento de la secuencia del gen *Alta 1* (FN689396) y se denominó Altera, la que presentó buena especificidad, ya que amplificó 2 cepas de referencia de *A. alternata*, así mismo, todos los aislados estudiados amplificaron, obteniéndose el amplicón esperado de 320 bp., esto confirmo que los aislados recuperados del ambiente son *A. alternata*.

Para confirmar la identificación de estos hongos, se procedió a construir una filogenia con las secuencias amplificadas con el gen *Alta 1*. Dentro de los estudios que se han llevado a cabo para identificar los aislados dentro de las secciones de *Alternaria*, son los siguientes: el DNA Barcoding ha evaluado varios marcadores moleculares: *Alta 1*, *AOX*, *COX1* e *ITS*, sin embargo estos no permitieron establecer variaciones entre las especies (Rodríguez Roa, 2014), esto se atribuyó a la

cercanía filogenética de los aislados analizados, *Alta 1* demostró tener poco éxito en la amplificación ya que solo el 38% del total de muestras pudieron ser amplificadas, lo cual no coincide con el presente estudio ya que los 23 aislados amplificaron para el marcador de *Alta 1*; por otro lado la región ITS presentó coincidencias en el agrupamiento tanto a nivel molecular como morfológicamente a diferencia de los demás marcadores utilizados, el resto de los marcadores registró discrepancias en el agrupamiento molecular y morfológico; por otra parte Hong et al., (2005) evaluando los genes *Alta 1* y *Gliceraldeido-3-fosfatasa deshidrogenasa (gdp)*, encontró que el exón *Alta 1* contiene sitios con mayor información parsimoniosa que las regiones del exón *gdp*, es decir que las secuencias del gene *Alta 1* producen árboles filogenéticos con mejor resolución y alto soporte en el bootstrap, cabe mencionar que los resultados que arrojan filogenéticamente fueron similares.

Chou y Wu (2002), utilizando las regiones ITS1 e ITS2 en el análisis filogenético de aislados de *Alternaria*, *Nimbya*, *Stemphylium*, *Ulocladium* y *Exserohilum*, utilizando el método Neighbour-joining, no agrupa a las especies que Hong et al., (2005) y Lawrence et al., (2012) ubican como pertenecientes a la sección *A. alternata*, al emplear las proteínas que codifican los genes *Alta 1* y *gdp*, y la región ITS para el análisis filogenético; Chou y Wu (2002) únicamente consideran el agrupamiento en 3 grupos: grupo 1, *Alternaria* con la terminación de los filamentos en pico; grupo 2, esporas pequeñas y esporas largas incluyendo a *Ulocladium*, y en el tercer grupo se ubica *Stemphylium* y *Exserohilum*. Del mismo modo Loganathan et al. (2016) utilizaron los primer universales ITS 1 e ITS4 en la identificación molecular de 17 aislados, determinando 12 para *A. alternata* y 5 para *A. solani*, aunado a esto Pryor y Gilberston (2000), proponen que la secuencia de la subunidad mitocondrial de ADN ribosomal podría ser utilizado como una herramienta para el análisis filogenético del género *Alternaria*. Por otro lados Pavón et al. (2010), mostro que el gen *Alta 1* es adecuado para la identificación especies. Sin embargo en este trabajo al utilizar tales oligonucleótidos que amplifican parte del gen *Alta 1*, no presentó buena resolución, ya que el árbol filogenético de la figura 2.5 no agrupa a los aislados estudiados con la cepa de referencia de *A. alternata* únicamente los aislados 13, 14 y 15 se agrupan con *A. alternata* y el resto muestra afinidad con *A. citri* (6, 7, 3, 23, 22, 9, 21, 20, 10, 1 y 8), además es importante mencionar que los aislados presentan politomias, lo que representa que no hay una buena discriminación entre la identificación de las especies, lo que demuestra que el gen *Alta 1* no es el adecuado para la identificación a nivel de especie de los aislados.

Con el fin de llegar a la identificación de los aislados es recomendable utilizar además de éste marcador, otros marcadores moleculares con buen grado de polimorfismo como regiones ITS, gen *Gliceraldeido-3-fosfatasa deshidrogenasa (gdp)* u otro tipo de marcadores moleculares que puedan incrementar la información en cuanto a su secuencia y poder identificarlos y agruparlos.

Por otro lado el uso de la sonda Altera presenta una buena alternativa para la detección de *A. alternata* en el ambiente y en la clínica, ya que el uso de la PCR como herramienta en el diagnóstico de enfermedades es de suma importancia para un tratamiento rápido y oportuno, un ejemplo de esto es lo realizado por Ferrer et al., (2002) en el diagnóstico de Queratitis fúngica en la que el agente causal fue *A. alternata*, de igual forma Kordalewska et al. (2015), utilizaron la PCR en tiempo real y PCR punto final, en la identificación de aislados de *A. alternata*, concluyendo que esta es una herramienta rápida y fácil de interpretar para utilizarse en el diagnóstico de enfermedades infecciosas causadas por este hongo.

Los extractos fúngicos empleados en las pruebas de diagnóstico suelen tener alta variabilidad en el contenido de alérgenos (Twaroch et al., 2015), debido a esto es de suma importancia la identificación de los hongos que inducen en las enfermedades alérgicas, la detección de *Alta 1* en los aislados y su identificación como sección de *A. alternata* es información que podría coadyuvar en el diagnóstico incluso en el tratamiento de estas enfermedades que se presenten en México y sobre todo en la ZMVT.

2.9. CONCLUSIONES

De las 208 colonias identificadas con características micromorfológicas como *Alternaria* únicamente se aislaron 23.

Los oligonucleótidos Dir3Alta1/Inv4Alta1 utilizados para el fragmento del gene *Alta 1*, amplificaron para los 23 aislados de *Alternaria*, determinando así que el alérgeno Alt a 1 está presente en los aislados de *Alternaria* obtenidos en la ZMVT.

Los oligonucleótidos Aaltera1/Aaltera8 específicos para *A. alternata*, amplificaron para los 23 aislados, identificándose así como parte de la sección *A. alternata*.

Únicamente los aislados 13, 14 y 15 quedan identificados como *A. alternata*, para el resto de los aislados es indispensable utilizar otros marcadores moleculares que ayuden en su identificación a nivel de especie dentro de esta sección, ya que el gene *Alta 1* utilizado no fue apto al no discriminar entre los aislados por lo que no fue posible identificarlos a nivel de especie.

Es importante la detección del alérgeno en los aislados por el potencial que tiene en la inducción de alergias, sin embargo el riesgo se incrementa ya que el alérgeno se ha registrado en otros géneros de la familia Pleosporaceae como *Ulocladium*, *Curvularia* y *Stemphylium*, los cuales también fueron detectados durante el muestreo.

La identificación de los aislados como *A. alternata* puede ayudar en el diagnóstico de enfermedades alérgicas en la ZMVT, esto para un tratamiento oportuno para la población que tenga estos padecimientos, incluso la identificación de plagas causadas por moho negro que llegaran a presentarse en esta zona.

2.10. LITERATURA CITADA

- Artencia, R., Bernedo N. y Ansútegui I.J. (2007). Inflamación, complemento y reacciones de hipersensibilidad. En Peláez H. y Dávila G. (Eds.) *Tratado de Alergología*, Tomo I (pp. 55-65). España: Editorial Ergon.
- Ayala, M., Montesinos R., Berlanga A. (2012). Obtención de cultivos monospóricos de hongos entomopatógenos. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Dirección General de Sanidad Vegetal, SENASICA. Ficha Técnica CB-27, 4 p.
- Beggs, P. J. (2004). Impacts of climate change on aeroallergens: past and future. *Clinical & Experimental Allergy*, 34: 1507-1513.
- Brito, F., Alonso A., Carnés J., Martín R., Fernández E., Galindo P., Alfaya T. y Amo. M. (2012). Correlation between Alt a 1 leves and clinical symptoms in *Alternaria alternata*-monosensitized patiens. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 22(3): 154-159.
- Chou, H., y Wu W. (2002). Phylogenetic analysis of internal transcribed spacer regions of the genus *Alternaria*, and the significance of filament-beaked. *Mycological Research*, 106(2): 164-76.
- De la Torre M., Sánchez I., Matheu V. y Álvarez J. (2007). Alergía ocular. En Peláez H. y Dávila G. (Eds.) *Tratado de Alergología*, Tomo I (pp. 561-580). España: Editorial Ergon.
- Fernández, S., Sady M., Smith M., Tormo R., Ambelas C., Maya J., Silva I. y Gonzalo A. (2015). Potential sources of airborne *Alternaria* spp. Spores in South-west Spain. *Science of the Total Environment*, 533: 165-176.
- Ferrer, C., Muñoz G., Alió J., Abad J. y Colom F. (2002). Polymerase Chain Reaction Diagnosis in Fungal Keratitis caused by *Alternaria alternata*. *American Journal of Ophthalmology*, 133(3): 398-399.
- Gabriel, M., Postigo I., Tomaz C. y Martínez J. (2016). *Alternaria alternata* allergens: Markers of exposure, phylogeny and risk of fungi-induced respiratory allergy. *Environmental international* 80-90: 71-90.
- Griffiths, W., Stewart I., Clark J. y Holwill I. (2001). Producers for the characterisation of bioaerosol particles. Part II: Effects of environment on culturability. *Aerobiologia*, 17: 109-119.
- Gutiérrez, A., Postigo I., Guisantes J., Suñen E. y Martínez J.† (2011). Identification of allergens homologous to Alt a 1 de *Stemhylium brotryosum* and *Ulocladium botrytis*. *Medical Mycology*, 49: 892-896.
- Hong, S., Cramer R., Lawrence C. y Pryor B. (2005). Alt a 1 allergen homologs from *Alternaria* and related taxa: analysis of phylogenetic content and secondary structure. *Fungal Genetics and Biology*, 42: 119-129.
- Kordalewska, M., Brillowska A., Jagielski T. y Dworecka B. 2015. PCR and real-time PCR assays to detect fungi of *Alternaria alternata* species. *Acta Biochimica Polonica*, 62(4): 707-712.
- Kurup V., Shen H. y Banerjee B. (2000). Respiratory fungal allergy. *Microbes and Infection*, 2:1101-1110.

- Laich, F., Alcoba J., Pérez E., Bahaya Y., Delgado J. y Méndez S. (2008). Molecular characterization of *Alternaria alternata* causing ocular infection: detection of IGS-RFLP intraspecific polymorphism. *Medical Mycology*, 46: 615-619.
- Loganathan, M., Venkataravanappa V., Saha S., Bahadur A., Tripathi S., Kumar R., Kumar A. y Chowdappa P. (2016). Morphological, Pathogenic and Molecular Characterizations of *Alternaria* species causing early blight of tomato in Northern India. *Proceedings of the National Academy of Sciences, Indian Section B: Biological Sciences*, 86(2): 325-330.
- Lawrence, D., Park M. y Pryor B. (2012). *Nimbya* y *Embellisia* revisited, with nov. comb for *Alternaria celosiae* and *A. permunctulata*. *Mycological Progress*, 11: 799-815.
- Martínez, J., Gutiérrez A., Postigo I., Cardona G. y Guisantes J. (2006). Variability of Alt a 1 expression by different strains of *Alternaria alternata*. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 15(5): 279-282.
- Mitakakis, T., Bames C. y Tovey E. (2001). Spore germination increases allergen release from *Alternaria*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107(2): 388-390.
- Moral de Gregorio A., Pola J. y Brito F. (2007). Principales alérgenos de interior. En Peláez H. y Dávila G. (Eds.) *Tratado de Alergología*, Tomo I (pp. 55-65). España: Editorial Ergon.
- Organización Mundial de la Salud y Unión internacional de Sociedades Inmunológicas. Recuperado el 26 de Junio de 2016 de <http://allergen.org/search.php?Species=Alternaria%20alternata>
- Ostry, V. (2008). *Alternaria* mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin Journal*, 1(2): 175-188.
- Pavon, M., González I., Pegels N., Martín R. y García T. (2010). PCR detection and identification of *Alternaria* species-groups in processed foods based on the genetic marker Alt a 1. *Food Control*, 21: 1745-1756.
- Pitt, J. y Hocking A. (Eds). (2009). Primary Keys and Miscellaneous fungi. En: *Fungi and Food Spoilage* (pp. 53-168). Nueva York, Estados Unidos de América: Springer.
- Pryor, B. y Gilbertson R. (2002). Molecular phylogenetic relationships amongst *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mt SSU rDNA sequences. *Mycological Research*, 104(11): 1312-1321.
- Rodríguez, O. Moreno K. Méndez T. y Gómez C. (2010). Prevalencia comparada de sensibilización a géneros de hongos alérgicos en pacientes con alergias respiratorias provenientes de Michoacán y Altos de Jalisco-León, Gto. Años 2004-2006 vs 2007-2009. *Revista Mexicana de Micología*, 32: 1-9.
- Rodríguez, R. J. (2014). Evaluación de marcadores moleculares en la identificación de especies de *Alternaria*. (Tesis Maestría en Biología Aplicada). Universidad Militar Nueva Granada, Facultad de Ciencias, Bogotá, Colombia.
- Rotem J. (1994). *The Genus Alternaria: Biology, Epidemiology and Pathogenicity*. St Paul, MN, USA: APS press.

- Rubio, M. C., Rezusta A. y Gil J. (s.f.). Infecciones Oculares por el género *Alternaria*. Control de calidad, *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Recuperado de <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/alterna.pdf>
- Sáenz de Santamaría, I., Gutiérrez A., Cardona G. y Guisantes J. (2006). The major allergen of *Alternaria alternata* (Alt a 1) is expressed in the members of the Pleosporaceae family. *Mycoses*, 49: 91-95.
- Saharan, G., Mehta N. y Meena P. (2016). Introduction. En su: *Alternaria diseases of crucifers: Biology, Ecology and Disease Management* (pp 1-16). Singapur: Springer.
- Salo, M. P., Arbes S.J., Sever M., Jaramillo R., Cohn R. D., London S.J. y Zeldi D.C. (2006). Exposure to *Alternaria alternata* in US homes is associated with asthma symptoms. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 118(4): 892-898.
- Sanchez, H. y Bush R.K. (2001). A review of *Alternaria alternata* Sensitivity. *Revista Iberoamericana de Micología*, 18: 56-59.
- Simmons, E.G. (2007). *Alternaria. An identification manual*. Utrecht, Holanda: CBS Fungal Biodiversity Centre.
- Torres, A.G. y Baca B.E. (1995). Reacción en cadena de la polimerasa. *Elementos* 23(3): 16-21.
- Twaroch, T., Arcalís E., Sterflinger K., Stöger E., Swoboda I. y Valenta R. (2012). Predominant localization of the major *Alternaria* allergen Alt a 1 in the cell wall of the airborne spores. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 129(4): 1148-1149.
- Twaroch T., Curin M., Valenta R. y Swoboda I. (2015). Mold Allergens in Respiratory Allergy: From Structure to Therapy. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 7(3): 205-220.
- Vailes, L., Sridhara S., Cromwell O., Weber B., Breitenbach M. y Chapman M. (2001). Quantitation of the major fungal allergens, Alt a 1 and Asp f 1, in comercial allergenica products. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107(4): 641-646.
- Vennewald I. y Wollina U. (2005). Cutaneous infections due to opportunistic molds: uncommon presentations, *Clinics in Dermatology* 23: 565-571.
- Velasco, C. y Tay C. (2004). Introducción a la Micología Médica. México. Méndez Editores.
- Yamamoto, N., Bibby K., Qian J., Hospodsky D., Rismani-Yazdi H., Nazaroff W. y Peccia J. (2012). Particle-size distributions and seasonal diversity of allergenic and pthogenic fungi in outdoor air. *The ISME Journal*, 6: 1801-1811.

CAPITULO III

Análisis de Riesgo a la Salud por la exposición a conidios de *Alternaria* en la ZMVT

3.1. RESUMEN

Al hongo *Alternaria* se le ha relacionado como el género más importante en las pruebas de reactividad en pacientes sensibilizados hacia hongos alérgenos, debido al incremento en las demandas de consulta que en mayor proporción son para los niños, por lo que se debe conocer el riesgo al que está sometida la población en especial la inmunocomprometida. Se tomó un total de 66 muestras en las estaciones San Mateo Atenco, Aeropuerto, San Cristóbal Huichochitlán y Oxtotitlán durante los meses de Abril a Noviembre de 2014 a través del método de sedimentación por gravedad en cajas de Petri con medio Rosa de Bengala; y con filtros de fibra de vidrio obtenidos con equipos de la marca TCR TECORA para PM_{2.5}. (Material Particulado con diámetro aerodinámico de 2.5 micrómetros), la determinación de UFC/m³ se hizo utilizando la fórmula de Omeliansky, para el análisis de Riesgo se tomó como dosis de referencia 100 UFC/m³, que se ha determinado como la que induce la alergia para *Alternaria*. Únicamente se obtuvo crecimiento de colonias de *Alternaria* con el método de sedimentación por gravedad. El pico más alto se registró en Aeropuerto el 21/06/14; en cuanto a la estacionalidad se vio una marcada diferencia en Verano ya que disminuyó la concentración de *Alternaria* con respecto a la Primavera y el Otoño que fue el que registró mayor cantidad de UFC, esto se atribuye al manejo agrícola que tiene el territorio de la ZMVT y que coincide con la estacionalidad que muestra *Alternaria*. El sitio que presenta mayor riesgo es San Mateo Atenco que registró mayor UFC/m³, seguido de Aeropuerto, Oxtotitlán en tercer lugar y por último Oxtotitlán. En la comparación de casos reportados para Infecciones Respiratorias, Asma, Conjuntivitis y Neumonía, únicamente las infecciones respiratorias muestran una relación en cuanto al incremento de UFC, los casos de Conjuntivitis muestran una morbilidad desplazada de 1 mes aproximadamente respecto a este incremento. Asma y Neumonía no muestra relación.

El Análisis de Riesgo demuestra que en distintas temporadas se exacerban las infecciones respiratorias además de otras enfermedades esto por la elevada concentración de conidios de *Alternaria* que se registra en la ZMVT cuya fuente se cree es la manipulación del suelo por la temporada de siembra y cosecha, el análisis de riesgo podría tomarse como una herramienta para la prevención de enfermedades respiratorias y alérgicas inducidas por *Alternaria* y como una medida que se pueda utilizar en la normatividad por la exposición a agentes biológicos en interiores, en este caso únicamente para *Alternaria*.

Palabras clave: Bioaerosoles, parámetros meteorológicos, ZMVT, Riesgo a la salud, PM_{2.5}

3.2. ABSTRACT

3.3. INTRODUCCIÓN

El elevado potencial de *Alternaria* como factor de riesgo promovido por la gran cantidad de proteínas alergénicas y toxinas que produce (Patricarca, 2014), hace que este género sea relevante por ser fitopatógeno y causar pérdidas económicas además de ser nocivo para la salud, deteriorando la calidad de vida del ser humano.

Como se mencionó en el capítulo 1, uno de los factores que alteran la concentración de conidios es el calentamiento global ya que los efectos del cambio climático podrían estimular la esporulación (Vélez et al., 2016). De acuerdo con Corden y Millington (2001), se ha incrementado el número de UFC/m³, de registrar un conteo promedio de 50 esporas/m³ en 1989 a cuantificar 4292 esporas/m³ en 1996, tomando en cuenta que *Alternaria* es un hongo saprofito, detectaron que la cantidad de esporas se incrementaba durante la cosecha ya que genera altos volúmenes de polvo aumentando así la cantidad de conidios suspendidos en el aire, aunado a esto al encontrar las condiciones óptimas, el hongo acelera el crecimiento del micelio y producción de esporas, elevándolo del 18 al 329% respecto a un año anterior de muestreo (Sadyś et al., 2016).

La esporulación, concentración y dispersión de *Alternaria* se ve influida por las variables atmosféricas de CO₂, temperatura, lluvia, humedad, velocidad y dirección del viento además el cambio climático también tiene un impacto sobre las esporas de los hongos (Beggs, 2004), la variación en la concentración de conidios depende de la variación en las concentraciones de PM₁₀ (Raisi et al., 2013) y se ha notado un incremento en la concentración de esporas cuando la temperatura aumenta (Grin-Grofón et al., 20106).

A menudo la liberación estacional de esporas de hongos fitopatógenos esta sincronizada estrechamente para coincidir con los estadios de crecimiento y floración del hospedero. (Lacey y West 2006). Comparando distintas regiones como fuente de emisiones de esporas de hongos, el bioma con mayores emisiones son los cultivos, seguidos de bosques (Ansari et al., 2015); al tener la ZMVT más del 60 % de su territorio para uso agrícola podría ser un factor que propicie la alta concentración de conidios.

Los fragmentos del hongo también han sido determinados como fuente de alérgenos y estos son más comunes que los conidios (Green et al., 2005 y Green et al., 2006), algunos generan micotoxinas que tienen distintos efectos adversos hacia la salud (Sorenson 1999).

En los últimos 20 años, la incidencia de enfermedades alérgicas se ha incrementado alrededor del mundo (Chang et al., 2013), seguido a esto, la prevalencia de las enfermedades debidas a la sensibilización contra los alérgenos se encuentra en aumento, comprometiendo hasta un 30% de los individuos en algunas comunidades y sugiriendo que más de 6.5 millones de personas asmáticas presentan sensibilidad a los hongos (Denning et al., 2014). La prevalencia de enfermedades alérgicas conlleva problemas como la inhibición social, baja autoestima, déficit del funcionamiento cognitivo diario, excesiva somnolencia y efectos secundarios por la administración de fármacos antihistamínicos. En el caso del asma, el coste económico es considerable ya que en estos se incluyen: a) costos directos los cuales son notables, teniendo entre estos ingresos hospitalarios y las preparaciones farmacéuticas y b) costos médicos indirectos como horas de trabajo perdidas y en algunos casos muertes prematuras, cabe mencionar que el asma ocupacional tiene mayores tasas de hospitalización y mortalidad implicando así mayores costos para las personas que laboran (Bousquet et al., 2005).

Para el Valle de Toluca de 2010 a 2011 se registraron 5,661 consultas por Infecciones Respiratorias Agudas (IRA), 4,046 para el municipio de Toluca y 423 para el municipio de San Mateo Atenco, para el municipio de Toluca durante el 2010 se atendieron casos de IRA (8,996), amigdalitis agudas (3,201), rinofaringitis agudas (1,557), faringitis aguda (1,303), 664 casos de infecciones agudas en vías respiratorias, 6 casos de bronquitis aguda, y se atendieron 8,986 personas con gripe y 6 con bronquitis (Aire Limpio: Programa para el Valle de Toluca 2007-2011).

Puesto que la sensibilidad hacia *Alternaria* compromete a gran parte de la población, es de vital importancia conocer el Riesgo a la Salud, por la exposición a los conidios, además de conocer la variabilidad que puede llegar a presentarse en las distintas épocas que propician el incremento de partículas en el aire.

3.4. REVISION BIBLIOGRÁFICA

3.4.1. Riesgo a la Salud por la exposición a conidios

La salud como tal es un derecho el cual implica que el Estado tiene el deber de crear las condiciones necesarias para que la población pueda tener buena salud, sin embargo todo ciudadano tiene el deber de cuidar la salud de su comunidad a través de la protección del medio ambiente, además de contribuir a la financiación de los servicios de salud y sobre todo adoptar estilos de vida que no comprometan el bienestar de los otros y no aumenten innecesariamente los costos de su atención. Sin embargo el asma y otras enfermedades alérgicas constituyen padecimientos crónicos que condicionan la salud de la persona afectada, limitando así su calidad de vida, ya que este tipo de enfermedades además de ser costosas y de larga duración en cuanto a los tratamientos empleados (medicamentos e inmunoterapia), también repercuten en las necesidades vitales como el sueño y la alimentación y consecuentemente en la pérdida de la capacidad de concentración; teniendo así dificultades de aprendizaje y bajo rendimiento en la producción laboral. Además de impactar en la dinámica familiar, en edades pediátricas y juveniles acarrear pedidas de días de escolarización (ausentismo escolar) y en edades adultas, perdidas de días de trabajo (ausentismo laboral). Teniendo así que el coste económico de las enfermedades alérgicas incluye: Costos directos derivados de la asistencia médica (visitas al médico, medicamentos, visitar a servicios de urgencias, análisis, pruebas de diagnóstico, hospitalizaciones, etc.), y costes no médicos (transporte, fisioterapia, asistencia social, etc.), derivando Costos indirectos (pérdida de trabajo productivo, disminución del rendimiento laboral, pérdida de capacidad productiva, pérdida de trabajo productivo por asistencia a familiares) y Costos intangibles como el dolor, malestar, miedo, tristeza y sufrimiento.

Actualmente la alergia y las infecciones de las vías respiratorias son las causas más frecuentes de demanda de consulta pediátrica, ya que los niños son uno de los grupos susceptibles además de los ancianos. En el Reino Unido se estima que cerca del 25% padece esta condición, en términos de productividad los individuos que reportan este padecimiento operan 2/3 de su productividad normal, teniendo que anualmente perderían 15 días de trabajo lo que significaría un impacto económico a gran escala, el cual se incrementa por los costos del tratamiento médico y para estudiantes en la pérdida de días de escuela; así se estimó que en 2004 Europa gastó aproximadamente € 3.7 billones, en este continente las enfermedades alérgicas suponen el 4% de

las consultas realizadas en atención primaria y el 1.5% de todos los ingresos en un hospital, estimándose que el 30% de la población general padece una o más enfermedades alérgicas. Valuando que en una población de aproximadamente 5 millones de habitantes, las enfermedades alérgicas representan un gasto anual (contando costos directos de atención médica y tratamiento) superior a 150 millones de euros, aproximadamente 100 euros por paciente al año, contando además los costes indirectos y estimando que son el doble de los directos. Aunado a esto se ha calculado que la reducción en la producción equivaldría a la pérdida de 5 días laborables por trabajador al año, cuyo valor económico se estima en 650 euros/año, revelando que se llegarían a ahorrar aproximadamente 524 millones de euros/año si se redujera a 4 el promedio de días laborales perdidos por rinitis alérgica (Atenstaedt, 2014).

En México la NOM-048 establece el método normalizado para la evaluación de riesgos a la salud como consecuencia de agentes ambientales. Para realizar una evaluación de riesgo se deben incluir los siguientes componentes: 1) Identificación del agente causal: consiste en la caracterización cualitativa y cuantitativa del agente químico, físico o biológico que resulta peligroso para la salud de la población ocupacional y general; 2) Identificación de la forma de exposición, la cual corresponde a la caracterización de la vía o vías por las cuales un individuo o grupo se pone en contacto con los agentes químicos, físicos o biológicos que son peligrosos para la salud ocupacional y general; y 3) caracterización de riesgo a la salud que es el cálculo cuantitativo o de estimación del riesgo a la salud a partir de modelos numéricos y epidemiológicos.

Con la finalidad de salvaguardar la salud de la población ante la presencia de una enfermedad se ha propuesto el ciclo de control y prevención de la enfermedad (Fig. 3.1), el cual plantea que se debe hacer un vigilancia para identificar la enfermedad, al hacer la investigación epidemiológica se puede conocer el origen y los factores de riesgo, mediante la investigación aplicada se puede plantear estrategias de prevención (Park et al., 2011).

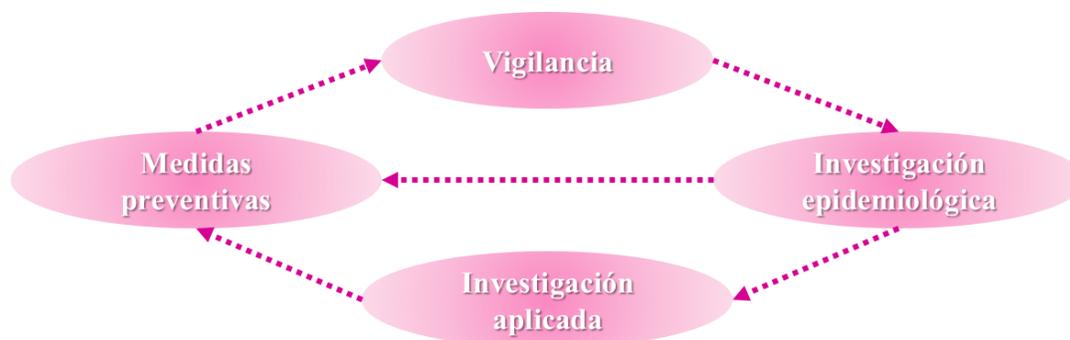


Figura 3.1 Diagrama de ciclo de control y prevención de la enfermedad.

3.4.2. Reactividad hacia *Alternaria*

Al realizar las pruebas de sensibilidad hacia hongos, *Alternaria* es el hongo que muestra mayor reactividad. En una prueba de sensibilidad a 3066 pacientes infantiles *Alternaria* registró el 33% (731 pacientes) (Moral et al., 2008), *Alternaria* muestra una prevalencia en la población pediátrica que es estadísticamente significativa comparada con la población que es mayor de 13 años (Bartra et al., 2009 y Plaza et al., 2003). Se estima que cerca del 70% de los pacientes que presentan alergias por hongos, muestran reactividad a *Alternaria alternata* (Sánchez y Bush, 2001).

Pulimood et al., (2007) encontraron una relación entre las admisiones en hospitales por asma y las concentraciones de *Cladosporium*, *Didymella* y *Alternaria* esto después de que ocurriera el paso de una tormenta, registrando que los conidios de *Alternaria* se incrementaban después de la tormenta llegando a registrar 655 esporas/m³. En cuanto a zonas geográficas Moral et al., (2008) registraron que conforme la población vive más alejada de la costa aumenta la sensibilidad a *Alternaria*. En casos de Rinitis Alérgica causada por hongos, se registró mayor sensibilidad a *A. alternata*, además se registró sensibilidad en casos de Rinitis Alérgica con Asma y Sinusitis fúngica alérgica pero en menor proporción (Chowdary et al., 2011)

3.4.3. Población en la ZMVT

La ubicuidad de *Alternaria* pone en riesgo a la población en general, en este apartado únicamente se muestra los datos de la población involucrada directamente.

El total de habitantes en la ZMVT es de 2,152,150 habitantes (COESPO, 2016), distribuidos en 15 municipios, para el municipio de Toluca es de 914, 841 y 80,374 para el municipio de San Mateo Atenco, teniendo un total de 958, 218 habitantes en los 2 municipios en los que están ubicadas las

4 estaciones de monitoreo atmosférico de la RAMAT. Los grupos de edad hasta el 2010 se describen en la tabla 3.1.

Tabla 3.1 Población por grupo de edad en el municipio de Toluca y San Mateo Atenco.

Municipio	Grupo de edad	Población	Municipio	Grupo de edad	Población	Total
Toluca	0-14	230,416	San Mateo	0-14	22,500	252,916
	15-59	516,210		15-59	44,708	560,918
	60 y más	57,691		60 y más	4,257	61,948
	No especificado	15,244		No especificado	7,192	22,436
					Total	898,218

COESPO, 2015.

La población vulnerable es de un 36.2 % para el municipio de Toluca y 3.4 % para San Mateo Atenco, englobando los grupos de edad de 0-14 años y 60 y más años, siendo estos además de los asmáticos y las personas con padecimientos en el sistema respiratorio y cardiovascular los que tienen mayor riesgo a la exposición de contaminantes (Bases de Diagnóstico: población vulnerable del Estado de México 2010).

3.5. OBJETIVOS

3.5.1. General

Determinar zonas de riesgo a la salud en la ZMVT a partir de un análisis de riesgo.

3.5.2. Particulares

Analizar la variabilidad que presentan las concentraciones de conidios registrados como *Alternaria* durante el muestreo

Realizar el análisis de Riesgo utilizando los datos obtenidos en la cuantificación de UFC y la dosis de referencia en base a bibliografía.

3.6. MATERIAL Y METODOS

Durante los meses de abril a diciembre de 2014, se obtuvieron 17 muestras por duplicado con el método de sedimentación por gravedad en cajas de Petri con medio rosa de Bengala al que se le agregó cloranfenicol para inhibir el crecimiento de bacterias en 4 de las 7 estaciones de monitoreo atmosférico de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca mencionadas en el capítulo 1. Las cajas fueron colocadas a una altura aproximada de 2.5 m durante 15 minutos. Se transportaron al laboratorio y fueron incubadas de 5 a 7 días, transcurrido ese tiempo se llevó a cabo la identificación macro y micromorfológica en base a claves taxonómicas (Barnett y Hunter 1987 y Samnson *et al.*, 1984), una vez identificadas se cuantifico el número de UFC por caja.

Los parámetros meteorológicos de los días en que tomó la muestra se obtuvieron de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico de Toluca.

3.6.1. Determinación de UFC/m³

Para establecer la cantidad de UFC/m³ en las muestras obtenidas de Sedimentación por gravedad se utilizó la fórmula de Omeliansky, que ha sido considerada como un método aceptado para la cuantificación de hongos en muestras obtenidas por este método (Awad y Mawla 2012):

$$N = \frac{5a \times 10^4}{bt}$$

Donde:

$$N = \text{UFC} \cdot \text{m}^{-3}$$

a = número de colonias por caja de Petri

b = cm² de la caja

t = tiempo de exposición (min)

3.6.2. Análisis de Riesgo

Una vez cuantificadas las UFC de *Alternaria* y con base a la dosis de exposición y de referencia, se determinó el análisis de Riesgo (Díaz 2009 y Peña et al. 2001), utilizando la siguiente expresión:

$$\text{Riesgo (R)} = \frac{\text{Dosis de exposición (DE)}}{\text{Dosis de Referencia (DR)}}$$

Como dosis de referencia para *Alternaria* se tomó en cuenta que 100 UFC/m³ inducen la presencia de alergias (Ricci et al., 1995 y Rodriguez-Rajo et al., 2005).

Los casos reportados de Infecciones Respiratorias, Conjuntivitis, Asma y Neumonía, se obtuvieron del boletín Epidemiológico del Estado de México correspondiente a la Jurisdicción Sanitaria de Toluca, registrando los casos que se reportaron una semana antes, durante y después de la fecha de cada día de muestreo desde Abril a Diciembre de 2014.

3.7. RESULTADOS

La concentración de *Alternaria* de acuerdo con la humedad registrada para el periodo de muestreo osciló entre el 60 y 80 %, en los 4 sitios, sin embargo se registraron conidios incluso en 90 %. En cuanto a la temperatura la mayor concentración se registró de los 14 a los 16 °C, en Aeropuerto se registraron conidios hasta los 18 °C. Por su parte la velocidad del viento (m/s), fue variante registrándose mayor concentración de los 10 a los 15 m/s (Fig.3.2).

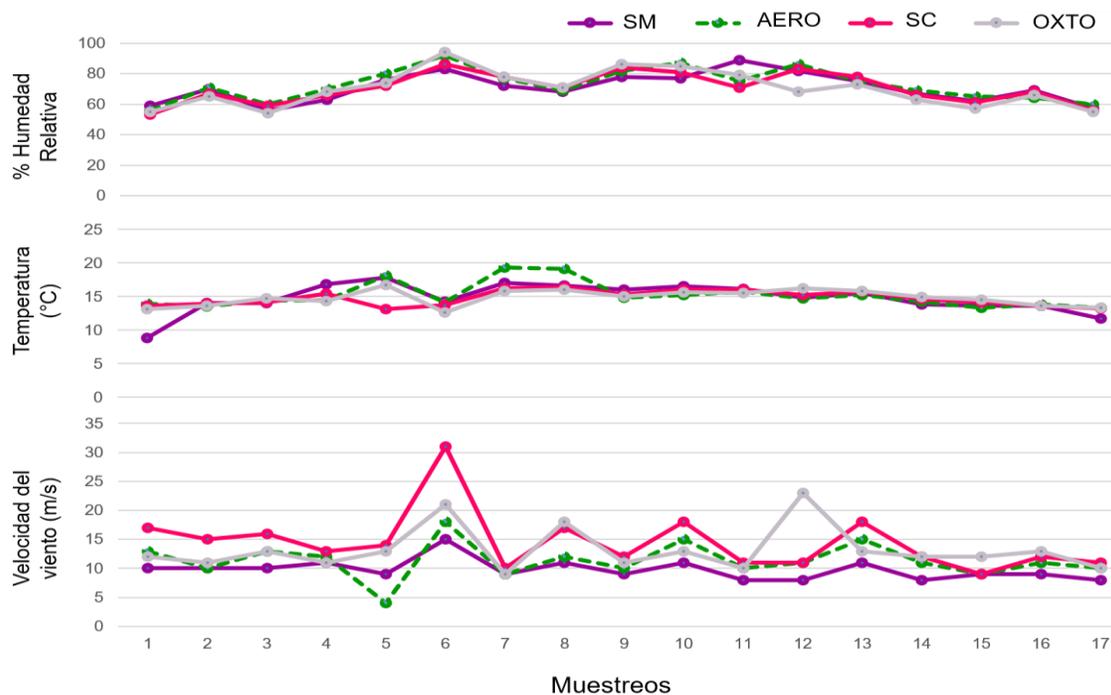


Figura 3.2 Intervalo en el que se registraron los conidios de *Alternaria* en cuanto a la Humedad Relativa (%), temperatura (°C) y velocidad del viento (m/s).

La concentración de UFC/m³ tuvo un promedio de 733 (Fig. 3.3), el pico más alto se registró fue el muestreo 3 (21-May-14) con 2926 UFC/m³ seguido del muestreo 14 (17-oct-14) con 2682 UFC/m³, ambos en Aeropuerto; en San Mateo se registraron dos picos, en el muestreo 1 (24-abr-14) con 2560 UFC/m³ y 14 con 2438 UFC/m³; en San Cristóbal el pico más alto fue de 2438 UFC/m³ en el muestreo 16 (3-nov-14) y 2195 UFC/m³ en el muestreo 2 (9-may-14); Oxtotitlán el pico más alto se registró en el muestreo 3 (21-may-14) con 1219 UFC/m³.

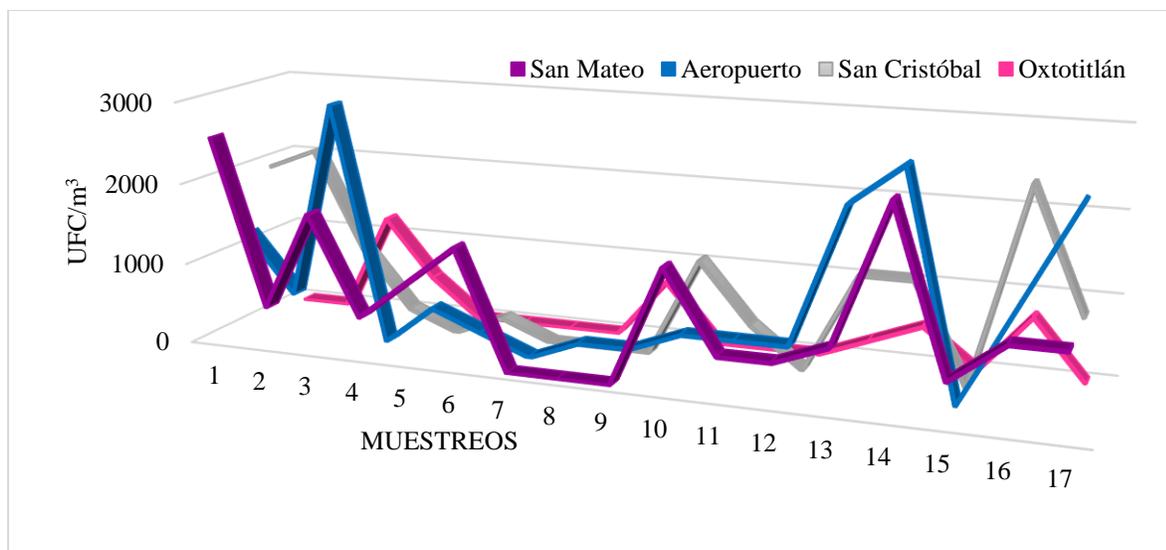


Figura 3.3 Variación en la cuantificación de UFC/m³ registrada durante los 17 muestreos en los 4 sitios.

En cuanto a el Análisis de Riesgo se maneja que al presentarse un valor mayor o igual a 1 es un riesgo, los valores registrados tienen un promedio de 7, siendo el valor más alto 29 en Aeropuerto en el muestreo 3 (Fig. 3.4).

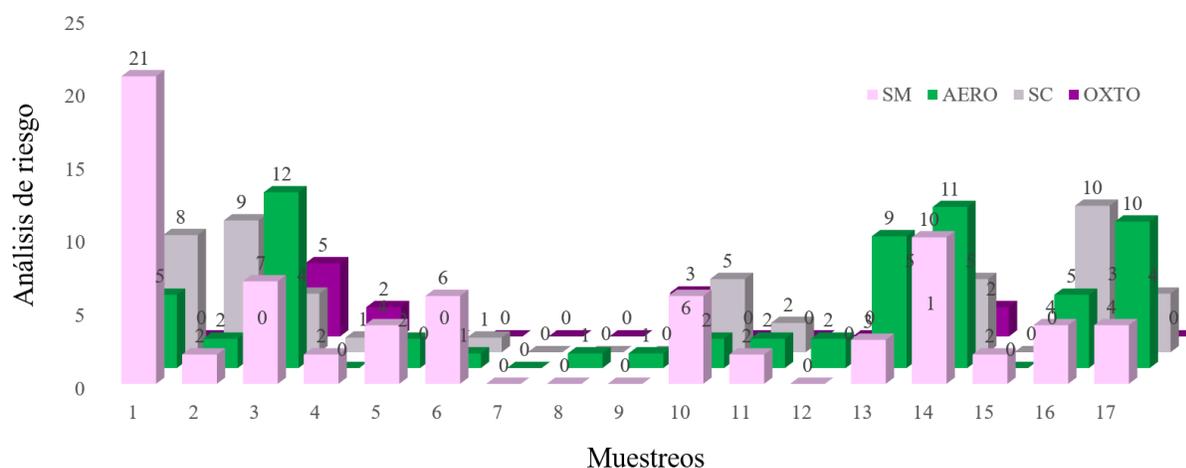


Figura 3.4 Análisis de Riesgo en los cuatro sitios de muestreo, durante los 17 muestreos.

Al hacer la comparación con los datos de una semana antes, durante y después del muestreo de los casos reportados por Infecciones respiratorias, Asma, Conjuntivitis y Neumonía (Fig. 3.5), que son algunas de las enfermedades en las que incide *Alternaria* no se observa que sea el incremento en la semana siguiente, pero en el caso de infecciones respiratorias el incremento en los casos reportados coincide con el incremento de *Alternaria* y en el caso de Conjuntivitis se ve este mismo

aumento en los casos reportados pero con un desplazamiento de 1 mes ya que los muestreos se hicieron con una periodicidad de 15 días.

Para el caso de Neumonía y Asma no se refleja tanta relación en cuanto aumenta la concentración de conidios.

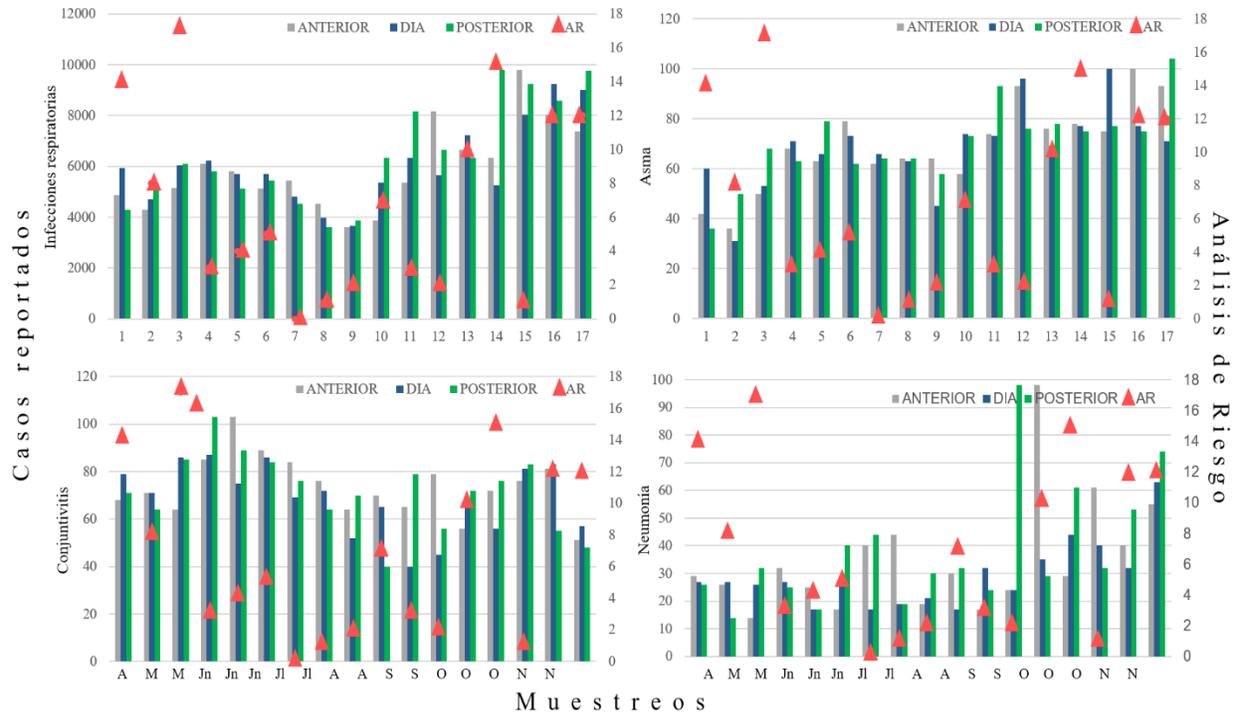


Figura 3.5 Casos reportados de Infecciones Respiratorias, Conjuntivitis, Asma y Neumonía para la región de Toluca.

* La información que se muestra se consultó en el Boletín Epidemiológico del Estado de México.

3.8. DISCUSIÓN

En cuanto a la distribución que mostró *Alternaria* durante el estudio, Grinn-Grofón y Bosiacka (2015), encontraron que las esporas de *Alternaria* muestran dependencia hacia valores bajos en la velocidad del viento, lo cual coincide con este estudio que registra las concentraciones en un intervalo de 10 a 15 m/s, en cuanto a la temperatura Martínez et al., (2016) reportan una correlación positiva significativa entre las concentraciones de *Alternaria* y la temperatura, aunado a esto Sadyś et al., (2016) detectaron que las esporas en el aire de *Alternaria* dependen de la temperatura encontrando la misma relación en los 2 años de su muestreo.

En el mismo año que este estudio Valle et al., (2016) registraron la presencia de *Alternaria* durante todo su periodo de muestreo que abarco de marzo a noviembre de 2014 en Morelos, México, opuesto a esto durante los meses de Julio y principios de Agosto, no se registraron conidios, lo cual puede atribuirse a que son los meses de lluvia y que la lluvia puede ocasionar la deposición de las esporas de hongos, Ansari et al., (2015) detectaron que durante el monzón, decrece la concentración de esporas y su distribución espacial está fuertemente asociada con el progreso del monzón, esto coincide con los datos obtenidos en los muestreos 7,8 y 9 que realizaron en los meses de julio y agosto, los cuales se encuentran en la temporada de lluvias, ya que la concentración de conidios fue nula en el muestreo 7 y baja en el muestreo 8 y 9, mostrándose el mismo patrón en los 4 sitios de monitoreo. La baja concentración en Oxtotitlan de *Alternaria* podría atribuirse a que es un sitio urbanizado, Vélez et al., (2016), registraron una disminución de esporas de *Alternaria* adjudicándolo al crecimiento de la urbanización como consecuencia de la perdida y abandono de los campos.

En cuanto a la cuantificación de UFC/m³, Yamamoto et al., (2012), reportaron mayor cantidad de UFC durante el Otoño, llegando a registrar 54 células/m³, por otra parte Fernández et al., (2015) registraron el pico más alto en junio de 638 conidios/m³; en el presente estudio sobrepasa la concentración de UFC/m³ reportada.

Al tener la ZMVT más del 60 % para uso agrícola y siendo *Alternaria* un hongo fitopatógeno se justifican la altas concentraciones, respecto a esto Skjøth et al., (2012) y Fernández et al., (2015) atribuyen a los campos de cultivos la principal fuente de conidios de *Alternaria*; Corden et al., (2003) determinaron que los meses de Julio, Agosto y Septiembre son los principales meses en la liberación de esporas, estos meses coinciden con la época de cosecha, esto también fue demostrado

por Friesen et al., (2001). De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) en Toluca los meses que abarca la siembra y cosecha de maíz (Anexo 3.1) que es el producto que más se produce seguido de la papa son Abril, Mayo, Junio, Octubre, Noviembre y Diciembre, estos coinciden con la variación en la concentración de conidios de *Alternaria* (Fig. 3.4), aunado a esto de acuerdo con Hameed et al., (2010), la manipulación y almacenamiento del grano provee condiciones favorables de temperatura y contenido de agua para la germinación y crecimiento de microorganismos, a esto se le podría atribuir la prevalencia de los conidios ya que en este mismo estudio se encontró a *Alternaria* como uno de los hongos dominantes en granos recién cosechados.

La pigmentación con la cuenta *Alternaria*, contribuye a tu tolerancia a la radiación, propiciando su prevalencia en la atmósfera (Hameed et al., 2009), aunado a esto, Das y Gupta (2012) registraron concentración más alta de esporas a las 12 hrs, teniendo en cuenta que las muestras obtenidas de la sedimentación por gravedad se obtuvieron en un horario entre las 10:30 am y 14:00 pm, podría considerarse como otro factor que influyó en la elevada concentración de conidios registrada.

Otro factor al que se le puede atribuir el incremento de conidios de *Alternaria* es el aumento en la concentración de CO₂ en la atmósfera, Wolf et al., (2010) demostraron que los cambios de Carbono: Nitrogeno (C:N) son asociados con el incremento en la producción de conidios de *A. alternata*. Por otro lado Ščevková et al., (2016) registraron un incremento en la duración antes, durante y después de la esporulación de *Alternaria* con +5 días/año⁻¹. Siendo la ZMVT una de las ciudades con mayor concentración de partículas de PM₁₀ y tomando en cuenta que la concentración de conidios varía conforme aumenta o decrece la concentración de PM, específicamente PM_{2.5} Y PM₁₀ (Raisi et al., 2013), este podría ser otro factor al que se le atribuya la alta concentración de conidios, de igual forma, Grinn-Grofrón et al., (2016) encontraron que las altas concentraciones de esporas ocurren cuando la velocidad del viento incrementa de 0.5 a 1.0 ms⁻¹, y dado que la velocidad promedio fue de 12 m/s durante el muestreo, la velocidad del viento podría ser un factor más por el que se hayan registrado altas concentraciones de conidios, aunado a esto se sugiere que la forma que tiene el conidio de *Alternaria* podría influir en las propiedades aerodinámicas, ya que el tener esta forma aumenta la fricción en la espora, reduciendo así la velocidad de dispersión (Webster y Weber, 2007), aunado a esto se ha determinado una velocidad de caída de 0.4 y 4 cm/s (McCartney et al., 1993), estas características le permiten una mayor eficiencia en la permanencia en el aire y en la dispersión.

Cabe mencionar que el principal alérgeno de *Alternaria* que es Alt a 1 se ha determinado como perteneciente a la familia Pleosporaceae (Hong et al., 2005 y Sáenz de Santamaría et al., 2006), y siendo los géneros *Ulocladium*, *Stemphylium* y *Curvularia* miembros de esta familia esto podría incrementar el riesgo al que está expuesta la población de la ZMVT.

No es posible establecer un grado de riesgo ya sea superior, medio o menor ya que en la Normatividad Mexicana no se ha establecido el límite permisible de conidios fúngicos que se considere nocivo para la salud.

Teniendo el sustento que las enfermedades alérgicas han ido en aumento es primordial para la salud de la población la vigilancia e investigación epidemiológica con la finalidad de conocer los riesgos a los que está expuesta la población a fin de plantear medidas preventivas, sin embargo el monitoreo implica un gasto como en el equipamiento de las estaciones, además de su respectivo mantenimiento, incluyendo las horas hombre por las personas que se encargaran de esto y las que realizaran la identificación y cuantificación de esporas, costo que se pensaría sería menor que el usado al tratar las enfermedades propiciadas por *A. alternata*.

De acuerdo con el análisis de riesgo realizado, el sitio que presenta mayor riesgo es San Mateo Atenco que registró mayor UFC/m³, le sigue Aeropuerto, Oxtotitlán ocupa el tercer lugar y Oxtotitlán es el sitio que presenta menor riesgo

Para que se realice una evaluación de riesgo en su totalidad se necesita de la búsqueda de más factores como: potencia del agente, gravedad para la salud, interacción con otros agentes, duración, tiempo, frecuencia, patrones, rutas de la exposición, características a nivel genético, individual y poblacional del hospedero, mecanismos de transporte y factores que afectan la persistencia, sin embargo el análisis hecho es una gran contribución para tener una referencia del riesgo a la salud al que está expuesta la población en la ZMVT, en la que el grupo de edad de 0 – 14 años es la más susceptible puesto que la sensibilización hacia los aeroalérgenos, es mayor durante la infancia, siendo más persistente en los primeros dos años de vida (LeMars et al., 2006).

3.9. CONCLUSIONES

La alta concentración de conidios de *Alternaria* puede atribuirse a la gran proporción del territorio para uso agrícola, lo cual coincide con la manipulación del suelo y vegetación para siembra y cultivo de maíz y papa (productos que son de mayor producción en la zona), esto ya que de acuerdo con la literatura, la principal fuente de emisión de conidios son los cultivos.

De las enfermedades que tienen como agente causal a *Alternaria* y que se registran en el boletín epidemiológico del estado de México, las infecciones respiratorias muestran una relación ya que en cuanto aumenta la concentración de conidios incrementan los casos reportados por estos padecimientos, la conjuntivitis muestra morbilidad desplazada de 1 mes aproximadamente, en cuanto a Neumonía y Asma no registran relación.

En cuanto al Análisis de Riesgo, los sitios que registran valores con mayor riesgo son San Mateo y Aeropuerto, Oxtotitlán representa el riesgo más bajo de los 4 sitios.

El Análisis de Riesgo se propone como una alternativa en la delimitación de la concentración de conidios para mermar la incidencia y prevalencia de enfermedades respiratorias, esto a causa de la falta de normatividad sobre los límites permisibles de conidios fúngicos presentes en el aire, primordialmente en interiores.

3.10. LITERATURA CITADA

- Aire Limpio: Programa para el Valle de Toluca 2007-2011. Gobierno del Estado de México Secretaría del Medio Ambiente. Tlalnepantla, Estado de México.
- Ansari, T., Valsan A., Ojha N., Ravikrishna R., Narasimhan B. y Gunthe S. 2015. Model simulations of fungal spore distribution over the indian region. *Atmospheric Environment*, 122: 552-560.
- Awad, A. y Mawla H. (2012). Sedimentación with the Omeliansky Formula as an Accepted Techinique for Quantifying Airborne fungi. *Polish Journal of Environmental Studies*, 21(6): 1539-1541.
- Bases de Diagnóstico: Población vulnerable del Estado de México 2010, Gobierno del Estado de México, Secretaria del Medio Ambiente. Recuperado el 06 de Junio de 2016 de <http://www.edomexico.gob.mx>
- Batra, J., Belmonte J., Torres J. y Cistero A. (2009). Sensitization to *Alternaria* in patients with respiratory allergy. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 1(14): 3372-3379.
- Bousquet, J., Bousquet P., Godard P., Daures J. (2005). The public health implications of asthma. *Bulletin of the World Health Organization*, 83(7): 548-554.
- Chang, M., Shao B., Liu Y., Li L., Pei L., Wang B. (2013). Analysis of Allergens in 5 437 Patients with Allergic Diseases in Harbin, China. *Biomedical and Environmental Sciences*, 26(11): 886-893.
- Chew, G., Wilson J., Rabito F., Grimsley F., Iqbal S., Reponen T., Muilenberg M., Thorne P., Dearborn D. y Mortey R. (2006). Mold and endotoxin levels in the Aftermath of hurricane Katrina: A pilot project of homes in New Orleans undergoing renovation. *Environmental Health Perspectives*, 114(12): 1883-1889.
- Chowdary, S., Prasanna L., Sangram V., Rani S. y Kumar V. (2011). Role of Fungi (molds) in allergic airway disease – An Analysis in a South Indian Otolaryngology center. *Indian Journal of Allergy Asthma and Immunology*, 25(2): 67-78.
- Consejo Estatal de Población (COESPO), Gobierno del Estado de México. Recuperado el 06 de Junio de 2016 de http://coespo.edomex.gob.mx/zonas_metropolitanas.
- Consejo Estatal de Población (COESPO) (2015). Cuaderno Estadístico. Toluca, Gobierno del Estado de México.
- Corden, J. y Millington W. (2001). The long-term trends and seasonal variation of the aeroallergen *Alternaria* in Derby, UK. *Aerobiología*, 17: 127-36.
- Corden, J., Millington W. y Mullins J. (2003). Long-term and regional variation in the aeroallergen *Alternaria* in Cardiff and Derby UK – are differences in climate and cereal production having an effect?. *Aerobiologia*, 19: 191-199.
- Das, S. y Gupta S. (2012). Monitoring and assessment of airborne fungi in Kokata, India, by viable and non-viable air sampling methods. *Environmental Monitoring and Assesment*, 184: 4671-4684.

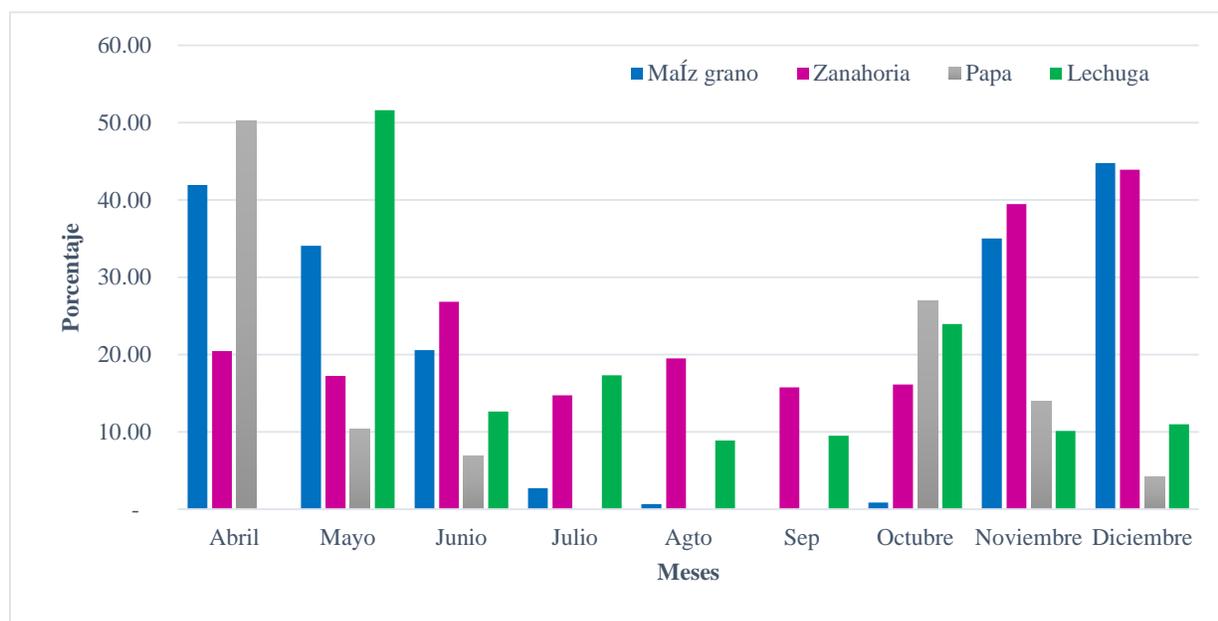
- Denning, D., Pashley C., Hartl D., Wardlaw A., Godet C., Del Giacco S., Delhaes L. y Sergejeva S. (2014). Fungal allergy in asthma-state of the art and research needs. *Clinical and Translational Allergy*, 4(14): 1-23.
- Friesen, T., De Wolf E. y Francl L. (2001). Source strength of wheat pathogens during combine harvest. *Aerobiologia*, 17: 293-299.
- Green, B., Schmechel D. y Tovey E. (2005). Detection of Aerosolized *Alternaria alternata* Conidia, Hyphae, and Fragments by Using a Novel Double-Immunostaining Technique. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12(9): 1114-1116.
- Green, B., Tovey E.,† Sercombe J.,† Blachere F., Beezhold D. y Schmechel D. (2006). Airborne fungal fragments and allergenicity. *Medical Mycology*, 22: 5245-5255.
- Grinn-Gofroń, A. y Bosiacka B. (2015). Effects of meteorological factor on the composition on selected fungal spores in the air. *Aerobiologia*, 31: 63-72.
- Grinn-Grofroń, A., Strzelczak A., Stępańska D., Myszkowska D. (2016). A 10-year study of *Alternaria* and *Cladosporium* in two Polish cities (Szczecin and Cracow) and relationship with the meteorological parameters. *Aerobiologia*, 32: 83-94.
- Hameed, A., Khoder M., Yousra S., Osman A. y Ghanem S. (2009). Diurnal distribution of airborne bacteria and fungi in the atmosphere of Helwan área, Egypt. *Science of the Total Environment*, 407: 6217-6222.
- Hameed, A., Elmorsy T., Tarwater P., Green C., Gibbs S. (2010). Air biocontamination in a variety of agricultural industry environments in Egypt: a pilot study. *Aerobiologia*, 26: 223-232.
- Hernández, P.G., García M.L., Garibay M.G., Orozco M.G. y García J. (2009). Factores sociales que influyen en la percepción del riesgo por la contaminación del aire en la Zona de Miravalle. En Garibay, M.G., Curiel A., Orozco M.G., Garcia J., Hernández G., Pinal G. y García M.L., (Eds). *Aire y Salud* (pp. 81-105). Jalisco, México: Universidad de Guadalajara.
- Hong, S., Cramer R., Lawrence C. y Pryor B. (2005). Alt a 1 allergen homologs from *Alternaria* and related taxa: analysis of phylogenetic content and secondary structure. *Fungal Genetics and Biology*, 42: 119-129.
- Lacey, M. y J. West. The Aerobiology pathway. En su, *The Air Spora* (pp.15-34). Dordrecht, Países Bajos: Springer.
- LeMasters, G., Wilson K., Levin L., Biagini J., Ryan P., Lockey J., Stanforth S., Maier S., Yang J., Burkle J., Villareal M., Khurana G. y Berstein D. (2006). High prevalence of aeroallergen sensitization among infants of atopic parents. *The Journal of pediatrics*, 149(4): 505-511.
- McCartney H., Schmechel D. y Lacey M. (1993). Aerodynamic diameter of conidia of *Alternaria* species. *Plant Pathology*, 42: 280-286.
- Maheshwari, R. (2012). Spores: their dormancy, germination and uses. En su: *Fungi Experimental Methods in Biology* (pp. 46-66). Florida, United States of América: CRC Press.
- Martínez, X., Tejera L. y Beri. A. (2016). First volumetric record of fungal spores in the atmosphere of Montevideo City, Uruguay: a 2-year survey. *Aerobiologia*, 32: 317-333.

- Moral, L., Roig M., Garde J., Alós A., Toral T. y Fuentes M. (2008). Allergen sensitization in children with asthma and rinitis: marked variations related to age and microgeographical factors. *Allergol et Immunopathos*, 36(3): 123-133.
- Norma Oficial Mexicana NOM-048-SSA1-1993, Que establece el método normalizado para la evaluación de riesgos a la salud como consecuencia de agentes ambientales. Recuperado el 15 de Junio de 2016 de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/048ssa13.html>
- Park, B., Chiller T., Brandt M. y Warnock D. (2011). Epidemiology of Systemic Fungal diseases: an Overview. *Essentials of Clinical Mycology*, 13: 27-37.
- Patriarca, A., Vaamonde G. y Pinto V. (2014). Encyclopedia of Food, Vol. 1. Elsevier. pp 42-49.
- Peña, C., Carter D. y Ayala F. (2001). Toxicología ambiental: Evaluación de riesgos y restauración ambiental. Facultad de farmacia, Universidad de Arizona. Estados Unidos de America.
- Plaza, V., Serrano J., Picado C., Cosano J., Ancochea J., De Diego A., Martín J. y Sanchís J. (2003). Características clínicas de las crisis de asma de riesgo vital en los pacientes sensibilizados a *Alternaria alternata*. *Medicina Clínica*, 121(19): 721-724.
- Prevention of allergy and allergic asthma. Organización Mundial de la Salud. Recuperado el 15 de Junio de 2016 de <http://www.who.int/topics/asthma/en/>
- Pulimood, T., Corden J., Bryden C., Sharpes L., Nasser S. (2007). Epidemic asthma and the role of the fungal mold *Alternaria alternata*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 120(3): 610-617.
- Raisi, L., Aleksandropoulou V., Lazaridis M. y Katsivela E. (2013). Size distribution of viable, cultivable, airborne microbes and their relationship to particule matter concentrations and meteorological conditions in a Mediterranean site. *Aerobiología*, 29: 233-248.
- Ricci, S., Bruni M., Meriggi A. y Corsico R. (1995). Aerobiological monitorin of *Alternaria* fungal spores: a comparasion between surveys in 1992 and 1993 and local meteorological conditions. *Aerobiologia*, 11: 195-199.
- Rodríguez-Rajo, J., Iglesias I. y Jato V. (2005). Variatioin assesment of airborne *Alternaria* and *Cladosporium* spores at different bioclimtical conditions. *Mycologica Research*, 109(4): 497-507.
- Sadyś, M., Kennedy R. y West J. (2016). Potential impact of climate change on fungal distributions: analysis of 2 years of contrasting weather in the UK. *Aerobiología*, 32: 127-137.
- Sáenz de Santamaría, I., Gutiérrez A., Cardona G. y Guisantes J. (2006). The major allergen of *Alternaria alternata* (Alt a 1) is expressed in the members of the Pleosporaceae family. *Mycoses*, 49: 91-95.
- Samson, R. A., Hoekstra S. E. y Van Oorschot C. (1984). *Introduction to food-borne fungi*. Baarn, Netherland: Institute of the Royal Netherland, Academy of Arts and Sciences.
- Sanchez, H. y Bush R.K. (2001). A review of *Alternaria alternata* Sensitivity. *Revista Iberoamericana de Micología*, 18: 56-59.
- Ščevková, J., Dušička J., Mičieta K., Somorčík J. (2016). The effects of recent changes in air temperature on trends in airborne *Alternaria*, *Epicoccum* and *Stemphylium* spore seasons in Bratislava (Slovakia). *Aerobiología*, 52: 69-81.

- Skjøth C., Sommer J., Frederickse L. y Karlson U. (2012). Crop harvest in Denmark and Central Europe contributes to the local load of airborne *Alternaria* spore concentrations in Copenhagen. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 12: 11107-11123.
- Servicio de Alimentación Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Recuperado de <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>.
- Sorenson, W. (1999). Fungal Spores: Hazardous to Health?. *Environmental Health Perspectives*, 107(3): 469-472.
- Valle, G., Velázquez M., Corona M., Amora E. y Hernández A. (2016). First aeromycological study in an avocado agroecosystem in México. *Aerobiología*, 1-11.
- Vélez. A., De Linares C., Delgado R. y Belmonte J. (2016). Temporal trends of the airborne fungal spores in Catalonia (NE Spain), 1995-2013. *Aerobiologia* 32: 23-37.
- Webster, J. y Weber R. (2007). *Introduction to Fungi*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press.
- Weigl, F., Radl V., Munch J. y Pritsch K. (2015). Targeting allergic fungi in agricultural environments aids the identification of major sources and potential risks for human health. *Science of the Total Environment*, 529: 223-230.
- Wolf J., O'Neil N., Rogers C., Muilenberg M. y Ziska L. (2010). Elevated atmospheric Carbon dioxide concentrations amplify *Alternaria alternata* sporulation and total antigen production. *Environmental Health Perspectives*, 118(9): 1223-1228.

ANEXOS

Anexo 3.1 Temporada de siembra y cosecha determinada para la region Toluca de acuerdo al SIAP, para los cultivos de maíz, papa, zanahoria y lechuga.



Información obtenida del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, disponible en <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>

CAPITULO IV

**Transferencia de conocimiento sobre la presencia de conidios fúngicos
presentes en el aire**

4.1. RESUMEN

La incidencia y prevalencia de enfermedades tanto alérgicas, conjuntivitis y enfermedades respiratorias atribuidas a la presencia de conidios presentes en el aire, que han ido en aumento comprometiendo en algunos sitios hasta el 30% de la población, teniendo en mayor proporción la población infantil, obliga a plantear estrategias que disminuyan estos padecimientos además de evitar el incremento desproporcionado del costo humano, social y económico, a razón de esto se elaboró una herramienta para transmitir parte de la información que se ha recopilado y obtenido en este trabajo de investigación, la cual coadyuve a disminuir estas enfermedades. Para esto se elaboró un audiovisual con el apoyo de personas especializadas en comunicación, realizando desde una búsqueda bibliográfica para tener un sustento teórico de la información que se incluyó en el audiovisual y que se adaptó para el entendimiento de la población en general, además se elaboraron guiones para la grabación de las locaciones y entrevistas que se incluyeron, una vez realizado esto se procedió a la edición del audiovisual utilizando programas para este fin; la difusión del audiovisual se pretendió desde un principio que se hiciera en la página de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico del Valle de Toluca (RAMAT) esto con la finalidad de inducir en la población y autoridades correspondientes la idea de realizar un monitoreo constante de Bioaerosoles y esto lleve a reducir la incidencia y coadyuve en el diagnóstico y tratamiento de estos padecimientos.

Se ha demostrado que el uso de un audiovisual como herramienta en la transferencia de conocimiento, tiene efectos positivos en la recepción del mensaje que se transmite, y el uso del internet para la difusión del audiovisual es una gran ventaja por el amplio espectro de receptores que pudiera llegar a tener.

Palabras clave: audiovisual, transferencia de conocimiento, Bioaerosoles

4.2. ABSTRACT

4.3. INTRODUCCIÓN

El contacto de los hongos que están presentes en el aire con el ser humano se da a través de la inhalación, ingestión y por contacto directo con la epidermis, predominando la inhalación que trae consigo resultados adversos para la salud (Pepper y Gerba 2004), dentro de los efectos adversos a la salud que son ocasionados por hongos están: 1) intoxicación; 2) infecciones y 3) sensibilización y alergias (Wiesmueller et al., 2008).

La presencia de hongos alérgenos alrededor del mundo representa un problema de salud pública esto debido a que se ha determinado que son aproximadamente 100 géneros los que inciden en las reacciones alérgicas (Green et al., 2005). Se estima que del 3 al 10 % de la población en general tiene sensibilidad hacia los hongos, esto se atribuye a la ubicuidad de estos (Twaroch et al., 2015), sin embargo es variable la reacción que llegan a ocasionar ya que no todos los géneros tienen el mismo potencial alérgeno y el problema de salud pública se incrementa ya que no todas las proteínas alérgicas son conocidas (Levetin et al., 2016), ocasionando problemas al asignar el tratamiento de estos padecimientos, prolongando por tanto la enfermedad.

El asma y otras enfermedades alérgicas constituyen padecimientos crónicos que condicionan la salud de la persona afectada, restringiendo su calidad de vida, ya que este tipo de enfermedades además de ser costosas y de larga duración en cuanto a los tratamientos empleados (medicamentos e inmunoterapia), repercuten en las necesidades vitales como el sueño y la alimentación ocasionando la pérdida de la capacidad de concentración, mostrando dificultades de aprendizaje en personas escolarizadas y bajo rendimiento en la producción laboral en personas que trabajan. Además de impactar en la dinámica familiar, en edades pediátricas y juveniles acarrear pedidas de días de escolarización (ausentismo escolar) y en edades adultas, perdidas de días de trabajo (ausentismo laboral) (Chivato, 2012).

La presencia de los hongos en el aire es una acción que no se puede controlar, tanto por la gran cantidad en que se encuentran como por el nicho que algunos llegan a ocupar, debido al aumento en la incidencia y presencia de enfermedades alérgicas y los costos económicos y sociales que conllevan, obliga a tomar acciones preventivas que coadyuven a la sociedad a minimizar los efectos de estas.

Dado que la información es fundamental para la vida y al tener una comunicación se experimenta un cambio, es decir pasa un ser a ser otro que no era antes y comunicar es hacer participar de

aquello que se posee (Niqui, 2011) se hace así indispensable la comunicación del conocimiento que se genera, para un mejoramiento en la sociedad.

Aunado a esto, de acuerdo con McQuail (1991), las tecnologías audiovisuales generan nuevas formas de comprender e interactuar con el mundo y en el proceso de enseñanza-aprendizaje es inminente la incorporación de las Tecnologías de la Información y Comunicación (TICs) las cuales son herramientas que tienen gran potencial y facilitan del proceso de aprendizaje (Instituto de Ciencias de la Educación, Universidad Politécnica de Madrid).

De esta forma la transferencia del conocimiento que se genera propicia el mejoramiento de la sociedad y se tiene al audiovisual como un medio que facilita la transferencia de la información que se obtiene en el proceso de enseñanza-aprendizaje.

4.4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.4.1. Necesidad de mantener a la población informada sobre Bioaerosoles fúngicos

La salud es un derecho el cual implica que el Estado tiene el deber de crear las condiciones necesarias para que la población pueda acceder y mantenerla (Blanco 2005).

Dentro de la Ley General de Salud se enmarcan establecimientos como fomentar actitudes y hábitos preventivos, el desarrollo de investigación, la realización de actividades de vigilancia epidemiológica y la emisión de mensajes publicitarios que adviertan peligros de daños a la salud esto respecto a la presencia de contaminantes que pudieran alterar la calidad de vida del ser humano, los establecimientos se muestran en el Anexo 4.1, sin embargo es escasa la información se encuentra y realiza respecto a la presencia de aerosoles fúngicos.

Tomar preventivas ante la exposición a estos hongos presentes en el aire podría evitar costos por la incidencia de enfermedades alérgicas, en el caso de la fiebre del heno; en el Reino Unido se estima que cerca del 25% de la población padece esta condición, en términos de productividad los individuos que reportan este padecimiento operan 2/3 de su productividad normal, teniendo que anualmente perderían 15 días de trabajo lo que significaría un impacto económico a gran escala, el cual se incrementa por los costos del tratamiento médico y para estudiantes en la pérdida de días de escuela; así se estimó que en 2004 Europa gastó aproximadamente € 3.7 billones tanto por el tratamiento médico y pérdidas de días de trabajo y escolares (Atenstaedt, 2014), En Europa Occidental los costos producidos por rinitis alérgica durante 1993 alcanzaron 3.000 millones de euros, de los cuales 1.286 concernió a costos directos y 1.722 a costos indirecto, durante este mismo año en Estados Unidos, se calculó la prevalencia de rinitis alérgica en el 14.2% de la población, estimando costos directos de 3.426 millones de dólares, Si se detectara oportunamente la variación en la concentración de esporas en los diversos sitios y temporadas, las autoridades podrían alertar a la población para que las personas susceptibles evitaran frecuentar estos sitios o que tomen medidas adecuadas para el cuidado de su salud, para finalmente evitar los costos que generan este tipo de enfermedades respiratorias.

El monitoreo implica un gasto como el equipamiento de las estaciones, además de su respectivo mantenimiento, incluyendo las horas hombre por las personas que se encargaran de esto y las que realizaran la identificación y cuantificación de esporas, costo que se pensaría sería menor que el usado al tratar las enfermedades alérgicas, por lo tanto para reducir la incidencia de estos

padecimientos y por tanto reducir los costos que se originan por el tratamiento de estas, se han propuesto alternativas como la remediación ambiental en la que principalmente se reduce la concentración de alérgenos en el interior de los hogares (Townsend y Maureen, 2011), disminuyendo la humedad e incrementado la ventilación, sin embargo los aeroalérgenos no únicamente se encuentran en el interior de los hogares por lo que se debe tomar otro tipo de medida que coadyuven a la población y se merme la incidencia de las enfermedades alérgicas.

El aumento en la incidencia y presencia de enfermedades alérgicas (Chang et al., 2013), además de la prevalencia de las enfermedades ocasionadas por la sensibilización a los alérgenos ha incrementado, comprometiendo hasta un 30 % de los individuos en algunas comunidades y se estima que más de 6.5 millones de personas asmáticas presentan sensibilidad a los hongos (Denning et al., 2014). Tal aumento obliga a tomar medidas que disminuyan esta incidencia y prevalencia de enfermedades tanto por los costos que conllevan estos padecimientos como por las afectaciones en la calidad de vida del ser humano.

4.4.2. Audiovisual como herramienta de información

De acuerdo con García y Velasco (2011) la alfabetización digital es una de las claves de la participación e inclusión social y la consideran como una estrategia necesaria para la participación en las nuevas formas de producción y apropiación cultural.

En el principio de este siglo la tecnología ha tenido un auge en la transformación de las comunicaciones, además la manera de conocer y comunicar el conocimiento se transforma con la presencia de las tecnologías digitales (García y Velasco, 2011).

La integración de tecnologías digitales en los procesos de enseñanza y aprendizaje ayuda a transformar la relación que se establece con el conocimiento, ya que los recursos visuales informan de manera significativamente distinta a como lo hacen los textos escritos (García y Velasco, 2011).

Un factor importante que avala el audiovisual como medio educativo es el hábito que la población ha adquirido al consumo de la televisión a nivel mundial, además la población juvenil ha incorporado juegos de video y los ordenadores como herramienta de trabajo e internet como sistema de comunicación, información y ocio, por esto se puede decir que el espectador de hoy en día está modelado por los medio audiovisuales de masas, en cuanto a sus gustos, hábitos perceptivos, incluso sus procesos mentales (Puigvert, 2004).

Puigvert (2004) menciona dos tipos de video en el terreno de la sanidad, el informativo que es efectivo en una campaña de información a corto plazo con un mensaje breve, claro y conciso; y el video didáctico, cuyo objetivo es concientizar y es útil en campañas a largo plazo, este tipo de video abarca el video lección y video motivador, el primero se caracteriza por proveer información sistemática, lógica y analítica y el segundo motiva al espectador a que se interese por el tema.

Un audiovisual puede servir para en una variedad de funciones como: motivar y atraer la atención, crear entornos comunicativos, favorecer el desarrollo de diferentes inteligencias, favorecer el acceso a gran cantidad de información, propiciar el autoaprendizaje, favorecer el acercamiento a la sociedad tecnológica y reforzar los conocimientos o propiciar el acercamiento a la realidad desde múltiples perspectivas (Cabero, 2004).

Por lo mencionado en el apartado anterior el uso de un audiovisual como herramienta de transferencia de conocimiento es viable, tanto por la retención del mensaje que se llega a tener como la motivación del espectador que pueda llegar a darse.

Por otra parte debido a la diversificación que han tenido las tecnologías digitales de comunicación, los canales de distribución de contenidos audiovisuales como la televisión y cine, se han visto en la necesidad de converger en el macro canal de comunicación que es el internet, adaptándose a sus características para seguir teniendo presencia (Niqui, 2011), en base a esto, la difusión de información por el internet, es de mayor accesibilidad hacia la población.

4.5. OBJETIVOS

4.5.1. General

Informar a la población susceptible la presencia de los conidios fúngicos encontrados en la ZMVT

4.5.2. Particulares

Realizar una búsqueda de información y adaptarla la información que se proporciona para el entendimiento de población en general.

Desarrollar un audiovisual como herramienta que permita la transferencia del conocimiento sobre los hongos microscópicos presentes en el aire.

4.6. MATERIAL Y MÉTODOS

4.6.1. Audiovisual informativo como herramienta para la transferencia de conocimiento

Se elaboró un audiovisual con grabaciones utilizando las cámaras SONY α ILCE-3500 y SONY Cyber-shot, se realizaron 2 guiones, uno para la grabación en el laboratorio de Micología de la UAM-Xochimilco y otro para la grabación en la estación San Cristóbal Huichochitlan perteneciente a la RAMA (Anexo 4.2), se entrevistó a la Dra. Judith Castellanos Moguel, el Dr. Raúl V. Díaz Godoy y al Ing. Rodrigo Castañeda Sandoval, las locaciones de grabación de esas entrevistas fueron el Laboratorio de Micología de la UAM-Xochimilco y la estación San Cristóbal Huichochitlan, Toluca, Estado de México. La voz del audiovisual fue realizada por el M en EA. Arturo Miranda Calixto. La edición del audiovisual se hizo con el programa AVS Video Editor.

La Información que se proporciona en el audiovisual forma parte de la que se recopiló para la elaboración de esta tesis y que se menciona en el transcurso de los capítulos I, II y III (Anexo 4.3), además de algunos contenidos cuya búsqueda fue exclusiva para incluirse en el audiovisual. Cabe mencionar que la información se modificó de tal forma que fuera comprendida para la población en general ya que de acuerdo con Niqui (2011) el contenido que se emite debe ser altamente comprensible (Anexo 4.4).

La grabación se hizo con el apoyo de un Comunicólogo y la edición del audiovisual se realizó con el apoyo de docentes que pertenecen al Centro de Estudios Científicos y Tecnológicos No. 2 “Miguel Bernand” (Tabla 4.1).

Tabla 4.1 Actividad en la que colaboró cada persona en la elaboración del video.

Actividad	Persona encargada
Grabación	Adolfo Alejandro Cruz
Animación y edición	Maria Guadalupe Carrillo Alejo Mónica Arellano Nava Adriana Quintanar Olguín Alicia Rizo Rubalcava

En el XX Simposio de Micología realizado en la UAM-Xochimilco en Noviembre de 2016, se hizo una proyección piloto del audiovisual, al finalizar la proyección se aplicó una encuesta abarcando tres aspectos: 1) duración apropiada; 2) claridad de la información que se proporciona y 3) pertinencia de la información.

Se hizo un Análisis de Fortalezas, Oportunidades y Debilidades (FODA), para hacer una evaluación de la factibilidad del audiovisual como método de transferencia de conocimiento sobre la presencia de hongos microscópicos presentes en el aire.

4.7. RESULTADOS

El audiovisual se hizo con la finalidad de coadyuvar en la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades principalmente alérgicas, al ser difundido el video la intención es que la población y las autoridades conozcan la necesidad de realizar investigación respecto a este tema y que además se dé pie a realizar un monitoreo de contaminantes no solo inorgánicos sino que abarquen a los Bioaerosoles, con las recomendaciones que se mencionan se pretende que la población disminuya así la exposición que suele tener a las esporas y conidios que están presentes en el ambiente tanto exterior como interior.

En una encuesta realizada respecto al contenido del video (los resultados no se muestran), los cuestionamientos que se hicieron fueron si la duración del audiovisual era la adecuada a lo que la mayoría respondió que sí, respecto a si era claro el mensaje que se transmitía, más del 90% opino que es entendible el mensaje, otra de las preguntas fue si creían conveniente la información que se proporcionaba y el 100% contestó afirmativamente. En cuanto a las medidas preventivas que se mencionan en el audiovisual, se les pidió mencionar 2 de estas, evitar permanecer al aire libre por periodos prolongados fue la más mencionada. El sonido de las entrevistas en el audiovisual fue la sugerencia que se retomó de las encuestas, por lo que se optó por incluir subtítulos en la información que requiere mayor énfasis y en las situaciones en que el audio fue deficiente como el caso de las entrevistas.

La figura 4.1 engloba las fortalezas, debilidades, oportunidades y amenazas que representa el audiovisual como medio en la transferencia de información sobre la presencia de conidios fúngicos en el aire.

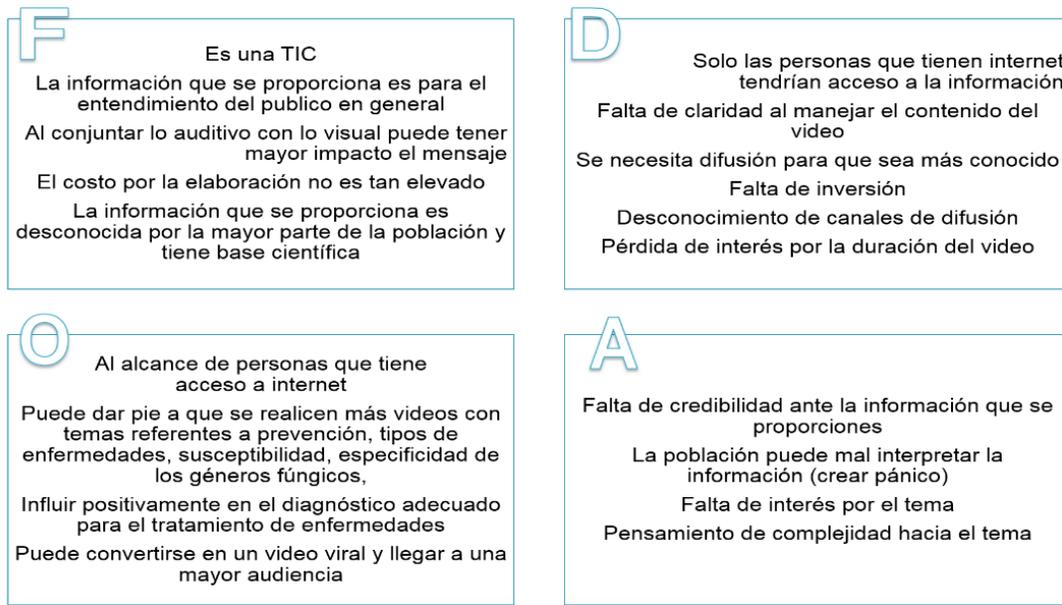


Figura 4.1 Desglose de fortalezas, debilidades, oportunidades y amenazas.

4.8. DISCUSIÓN

De acuerdo con la clasificación que menciona Puigvert, el video es un audiovisual informativo, cuyo mensaje se diseñó de tal forma que fuese lo más breve posible, además se adaptó el contenido para el entendimiento de la población en general y la información que proporciona en concisa (García y Velasco, 2011). La finalidad del contenido que se aborda en el video es que las personas no únicamente tengan conocimiento de las partículas que están respirando, sino que sea una base que sirva a futuro para investigaciones relacionadas con el diagnóstico y tratamiento de enfermedades relacionadas con los hongos aerotransportados.

Es de vital importancia que la población enfatizando en los grupos sensibles estén informados de los riesgos que conlleva la exposición a conidios fúngicos, ya que la percepción del riesgo se considera un elemento clave para la prevención, reducción y protección ante los riesgos, aunado a esto, en un estudio realizado sobre la percepción social hacia el riesgo de contaminación atmosférica, dentro de las encuestas realizadas, 89% de los participantes manifestaron no haber recibido información o capacitación para prevenir, reducir o atender problemas relacionados con la contaminación del aire, el 11% restantes declaró haber recibido información, de esto concluyeron que el contar con información es un factor muy importante sobre la percepción de los riesgos, ya que al tener un mayor control disminuye la percepción de estos como peligrosos (Hernández et al., 2009).

Como se mencionó, los costos que implica la presencia de las enfermedades alérgicas, tanto para la persona que tienen estos padecimientos como para el acompañante son elevados, aunado a esto deteriora la calidad de vida, esto da pie a que se tomen medidas que mermen la incidencia de enfermedades y con ello pudieran llegar a reducirse los costos que implican las enfermedades alérgicas. Dentro de los métodos de valoración económica, se tiene el Método de Costos Evitados, el cual se fundamenta en que se debe mantener un recurso para evitar costos a futuro, por lo que si se detectara oportunamente la variación en la concentración de esporas en los diversos sitios y temporadas, las autoridades podrían alertar a la población para que las personas susceptibles evitaran frecuentar lugares en los que la concentración de conidios es elevada y que además tomen medidas adecuadas para el cuidado de su salud, para finalmente evitar los costos que generan este tipo de enfermedades respiratorias. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS

2002), la prevención reducirá los costos relacionados con el paciente, además programas educativos optimizan el control de alergias y asma.

El uso de un audiovisual como herramienta en la enseñanza, muestra que tiene resultados favorables en la información que se transmite a través de estos. En un experimento que consistió en la transmisión de una serie de programas cuyo objetivo fue la educación responsable de padres a hijos, obtuvieron a partir de cuestionarios que la televisión es un recurso educativo funcional en la educación de padres hacia sus hijos (Guerra 2008). De igual forma para conocer los resultados que tiene la enseñanza a distancia un audiovisual Rodriguez et al., (2014) hicieron un experimento que consistió en la elaboración y transmisión de un audiovisual, los resultados obtenidos de encuestas arrojaron que es una buena herramienta y una forma sencilla de comprender, argumentando además que hay una mayor predisposición a aprender.

Las nuevas tecnologías que se desarrollan modifican la forma en cómo se transmite y difunde la información, el internet como difusión ha deparado nuevos escenarios para la comunicación y difusión audiovisual de las producciones, dando pie a la aparición de nuevas formas de relacionarse con el conocimiento, expresarlo y comunicarlo (García y Velasco, 2011), debido a esto la difusión que se planteó en un principio fue hacerla a través del internet, siendo incluida en la página de la Red de Monitoreo Atmosférico del Valle de Toluca, los avances que se han tenido en esto año y medio en la gestión para incluir el audiovisual en dicha página que se ha concedido la entrevista con las respectivas autoridades en las que se mostrara el video para ser acepto y difundirlo en la página de la RAMAT.

De acuerdo con el análisis FODA de las debilidades, amenazas, fortalezas y oportunidades que tiene el video como herramienta en la transmisión de conocimiento respecto a la presencia de esporas y conidios en el aire; las fortalezas que tiene es que es dinámico y el contenido que se abarca es conciso; como oportunidades al ser presentado en la página de la RAMAT el audiovisual podría ser visto por la población como una fuente creíble y al utilizar como medio de difusión el internet este podría ser de mayor acceso para la población, las debilidades respecto a esto es que por la gran cantidad de información que circula en internet podría tomarse como falsa la información que se está proporcionando, una gran amenaza es que el audiovisual esté disponible por poco tiempo, además la falta de interés por parte de la población impediría que se cumpliría con el objetivo de dar pie a un monitoreo en el que se incluyan los Bioaerosoles y tampoco

incrementaría la investigación respecto a la aerobiología. En cuanto los datos recopilados en los cuestionarios, aspectos como la duración y claridad de la información que se percibían como amenazas las respuestas arrojaron que es apropiada la información y duración del audiovisual, por lo que se descartan estos aspectos.

El audiovisual como herramienta en la transferencia de conocimiento, es efectiva por la forma en que se transmite el mensaje, tanto la claridad de la información como el dinamismo del audiovisual, sin embargo la gran dificultad que puede llegar a tener es que no sea difundido y esto haría que no cumpliría con su cometido, por lo que es vital que se haga una difusión de este.

4.9. CONCLUSIONES

La elaboración del audiovisual como herramienta fue principalmente por la recepción del mensaje que se transmite ya que de acuerdo a la literatura la recepción del conocimiento a través de un audiovisual, se argumenta que es fácil de comprender y que además tiene distintas funciones como favorecer el acceso a gran cantidad de información y reforzar los conocimientos.

La adaptación que se le hizo al contenido del audiovisual favoreció en el entendimiento del mensaje del público en general.

La gran oportunidad que tiene el audiovisual es que llegue no sólo a la población de la zona de estudio, sino a otros sitios en México, esto si se hace una difusión adecuada.

El contenido del audiovisual tiene la intención de que surja en las autoridades competentes y centros de investigación la necesidad de realizar un monitoreo constante de contaminantes biológicos aerotransportados, principalmente hongos, esto para prevenir la incidencia y prevalencia de enfermedades respiratorias que repercute en la calidad de vida de las personas que las padecen tanto económicamente como socialmente.

4.10. LITERATURA CITADA

- Bousquet, J., Bousquet P., Godard P., Daures J. (2005). The public health implications of asthma. *Bulletin of the World Health Organization*, 83(7): 548-554.
- Cabero, J. (2004). No todo es internet: Los medios audiovisuales e informáticos como recursos didácticos. *Comunicación y Pedagogía*, 1-8.
- Chang, M., Shao B., Liu Y., Li L., Pei L., Wang B. (2013). Analysis of Allergens in 5 437 Patients with Allergic Diseases in Harbin, China. *Biomedical and Environmental Sciences*, 26(11): 886-893.
- Chivato T. (2012). ¿Qué es la Alérgia? ¿Qué estudia la Alergología?. En Zubeldia J. M. y Baeza M. A. (Eds.), Libro de las Enfermedades Alérgicas de la fundación BBVA (pp. 21-29). España: Editorial Nerea S.A.
- De la Rosa, M. C., Mosso M. A. y Ullán C. (2002). El aire: habitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio medioambiental* 5, 375-402.
- Denning, D., Pashley C., Hartl D., Wardlaw A., Godet C., Del Giacco S., Delhaes L. y Sergejeva S. (2014). Fungal allergy in asthma-state of the art and research needs. *Clinical and Translational Allergy*, 4(14): 1-23.
- García, A., y H. Velasco, (2011). *Antropología audiovisual: medios e investigación en educación*. Madrid, España: Editorial Trotta.
- Gauthier, G. y Keller N. (2013). Crossover fungal phogens: The biology and pathogenesis of fungi capable of crossing kingdoms to infect plants and humans. *Fungal Genetics and Biology*, 51, 146-157.
- Green, B. J., Sercombe J. K. y Tovey E. R. (2005). Fungal fragments and undocumented conidia function as new aeroallergen sources. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 115(5), 1043-1048.
- Guerra, S. (2008). La TV: una herramienta educativa en el contexto de la familia. *Revista Científica de Educomunicación*, 31(16): 251-255.
- Instituto de Ciencias de la Educación de la Universidad Politécnica de Madrid. Bravo Olmos J.L. s.f. ¿Qué es el video educativo. Recuperado el 13 de Julio de 2015 de <http://www.ice.upm.es/wps/jlbr/Documentacion/QueEsVid.pdf>
- Kendrick, B. (2000). Spore dispersal in fungi-Airborne spores and allergy. En su: *The Fifth Kingdom* (126-142). Estados Unidos de América: Focus Publishing.
- Lacey, M. y West J. (2006). Introduction to Aerobiology y The Aerobiology pathway. En su, *The Air Spora* (pp. 1-14 y 15-34). Dordrecht, Países Bajos: Springer.
- Levetin, E., Horner E. y Scott J. 2016. Taxonomy of Allergenic fungi. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 4(3): 375 – 385.
- McQuail, D., (1991), *Introducción a la teoría de la comunicación de masas*, Barcelona España: Editorial Paldós Comunicación.
- Niqui, C., (2011), *La comunicación es vida*. Bcelona, España: Editorial UOC.

- Pepper, I. L. y Gerba C. P. (2004). *Environmental Microbiology: A laboratory manual*. San Diego, California, United States of America: Elsevier Academic Press.
- Puigvert, M. J. (2004). Educación para la salud y medios audiovisuales. En Márques F., S. Sáez y R. Guayta. (Eds.), *Métodos y medios en promoción y educación para la salud* (pp. 229-238). Barcelona, España: Editorial UOC.
- Rodriguez, A., Tasende B., González A., Muelas A., De Juanas A. (2014). Contenido audiovisual y enseñanza universitaria a distancia: una propuesta metodológica. *Historia y Comunicación Social*, 19: 235-251.
- Stetzenabach, L.D. (2016). Introduction to Aerobiology. En Yates, M., Nakatsu C., Miller, R. y Pillai, S. (Eds). *Manual of Environmental microbiology* (pp. 925-938). Washington, Estados Unidos de América: ASM Press.
- Townsend, K. J. y Maureen G. (2011). What Is the Evidence That Environmental Remediation Programs Are Effective in Urban Children With Allergic Asthma? An Integrated Review. *Journal of Asthma & Allergy Educators*, 2(6): 295-305.
- Twaroch, T., Curin M., Valenta R. y Swoboda I. (2015). Mold Allergens in Respiratory Allergy: From Structure to Therapy. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 7(3): 205-220.
- Verhoeff, A. y Burge H.† (1997). Health risk assessment of fungi in home environments. *Annals of allergy, asthma & Immunology*, 78: 544-456.
- Webster, J. y Weber R. (2007). *Introduction to Fungi*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press.
- Wiesmueller, G., Dott W.† y Fischer G.† (2008). Health risk assessment of indoor mold exposure. *Epidemiology*, 19(6): 173.

Anexos

Anexo 4.1 Ley General de Salud, artículos y sus fracciones relacionadas con el mejoramiento en la calidad de vida, generación de conocimiento y difusión de información relacionada a la incidencia y prevalencia de enfermedades.

Ley General de Salud

Artículo	Fracción
2º. El derecho a la protección de la salud,	II. La prolongación y el mejoramiento de la calidad de vida VII. El desarrollo de la enseñanza y la investigación científica y tecnológica para la salud.
3o. En materia de salubridad general	XI. La coordinación de la investigación para la salud y el control de ésta en los seres humanos. XV. La prevención y el control de los efectos nocivos de los factores ambientales en la salud del hombre.
7o. La coordinación del Sistema Nacional de Salud estará a cargo de la Secretaría de Salud, correspondiéndole a esta:	VIII. Impulsa las actividades científicas y tecnológicas en el campo de la salud. X. Promover el establecimiento de un sistema nacional de información básica en materia de salud.
27o. Para los efectos del derecho a la protección de la salud, se consideran servicios básico de salud los referentes a:	I La educación para la salud, la promoción del saneamiento básico y el mejoramiento de las condiciones sanitarias del ambiente.
58o. La comunidad podrá participar en los servicios de salud de los sectores público, social y privado a través de las siguientes acciones:	I Promoción de hábitos de conducta que contribuyan a proteger la salud o a solucionar problemas de salud, e intervención en programas de promoción y mejoramiento de la salud y de prevención de enfermedades y accidentes; II. Colaboración en la prevención o tratamiento de problemas ambientales vinculados a la salud.
TITUTLO QUINTO: Investigación para la salud	
96o. La investigación para la salud comprende el desarrollo de acciones que contribuyan:	III. A la prevención y control de los problemas de salud que se consideren prioritarios para la población; IV. Al conocimiento y control de los efectos nocivos del ambiente en la salud;
TITULO SEPTIMO	
Promoción de la Salud	
Capítulo I Disposiciones comunes	
ARTÍCULO 110. La promoción de la salud tiene por objeto crear, conservar y mejorar las condiciones deseables de salud para toda la población y propiciar en el individuo las actitudes, valores y conductas adecuadas para motivar su participación en beneficio de la salud individual y colectiva.	
ARTÍCULO 111. La promoción de la salud comprende:	III. Control de los efectos nocivos del ambiente en la salud; IV. Salud ocupacional, y V. Fomento sanitario
CAPITULO II	
Educación para la Salud	
ARTÍCULO 112. La educación para la salud tiene por objeto:	I. Fomentar en la población el desarrollo de actitudes y conductas que le permitan participar en la prevención de enfermedades individuales, colectivas y accidentes, y protegerse de los riesgos que pongan en peligro su salud;

II. Proporcionar a la población los conocimientos sobre las causas de las enfermedades y de los daños provocados por los efectos nocivos del ambiente en la salud,

CAPITULO IV

Efectos del Ambiente en la Salud

ARTÍCULO 116. Las autoridades sanitarias establecerán las normas, tomarán las medidas y realizarán las actividades a que se refiere esta Ley, tendientes a la protección de la salud humana ante los riesgos y daños dependientes de las condiciones del ambiente.

ARTÍCULO 117. La formulación y conducción de la política de saneamiento ambiental corresponde a la Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología, en coordinación con la Secretaría de Salud, en lo referente a la salud humana

ARTÍCULO 118. Corresponde a la Secretaría de Salud:

I. Determinar los valores de concentración máxima permisible para el ser humano de contaminantes en el ambiente;

IV. Promover y apoyar el saneamiento básico;

ARTÍCULO 119. Corresponde a la Secretaría de Salud y a los gobiernos de las entidades federativas, en sus respectivos ámbitos de competencia:

I. Desarrollar investigación permanente y sistemática de los riesgos y daños que para la salud de la población origine la contaminación del ambiente;

ARTÍCULO 128. El trabajo o las actividades sean comerciales, industriales, profesionales o de otra índole, se ajustarán, por lo que a la protección de la salud se refiere, a las normas que al efecto dicten las autoridades sanitarias, de conformidad con esta Ley y demás disposiciones legales sobre salud ocupacional.

ARTÍCULO 129. Para los efectos del artículo anterior, la Secretaría de Salud tendrá a su cargo:

II. Determinar los límites máximos permisibles de exposición de un trabajador a contaminantes, y coordinar y realizar estudios de toxicología al respecto; y

III. Ejercer junto con los gobiernos de las entidades federativas, el control sanitario sobre los establecimientos en los que se desarrollen actividades ocupacionales, para el cumplimiento de los requisitos que en cada caso deban reunir, de conformidad con lo que establezcan los reglamentos respectivos.

ARTÍCULO 130. La Secretaría de Salud, en coordinación con las autoridades laborales y las instituciones públicas de seguridad social, y los gobiernos de las entidades federativas, en sus respectivos ámbitos de competencia, promoverán, desarrollarán y difundirán investigación multidisciplinaria que permita prevenir y controlar las enfermedades y accidentes ocupacionales, y estudios para adecuar los instrumentos y equipos de trabajo a las características del hombre.

ARTÍCULO 131. La Secretaría de Salud llevará a cabo programas tendientes a prevenir accidentes y enfermedades de trabajo. Tratándose del trabajo sujeto al régimen del apartado "A" del Artículo 123 Constitucional lo hará en forma coordinada con la Secretaría del Trabajo y Previsión Social.

TITULO OCTAVO

Prevención y Control de Enfermedades y Accidentes

CAPITULO I

Disposiciones Comunes

ARTÍCULO 133. En materia de prevención y control de enfermedades y accidentes, y sin perjuicio de lo que dispongan las Leyes laborales y de seguridad social en materia de riesgos de trabajo, corresponde a la Secretaría de Salud:

I. Dictar las Normas Oficiales Mexicanas para la prevención y el control de enfermedades y accidentes;

II. Establecer y operar el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, de conformidad con esta Ley y las disposiciones que al efecto se expidan;

III. Realizar los programas y actividades que estime necesario para la prevención y control de enfermedades y accidentes,

ARTÍCULO 134. La Secretaría de Salud y los gobiernos de las entidades federativas, en sus respectivos ámbitos de competencia, realizarán actividades de vigilancia epidemiológica, de prevención y control de las siguientes enfermedades transmisibles:

- II. Influenza epidémica, otras infecciones agudas del aparato respiratorio, infecciones meningocócicas y enfermedades causadas por estreptococos;
- X. Micosis profundas;
- XII. Toxoplasmosis;

ARTÍCULO 139. Las medidas que se requieran para la prevención y el control de las enfermedades que enumera el artículo 134 de esta Ley, deberán ser observadas por los particulares. El ejercicio de esta acción comprenderá una o más de las siguientes medidas, según el caso de que se trate:

- V. La descontaminación microbiana o parasitaria, desinfección y desinsectación de zonas, habitaciones, ropas, utensilios y otros objetos expuestos a la contaminación;

TITULO DECIMOTERCERO

Publicidad

CAPITULO UNICO

ARTÍCULO 300. Con el fin de proteger la salud pública, es competencia de la Secretaría de Salud la autorización de la publicidad que se refiera a la salud, al tratamiento de las enfermedades, a la rehabilitación de los inválidos, al ejercicio de las disciplinas para la salud y a los productos y servicios a que se refiere esta Ley. Esta facultad se ejercerá sin perjuicio de las atribuciones que en esta materia confieran las Leyes a las Secretarías de Gobernación, Educación Pública, Comercio y Fomento Industrial, Comunicaciones y Transportes, y otras dependencias del Ejecutivo Federal.

ARTÍCULO 306. La publicidad a que se refiere esta Ley se sujetará a los siguientes requisitos:

- II. El mensaje deberá tener contenido orientador y educativo;
- IV. El mensaje no deberá inducir a conductas, prácticas o hábitos nocivos para la salud física o mental que impliquen riesgo o atenten contra la seguridad o integridad física o dignidad de las personas, en particular de la mujer;
- V. El mensaje no deberá desvirtuar ni contravenir los principios, disposiciones y ordenamientos que en materia de prevención, tratamiento de enfermedades o rehabilitación, establezca la Secretaría de Salud,

TITULO DECIMOCTAVO

Medidas de Seguridad, Sanciones y Delitos

CAPITULO I

Medidas de Seguridad Sanitaria

ARTÍCULO 404. Son medidas de seguridad sanitaria las siguientes:

- IX. La emisión de mensajes publicitarios que advierta peligros de daños a la salud.

Anexo 4.2

Anexo 4.2 Grabación en Estación de la RAMAT-San Cristóbal

N°	ESTACIÓN DE MONITOREO DE LA RAMAT		
	VIDEO	Secuencia	Grabación e imágenes
1	Entrada a la caseta	Se hace toma de la caseta, visualizando que está cerrada	Foto de las 4 estaciones de monitoreo Mapa de la ubicación de las estaciones
2	Caseta abierta	Se muestra todo la caseta, el equipo con el que cuenta por dentro y por el exterior	
3	Descripción del equipo de la estación	Trabajador de la RAMA describe el funcionamiento de todo el equipo con el que cuenta la estación.	Nombre de la persona entrevistada
4	Alrededores de la caseta	Visualizar los alrededores de la caseta, haciendo énfasis en la escuela y vegetación aledaña a la estación, incluyendo la presencia de cultivos y población cercana.	Encabezado de San Cristóbal Huichochitlan
5	Equipo TCR TECORA	Dr. Raúl relata el funcionamiento del equipo TCR TECORA	Flechas señalando el lugar por el que entra el aire y partículas entrando al equipo
6	Colocación de cajas de Petri	Se colocan las cajas de Petri, transcurridos los 15 minutos, se recogen las cajas y se sellan con el parafilm, el procesamiento se hace con los guantes	
7	Entrevista a Dr Raúl	Comentarios sobre la importancia de: <ul style="list-style-type: none"> • Monitorear contaminantes inorgánicos • Efectos a la salud por la inhalación de contaminantes • Necesidad de monitorear contaminantes biológicos • Sugerencias para el sistema de monitoreo • Necesidad de normatividad para contaminantes biológicos 	
8	Entrevista a Ing. Rodrigo	Narración de: <ul style="list-style-type: none"> • Funcionamiento de la RAMAT • Costo aproximado de operaciones del monitoreo atmosférico • Sugerencias para el sistema de monitoreo 	

N°	LABORATORIO MICOLOGIA UAM-X		
	VIDEO	INFORMACIÓN	IMAGEN/EDICION
1	Cajas de Petri en la mano e	Una vez que han sido transportadas las cajas en las que se tomó la muestra al laboratorio, se	Foto Letrero laboratorio de Micología

	introducirlas en la incubadora	colocan dentro de una incubadora para que de esta forma puedan obtener un crecimiento optimo	
2	Visualizar caja de Petri con crecimiento de colonias	Al observar que los hongos han alcanzado un crecimiento óptimo lo cual sucede de 5 a 10 días, se identifica cada una de los diversos crecimientos denominados colonias, la variación de estas es muy diversa, tanto en el color, la textura, consistencia.	Diferentes morfologías coloniales Letrero animado "colonias"
3	Preparación de laminillas	Para realizar la identificación de los hongos, se hace una preparación en fresco, la cual consiste en tomar una pequeña porción de la colonia colocándolo sobre un porta objetos al que ya se le coloco una gota de un colorante para que las colonias que no presentaron coloración puedan pigmentarse y poder conocer que género es.	Letrero animado "portaobjetos"
4	Observación en el microscopio	Teniendo al preparación se coloca en un microscopio para poder observar la forma de las esporas, el tamaño, el crecimiento de la hifa y así determinar a qué genero pertenece	
5	Identificación de hongos	Dra Judith La identificación se realiza de acuerdo a claves taxonómicas	Imagen claves taxonómicas, forma de las esporas en las claves
6	Entrevista a Dra Judith	La toxicidad que tienen los géneros se debe a que secretan metabolitos, las paredes de las que están estructurados, al entrar en contacto con el sistema inmune se manifiesta de diferentes formas	

Secuencia para recomendaciones

No.	CONTENIDO	GRABACIÓN E IMÁGENES RELACIONADAS
1	El público en general y principalmente las personas que son susceptibles puede tomar algunas precauciones para reducir la exposición a estas esporas y conidios. Tanto en casa como fuera de ella.	Grabación de edificaciones y casas
2	En el exterior al observar que el viento es elevado se debe evitar practicar deporte y permanecer al aire libre por largos periodos ya que como se menciona anteriormente el viento promueve la liberación de conidios.	Grabación de viento, especialmente movimiento de hojas
3	En el interior algunas estrategias como la ventilación abriendo por completo las ventanas puede reducir en gran medida la retención de humedad especialmente en el baño.	Grabación de la apertura de una ventana. Imágenes de hongos en baños, humedad en baños.
4	Además en caso de tener filtraciones y fugas en tuberías se deben reparar a la brevedad.	Imágenes de fugas.

5	Al tener humidificadores o ventiladores debe cambiarse con frecuencia el filtro de estos.	Imágenes de diversos ventiladores
6	Se debe evitar el uso de alfombras y papel tapiz ya que son lugares idóneos para el crecimiento de hongos y alojamiento de conidios	Imágenes de grietas en papel tapiz y alfombras

Anexo 4.3

Anexo 4.3 Contenido sustentado que se abarca en el audiovisual.

No.	CONTENIDO
1	Las esporas son la estructura de propagación del hongo que contiene la información genética (Maheswari, 2012), estas esporas son unidades microscópicas que se liberan en enormes cantidades, generalmente son dispersas por el aire de forma pasiva haciendo que estén presentes en casi todas partes, como las semillas tienen una reserva mínima de alimentos y la germinación en condiciones de humedad producirá hifas para convertirse en micelio y finalmente se harán nuevas esporas, que son liberadas en números astronómicos (ejemplo: <i>Ganoderma applanatum</i> libera 30,000,000,000 esporas al día; una colonia de <i>Penicillium</i> de 2.5 cm puede producir 400,000,000 esporas) para asegurar la proliferación (Kendrick 2000).
2	La liberación de las esporas en muchos casos es de forma pasiva, ya sea por acción de la gravedad, aire o corrientes de agua, salpicaduras de la lluvia o por animales, especialmente por insectos, a su vez la dispersión también se realiza por el tráfico humano (Webster y Weber, 2007), la permanencia de estas en el aire dependerá de su forma, tamaño y peso, además de las corrientes de aire que los sostengan o eleve, el transporte lo realizan sobre partículas de polvo, fragmentos de hojas secas, piel, fibras de ropa y gotas de agua principalmente, en algunos casos en gotas de saliva expulsadas al toser, estornudar o hablar (De la Rosa et al., 2002.). La dispersión depende principalmente del movimiento de masas de aire, la turbulencia e inversión térmica, además de características de las partículas como su tamaño, forma, densidad y textura de la superficie (Lacey y West 2006).
3	Algunos hongos como <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Acrophialophora</i> , <i>Aureobasidium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Coniothyrium</i> , <i>Corynespora</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Dichotomophthoropsis</i> , <i>Exserohilum</i> , <i>Lasiodiplodia</i> , <i>Macrophomina</i> , <i>Micoascus</i> , <i>Mycocleptodiscus</i> , <i>Neoscytalidium</i> , <i>Phaeoacremonium</i> , <i>Phoma</i> , <i>Ulocladium</i> , <i>Mucor</i> y <i>Rhizopus</i> (Gauthier y Keller, 2013), por mencionar algunos son patógenos tanto para el hombre como para plantas, en las que causa pérdidas económicas por afectar los distintos cultivos que utilizan como sustrato.
4	El contacto que tiene el ser humano con los hongos presentes en el aire es a través de la inhalación, ingestión y contacto directo con la epidermis, la inhalación como la ruta predominante de exposición trae consigo resultados adversos para la salud (Pepper y Gerba 2004), dependiendo el tamaño de la partícula se aloja en distintos sitios, las más grandes permanecerán en el tracto respiratorio superior (nariz y nasofaringe), las que sean < 5 μm son eliminadas mediante estornudos o al realizar la limpieza de la nariz, las que logran llegar hasta la faringe que tienen un diámetro de entre 2-5 μm son deslizadas por acción mucociliar y son ingeridas y aquellas partículas con diámetro de 1 a 5 μm pueden ser transportadas al pulmón y aquellas cuyo diámetro oscila de 1 a 2 μm pueden quedar retenidas y alojarse en los alveolos (Stetzenbach, 2016). Algunas de las enfermedades que se relacionan con la sensibilidad hacia los hongos son: Alergias, Aspergilosis Bronquiopulmonar, Asma severa (Verhoeff y Burge 1997 y Denning et al., 2014).
5	La prevalencia de enfermedades alérgicas conlleva problemas como la inhibición social, baja autoestima, déficit del funcionamiento cognitivo diario, excesiva somnolencia y efectos

secundarios por la administración de fármacos antihistamínicos. En el caso del asma, el coste económico es considerable ya que en estos se incluyen: a) costos directos los cuales son notables, teniendo entre estos ingresos hospitalarios y las preparaciones farmacéuticas y b) costos médicos indirectos como horas de trabajo perdidas y en algunos casos muertes prematuras, cabe mencionar que el asma ocupacional tiene mayores tasas de hospitalización y mortalidad implicando así mayores costos para las personas que laboran (Bousquet et al., 2005) y c) costos intangibles como el dolor, malestar, miedo, tristeza y sufrimiento (Chivato, 2012).

Anexo 4.4

Anexo 4.4 Adaptación de la información proporcionada en el audiovisual.

BLOQUE	CONTENIDO
1	La vida en el planeta es muy diversa encontrando desde los más diminutos organismos hasta animales muy grandes.
2	Cuando escuchamos la palabra hongos generalmente ubicamos a las setas las cuales crecen de forma natural en zonas como bosques, praderas y sitios con amplia vegetación esto durante la época de lluvias que es cuando hay mayor humedad en el ambiente, algunos de estos hongos pueden ser comestibles y otros pueden ser tóxicos para animales y el ser humano.
3	El grupo de los hongos además de las setas abarca un grupo de organismos muy pequeños que solo se pueden observar detalladamente con el microscopio. Has visto como sobre el pan, tortillas o fruta en descomposición comienzan a aparecer algunas manchas de colores?, pues esas manchas al verlos detalladamente a simple vista tienen una textura como algodonosa, vellosa, lanosa y estos son hongos microscópicos que están creciendo sobre esa materia que está en proceso de descomposición.
4	Estos hongos microscópicos así como las plantas y árboles generan semillas para propagarse, los hongos forman unas estructuras semejantes denominadas esporas y conidios las cuales van a permitir que los hongos crezcan en sitios donde encuentren las condiciones necesarias que requieren para su desarrollo. Al encontrar estas condiciones los conidios pueden crecer en diversos sitios tanto en el interior de las casas y diversas edificaciones como en el exterior, hallándolos en el suelo, sobre los muebles, los marcos de las ventanas y principalmente en lugares donde prevalece la humedad y ambientes oscuros.
5	Una vez que han crecido y desarrollado los conidios, ya sea por acción el viento o el choque de las gotas de agua que crean un efecto de vibración, hacen que el hongo suelte las esporas y sean liberadas. Nuevamente factores como la temperatura, viento, humedad y la dimensión del conidio hará que estos puedan transportarse a cortas o largas distancias.
6	Los hongos microscópicos en su mayoría son fitopatógenos (hongos que causan enfermedades a las plantas) por lo que el lugar idóneo en el que crecen son lugares en los que hay vegetación. Estos hongos no únicamente afectan al hombre sino que también causan enfermedades a los animales y afectan a los cultivos provocando pérdidas económicas.
7	Nosotros hemos inhalado estas partículas prácticamente desde que nacimos, por lo que nuestro organismo está acostumbrado a estar en contacto con estas, sin embargo para algunas personas que son susceptibles, el contacto prolongado y en gran cantidad puede ocasionarles algunas enfermedades ya que debido a la dimensión que tienen al ser inhaladas las que son de menor tamaño pueden lograr penetrarse hasta los alveolos y ocasionar algunas enfermedades como asma, rinitis alérgica e irritación en los ojos.
8	La presencia de estas enfermedades tiene repercusiones sociales y económicas principalmente ya que la visita al médico, tratamiento y acompañamiento implica un gasto, además en personas escolarizadas ocasiona el ausentismo escolar y en personas que laboran disminuye su rendimiento.

9	En el ambiente prevalece la presencia de estos conidios ya que no se puede tener un control de estos debido a su dimensión, la velocidad con que se reproducen y la gran cantidad de conidios que puede llegar a producir el hongo.
10	Para poder identificar los conidios que se encuentran suspendidos en el aire, en este caso el procedimiento que realizamos es tomar una muestra directa de las esporas que están presentes.
11	Esto consiste en colocar a una altura aproximada de 1.5 metros de altura, una caja de Petri que se abre, por un lapso de 15 min pasado este tiempo se cierra y se sella, se transporta a el laboratorio y se coloca en una incubadora para que de esta forma pueda alcanzar un crecimiento óptimo, al transcurrir un lapso de 7 días aprox. se realiza una preparación en fresco la cual consiste en colocar sobre un porta objetos un colorante, sobre este se coloca un fragmento del hongo y se recubre con un cubre objetos, teniendo la preparación se coloca en el microscopio para poder observar características del hongo como la forma de crecimiento la forma y tamaño del conidio y de acuerdo a claves taxonómicas se puede saber que hongo es el que ha crecido.
12	El monitoreo atmosférico se realiza únicamente para contaminantes inorgánicos, un ejemplo de esto es el trabajo que realiza la Red Automática de Monitoreo Atmosférico del Valle de Toluca.
13	Conocer los hongos que están presentes en el ambiente puede ayudar en el tratamiento y diagnóstico oportuno de las enfermedades, de igual forma realizando una calendarización y un monitoreo frecuente se puede conocer la época en que hay mayor concentración de conidios además de tomar medidas precautorias tanto en interiores como en exteriores para que de esta forma disminuya el número de enfermedades.
