



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLAS DE HIDALGO**

ESCUELA DE QUIMICO FARMACOBIOLOGIA

Aislamiento e identificación de *Candida tropicalis* en
el polvo del aire del exterior de la ciudad de Morelia,
Mich., México.

T E S I S
QUE PRESENTA

Rosalía Manrique Solo

Para optar el título de:
QUIMICO-FARMACOBIOLOGO

Director de tesis:
D.C. JUAN MANUEL SANCHEZ -YAÑEZ

MORELIA, MICH., SEPTIEMBRE, 2006.

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUIMICO BIOLOGICAS

Aislamiento e identificación de *Candida tropicalis* en el polvo del
aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich., México.

T E S I S
QUE PRESENTA

Rosalía Manrique Soto

Aprobada por el comité tutorial, como requisito parcial para obtener el grado de:

QUIMICO-FARMACOBIOLOGO

Director de Tesis: _____
D.C. Juan Manuel Sánchez-Yáñez

Sinodal: _____
Q.F.B. Martha J. de los Dolores Torres Torres.

Sinodal: _____
Q.F.B. Juan Carlos Carrillo Amézcuca.

Sinodal: _____
Q.F.B. Bertha Ballesteros Silva.

Morelia, Mich., Septiembre del 2006.

Esta investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la asesoría del D.C. Juan Manuel Sánchez-Yáñez, financiada por el proyecto 2.7 (2005-2006) de la Coordinación de Investigación Científica de la UMSNH.

Un tiempo henchido de experiencias variadas e interesantes parece corto al pasar, pero largo cuando se le recuerda; por el contrario, un periodo de tiempo vacío de experiencia parece largo cuando pasa y corto cuando se le considera retrospectivamente.

William James.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco sinceramente a todas las personas que colaboraron conmigo para la realización de esta tesis, que para mí, es sumamente especial.

Con particular gratitud para, el D.C. Juan Manuel Sánchez-Yáñez por darme la oportunidad de crecer a través de la ciencia y compartirme sus conocimientos.

D.C. Luís Chacón García, Q.F.B. Ricardo Vega Tavera, Q.F.B. Bertha Ballesteros Silva, Q.F.B. Juan Carlos Carrillo Amézcua y M.C. David García Hernández, a ellos ¡gracias! por sus consejos y depositar su confianza en mí.

*Mis amigas (os): Margarita, Bto, Lucía, Otto, Meli, Gera, Yedid y Fabi.
por su amistad incondicional.*

DEDICATORIA

Solo hay una dedicatoria y es para mi familia, por que con ellos he pasado los momentos más felices de mi vida.

Mis papas:

Mariano Manrique y Oli Soto

Con todo mi amor para ustedes, por que me han enseñado a ser leal con mis verdades, a luchar por mis objetivos, fijar mis metas e ir siempre por un camino lleno de sinceridad y tolerancia, lo que guía forma segura a escuchar al mundo. ¡Son mi más grande antorcha de amor!

Mis hermanos:

Mariano y Rodrigo

Por inyectarme esa magia que llena sus corazones, por estar siempre a mi lado y caminar juntos, “ustedes son mis mejores amigos” y los llevo siempre en mi corazón.

Juan A. Garduño G.

Para ti por darme siempre tu apoyo, comprensión y ternura, por que sabes que es importante escuchar y aprender. Con todo mi cariño...

.....Una ley de sangre y de muerte que imagine sin cesar nuevos medios de destrucción y obliga a las naciones a estar constantemente para el campo de batalla. La otra es una ley de paz, de trabajo y de salud, que desarrolla nuevamente nuevos medios para librar al hombre de los males que le asedian.

Louis Pasteur.

INDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	<i>iii</i>
ÍNDICE DE FIGURAS.....	<i>iv</i>
Resumen.....	<i>vi</i>
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	5
3. Justificación.....	9
3.1. Hipótesis.....	9
3.2. Objetivos.....	9
4. Materiales y métodos.....	10
4.1 Las zonas de la ciudad de Morelia, Mich., seleccionadas para la detección de levaduras en el polvo del aire exterior.....	10
4.2 Descripción de la colecta del polvo del aire del exterior en la ciudad de Morelia, Mich., con el método de burbujeo.....	12

4.3 Método de contacto de superficie para la detección de <i>Candida</i> spp adheridas al polvo del aire del exterior.....	15
4.4 Técnica de identificación de <i>Candida</i> spp en el polvo del aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich.....	17
5. Resultados y discusión.....	19
6. Conclusión.....	37
7. Referencias.....	38

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Ubicación de las zonas urbanas para la detección de <i>Candida</i> spp en el polvo del aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich., México...	10
Cuadro 2. Detección primaria de levaduras en el polvo precipitado del aire en el exterior de la ciudad de Morelia, Mich, México.....	22
Cuadro 3. Identificación de las levaduras en el polvo precipitado del aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich., México, por la asimilación de fuentes de carbono y nitrógeno del sistema API-20C.....	25
Cuadro 4. Distribución de los géneros de levaduras frecuentes en el polvo precipitado del aire del exterior en las diferentes zonas de la ciudad de Morelia, Mich., México.....	28
Cuadro 5. Distribución de frecuencia de los géneros de levaduras en el polvo precipitado del aire del exterior en relación con las condiciones meteorológicas durante el otoño del 2005 en la ciudad de Morelia, Mich., México.....	30
Cuadro 6. Análisis estadístico de la frecuencia de aislamiento de las levaduras en el polvo precipitado del aire del exterior precipitado de la ciudad de Morelia, Mich., México.....	34

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Experimento de Louis Pasteur, matraces “cuello de cisne”	1
Figura 2. Zonas de colecta, para la detección de <i>Candida</i> spp en el polvo del aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich., A) centro, B) centro, C) comercial y D) residencial.....	11
Figura 3. Método de burbujeo, para la detección de <i>Candida</i> spp en el polvo del aire del exterior en Ciudad Universitaria-UMSNH de Morelia, Mich.....	12
Figura 4. Siembra de la muestra del polvo del aire exterior con perlas de cristal en caja de Petri con agar Sabouraud con cloranfenicol.....	13
Figura 5. Membranas de celulosa millipore de 0.2μ para concentrar la colecta del polvo del aire exterior de la ciudad de Morelia, Mich.....	14
Figura 6. Siembra de la muestra del polvo del aire exterior de la ciudad de Morelia, Mich., con asa Driglasky.....	15
Figura 7. Método de contacto de superficie, para el aislamiento de <i>Candida</i> spp en el polvo precipitado del aire del exterior	16

Figura 8. Método de contacto de superficie, para el aislamiento de <i>Candida</i> spp en el polvo precipitado del aire exterior, A) Plaza Valladolid, B) C.U-HMSNH.....	16
Figura 9. Sistema API-20C, A) Aplicación en la identificación de la levadura y B) asimilación de nitrógeno orgánico y fuentes de carbono por levaduras.....	17
Figura 10. Identificación de las levaduras del polvo del aire del exterior, sistema API-20C, 4a) asimilación de nitrógeno orgánico y fuentes de carbono a 24h de incubación, 4b) 48 h.....	18
Figura 11. A) Morfología macroscópica de la levadura del polvo del aire del exterior RMS-1, B) preparación en fresco a 40x de la levadura, Fraccionamiento J. de Ocolusen de la ciudad de Morelia, Mich., México.....	23
Figura 12. A) Morfología macroscópica de la levadura RMS-2, B) preparación en fresco, 40x de levaduras del polvo del aire exterior, del Palacio Municipal de la ciudad de Morelia, Mich.....	24
Figura 13. Géneros de levaduras frecuentes en el polvo precipitado del aire exterior de la ciudad de Morelia, Mich., México.....	26

R e s u m e n

El aire o atmósfera es esencial para la vida, sin embargo, constantemente cambia su calidad microbiana debido al crecimiento y desarrollo urbano en espacios abiertos, la atmósfera como parte de su composición, transporta microorganismos adheridos al polvo en suspensión, que al contacto humano se pueden convertir en comensales o patógenos oportunistas, de acuerdo con la condición inmunológica y salud de la persona.

La información sobre levaduras adheridas al polvo del aire en ambientes externos a nivel mundial y en México es mínima, e inexistente en la ciudad de Morelia, Mich., por lo que la hipótesis de este trabajo fue: en el polvo del aire del exterior o en espacios abiertos, existen géneros de levaduras saprobias asociadas con una patógena oportunista a humanos.

Los objetivos de esta investigación fueron: a) aislar e b) identificar levaduras potencialmente patógenas para humanos en el polvo del aire del exterior suspendido y/o precipitado. Mediante el análisis micológico de la abundancia y distribución de géneros de levaduras en sitios con intensa actividad comercial o pública, donde la población humana se concentra en la ciudad de Morelia, Mich., durante el otoño del 2005, a dos horas del día: 9:00 y 14:00h. Mediante dos métodos: el de burbujeo y contacto de superficie con el uso de medios de cultivo selectivos para el aislamiento de levaduras.

La identificación de las levaduras aisladas se realizó con el sistema auxonográfico API-20C. Simultáneamente al aislamiento de estos hongos se registraron las condiciones climatológicas como: la intensidad de la radiación solar, la temperatura, la dirección del viento, la lluvia, etc., en la ciudad.

Los resultados indican que en los puntos seleccionados de la ciudad de Morelia se aislaron del polvo precipitado del aire del exterior, más de un género de levaduras representadas por: *Candida tropicalis* y *Rhodotorula rubra*, independientemente de la intensidad de la radiación solar y las variaciones de la temperatura. Se concluye que en el polvo del aire del exterior, existe un género de levadura saprobia asociada con la especie de *Candida albicans*, patógena potencial de humanos.

El actual reporte sobre la supervivencia de *Candida tropicalis* en el polvo precipitado del aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich., México, es uno de los primeros que apoyan la necesidad de un programa permanente registro de la calidad del aire micológico.

Palabras clave. Calidad micológica, levadura, *Candida*, polvo, aire.

1. Introducción

En 1864, Louis Pasteur, científico francés refutó la teoría de la generación espontánea, mediante la demostración de la existencia de microorganismos adheridos a las partículas de polvo en suspensión. Para probarlo colocó un caldo nutritivo en un matraz, al que le calentó la boca y le dio la forma de cuello de cisne, éste permitió la entrada del aire con las partículas de polvo, las que por acción de la gravedad quedaron depositadas en el valle del cuello, en consecuencia el aire, libre de polvo, evitó la contaminación del caldo nutritivo como se indica en la figura 1, de esa manera Pasteur llegó a la conclusión de que la descomposición de los alimentos, depende directamente de la actividad de los microorganismos adheridos a las partículas de polvo suspendido en la atmósfera ¹⁹.

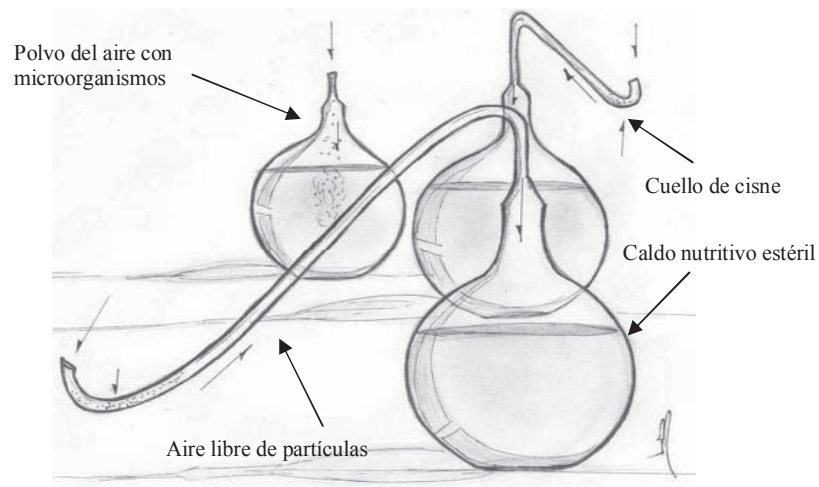


Figura 1. Experimento de Louis Pasteur, matraces “cuello de cisne”.

En estado natural el aire o atmósfera es puro, no obstante las corrientes de los vientos, arrastran polvo del suelo como las partículas de la textura: la arena, el limo y la arcilla ³⁶; el diámetro de estas últimas oscila entre 1.0 μ a 5.0 μ , de dimensión similar al tamaño de los microorganismos ^{6, 9}, los que con facilidad se adhieren por fuerzas electrostáticas, aerodinámicas y mecánicas en función del área de contacto de la superficie de las partículas de polvo ¹¹, las cuales por gravedad se depositan en la superficie de cualquier sitio, luego por la turbulencia del viento se resuspenden en el aire y se dispersan en forma de aerosoles ^{6, 36}.

En el polvo suspendido del aire los microorganismos no se reproducen, pero sí superviven, algunos que son patógenos pueden causar problemas de salud en humanos, animales y plantas ^{23, 35}. El tiempo de viabilidad de los agentes biológicos en el polvo del aire, depende de factores físicos y químicos como: la intensidad de la radiación solar y la temperatura, mientras que su transporte, es función de factores meteorológicos como: la dirección del viento y la frecuencia e intensidad de la lluvia ^{9, 29}.

Los microorganismos como las levaduras, tienen su origen en la descamación de la piel, del cabello y otras partes del cuerpo humano y animal así como en los vegetales donde viven: las hojas, las flores y los frutos ²⁷.

Las levaduras por lo general viven en equilibrio con otros microorganismos en el cuerpo humano como comensales: en la cavidad bucal, en el tracto gastrointestinal y las mucosas del aparato genitourinario ^{1, 3, 13}, sin embargo ciertos géneros son patógenos oportunistas en individuos con el sistema inmunológico reprimido como: en niños prematuros y ancianos, sin atención médica adecuada, esta clase de levaduras causan alta morbilidad y eventual mortalidad ^{4, 22}. Las levaduras adheridas al polvo del aire son transportadas por el viento de un sitio a otro, puesto que tienen la capacidad de adaptarse a los cambios del ambiente como: la intensidad de la radiación solar, etc., en respuesta a estos factores físicos, las levaduras sintetizan pigmentos intracelulares de protección para evitar la fotooxidación, al igual que la cápsula, que les permite adherirse a las arcillas del polvo, y las protege de la desecación lo que asegura una relativa supervivencia prolongada en el polvo del aire del exterior ^{15, 31}.

En base a lo expuesto, debe señalarse que la investigación sobre la microbiología del aire se refiere al análisis de las partículas de polvo de la atmósfera en suspensión y precipitadas, que contienen los agentes biológicos. En general la literatura médica reporta con amplitud la supervivencia de las levaduras patógenas verdaderas oportunistas en ambientes cerrados, como los intrahospitalarios, ya que estas levaduras como microorganismos que causan enfermedades infecciosas en humanos se transmiten por vía

aérea, o por el contacto directo con la piel. En contraste el análisis micológico del polvo suspendido en el aire de ambientes abiertos, donde se especula que algunos géneros de levaduras superviven, es mínimo en el mundo, en México e inexistente en la ciudad de Morelia, Mich., a pesar del valor en salud pública de estos hongos, en especial en sitios donde la actividad y la población humana se concentran como: las escuelas, las oficinas públicas, los mercados, etc., principal justificación para la realización de esta investigación.

2. Antecedentes

Actualmente en salud pública existe escasa investigación micológica sobre el polvo del aire suspendido y/o precipitado en ambientes abiertos, en específico relacionada con la liberación de levaduras potencialmente patógenas en humanos, de vegetales, del suelo e incluso del mar ¹².

En general se reportan levaduras patógenas oportunistas en alta densidad de estos adheridos al polvo del aire en suspensión de ambientes cerrados. En donde la viabilidad de las levaduras es independiente de la radiación solar, la temperatura y las zonas geográficas. Por ello se reportan algunos géneros frecuentes como: *Cryptococcus* y *Candida* patógenas oportunistas de humanos, o bien en asociación con levaduras saprobas como: *Rhodotorula*, *Arxozima*, *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Hansenula*, *Pichia*, *Rhodospiridium*, *Saccharomyces*, *Zygoascus* y *Trichosporon* ²⁰.

En 1997 ³² se realizó una investigación, con el objetivo de cuantificar los géneros de levaduras más frecuentes en el polvo de la atmósfera del exterior. Se analizaron zonas urbanas de Amritsar, en la India. Con el método de exposición en placa de Petri durante un año. Los resultados reportaron que los géneros dominantes fueron: *Candida* sp, *Rhodotorula* sp y *Torulopsi* sp, con variación en su densidad en el polvo del aire del

exterior, la cual fue dependiente de los factores climatológicos como: la temperatura, la humedad relativa, la dirección del viento y la estación del año. Aunque se demostró la supervivencia de *Candida albicans* patógena oportunista de humanos.

En el 2002 ²¹ se realizó un trabajo para identificar la microbiota suspendida en el polvo del aire exterior de la ciudad de Porto Alegre, Río Grande dô Sul, en Brazil. Mediante el método cualitativo con el equipo Rotorod ® durante un año, cada 24h, para analizar el contenido microbiano en las partículas del polvo del aire. Los resultados reportaron una elevada incidencia de: *Candida albicans* y *Rhodotorula rubra*. Ello reforzó la idea de la supervivencia de una levadura patógena oportunista, con una saprobia en el polvo del aire del exterior.

En el mismo año ³³ se realizó una investigación, con el objetivo de comparar la frecuencia y distribución relativa de géneros de levaduras en el aire del exterior, en edificios públicos y privados en diversas de los EUA. Así se examinó el contenido micológico en las partículas del polvo en suspensión, durante las estaciones en un año. Mediante el análisis microbiano del polvo suspendido en la atmósfera del exterior, que se extrajo con un Thermo Impactor de Andersen N° 6 ®, que dispersa esas partículas en placas de Petri con: agar rosa de bengala, agar extracto de malta y agar papa dextrosa. Los

resultados reportaron el predominio de los géneros de levaduras: *C. albicans* y *R. rubra*. Concluyeron que estos géneros de hongos fueron abundantes en las estaciones de verano-otoño; que la viabilidad de esos géneros fue dependiente de los cambios de: la temperatura, la humedad relativa y de la ubicación geográfica en las regiones del suroeste, oeste y sureste de EUA. Lo anterior confirmó que *C. albicans* es posiblemente responsable de ocasionar daño en el aparato respiratorio humano, que viven en ciertas zonas de las ciudades analizadas.

En el 2002 ³⁴ se realizó un trabajo con la finalidad de establecer la abundancia, en la diversidad de géneros de levaduras, en el polvo del aire del exterior de una fábrica de muebles, en Polonia, Europa Central. Para ello se utilizaron los métodos de impacto y contacto de superficie. La colecta del polvo del aire del exterior, se obtuvo con un analizador de partículas TV modelo P818®. El polvo se colectó en una solución salina peptonada con detergente, la que se inoculó en agar extracto de malta e incubó a 25°C. Los resultados indicaron una baja densidad de géneros de levaduras: *R. rubra* y *C. albicans*. No obstante esta investigación demostró que un género patógeno oportunista sobrevive, que su permanencia en el aire del exterior de la fábrica, fue dependiente de la radiación solar, la temperatura, el tipo de la actividad humana y la estación del año.

En el 2003 ⁷ se realizó una investigación, con el objetivo de comparar la calidad micológica en la atmósfera del exterior de una industria lechera, en Viçosa, MG, Brazil. Para lo que se usó el método de impacto de partículas de aire con el muestreador one-stage air ® y otro de sedimentación del polvo en caja de Petri con agar papa dextrosa, que se incubó a 25°C/3-5 días. Los resultados señalaron como los principales géneros de levaduras a: *C. albicans*, *Saccharomyces* sp, y *R. rubra*. La investigación concluyó que el método de impacto de partículas en medio de cultivo fue preciso, rápido y sensible para detectar *C. albicans* una patógena oportunista humana.

En el 2004 ²⁰ se realizó una investigación, con el propósito de determinar la prevalencia y variación estacional de géneros de levaduras en la atmósfera del exterior de la ciudad de Fortaleza, Estado de Ceará, Brazil. Para ello se emplearon los métodos de contacto de superficie y de exposición de placas de Petri con agar Sabouraud, expuestas al polvo del aire exterior por 15 minutos a 1.5m sobre el nivel del suelo, durante 7 días. Los resultados indicaron que la mayor abundancia de los géneros de levaduras fueron: *Candida* sp y *Rhodotorula* sp. Lo que probó que *Candida* tuvo la capacidad de supervivir en el polvo en el aire del exterior, a pesar de los cambios en la radiación solar y la temperatura.

3. J u s t i f i c a c i ó n

La realización de esta investigación, se da con base en la mínima información publicada, sobre especies de *Candida* y de otro tipo de patógenas oportunistas de humanos en el polvo del aire del exterior suspendido y/o precipitado en el mundo, en México e inexistente en la ciudad de Morelia, Mich., como: *C. albicans*, *C. tropicalis* y *Cryptococcus neoformans*.

3.1. H i p ó t e s i s

Así se planteó que existen especies de *Candida* patógenas oportunistas de humanos, en el polvo de la atmósfera del exterior de la ciudad de Morelia, Mich.

3.2. O b j e t i v o s

Por lo que los objetivos fueron: a) Aislar e b) identificar *Candida* spp en el polvo del aire exterior de esta ciudad.

4. Materiales y métodos

4.1 Las zonas de la ciudad de Morelia, Mich., seleccionadas para la detección de *Candida* spp en el polvo del aire exterior.

La detección de *Candida* spp en el polvo del aire del exterior o atmósfera se realizó en cuatro zonas de la ciudad de Morelia, Mich., a dos horas distintas del día: 9:00h y 14:00h, en el otoño del 2005 como se presenta en el cuadro 1 ²⁴.

Cuadro 1. Ubicación de las zonas urbanas para la detección de *Candida* spp en el polvo del aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich., México.

Tipo de unidad urbana, actividad y concentración humana	Sitio de colecta del polvo del aire del exterior
I.- Área verde y zona escolar, actividad educativa y concentración humana elevada.	Ciudad Universitaria, UMSNH*
II.- Centro de la ciudad, alta concentración humana y actividad comercial, con intenso tráfico vehicular.	Plaza Valladolid
	Palacio Municipal
III.- Centro comercial, alta concentración humana y actividad comercial, con intenso tráfico vehicular.	Mercado Municipal Independencia
IV.- Residencial, escasa actividad y población humana, con tráfico vehicular ligero.	Fraccionamiento Jardines de Ocolusen

* UMSNH= Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

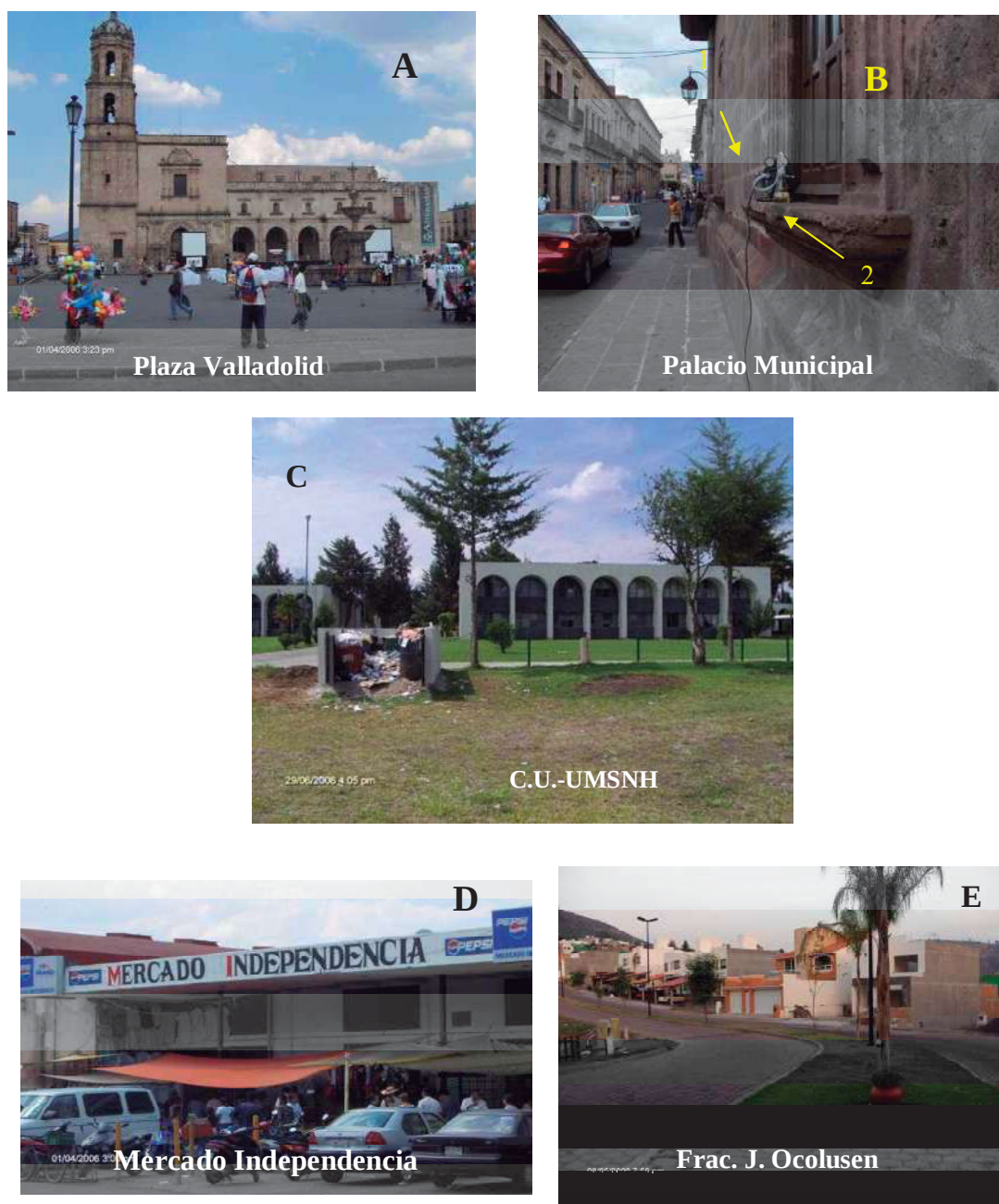


Figura 2. Zonas de colecta, para la detección de *Candida* spp en el polvo del aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich., A) centro, B) centro, C) C.U.-UMSNH, D) comercial y E) residencial.

4.2 Descripción de la colecta del polvo del aire del exterior en la ciudad de Morelia, Mich., con el método de burbujeo.

En la figura 3 se observa la colecta del polvo del aire del exterior se realizó con una bomba de vacío Evar®, por burbujeo de 40 L /min de aire, a una altura aproximada de 1.35 a 1.50m sobre el nivel del suelo, en un matraz Kitazato con 1L de solución salina estéril NaCl (p/v) al 0.85 %²⁴.



Figura 3. Método de burbujeo, para la detección de *Candida* spp en el polvo del aire del exterior en Ciudad Universitaria de Morelia, Mich.

En el método de burbujeo se usó 1L de solución salina como medio de transporte, con Tween 20 (1.0 mL/L), para la separación de las levaduras adheridas a las partículas de polvo. En la solución se burbujearon 40 L /minuto de aire por 3 minutos con la bomba de vacío, luego la solución salina se centrifugó a 3000 rpm/20 minutos, de ésta se sembró por triplicado 0.1 mL en cajas de Petri con agar Sabouraud Bioxon® con cloranfenicol 1 mg/L (ASbc), la siembra se realizó con perlas de cristal para dispersar la muestra como se indica en la figura 4, las cajas de Petri se incubaron de 24-48h/37 °C, sin resultado positivo.



Figura 4. Siembra de la muestra del polvo del aire exterior con perlas de cristal en caja de Petri con agar Sabouraud con cloranfenicol.

En la figura 5 se presenta que posterior al empleo del método de burbujeo, se reemplazó la centrifugación de la solución salina, por la filtración de la solución burbujeadada con una membrana de celulosa millipore de 0.2μ Sartorius®²⁷, para concentrar las partículas del polvo del aire del exterior en la membrana, la que se transfirió a un matraz con 25 mL de solución salina que se agitó/20 minutos, de este matraz se tomó 0.1 mL, que se sembró en ASbc, como se realizó en el primer ensayo. Tampoco se detectaron levaduras.



Figura 5. Membranas de celulosa millipore de 0.2μ para concentrar la muestra del polvo del aire exterior de la ciudad de Morelia, Mich.

Para mejorar la sensibilidad del método en la detección de *Candida* spp en el polvo del aire del exterior, se sustituyó la solución salina por caldo Sabouraud con cloranfenicol (CSbc), además se redujo el volumen del CSbc a 100 mL, se cambió el pH de 6.0 a 4.5, el

CSbc se incubó de 24-48h/37°C hasta detectar turbidez como indicación del probable crecimiento de la levadura ¹⁸, de este caldo se realizaron diluciones: 10^{-1} - 10^{-2} en tubo de ensaye con 4.5 mL de solución salina, de cada una se sembró 0.1 mL por dispersión con asa Driglasky en ASbc como se muestra en la figura 6 ^{5, 19}, este ensayo se realizó por triplicado. El resultado de este intento fue negativo.



Figura 6. Siembra de la muestra del polvo del aire exterior de la ciudad de Morelia, Mich., con asa Driglasky.

4.3 Método de contacto de superficie para la detección de *Candida* spp adheridas al polvo del aire del exterior.

En la figura 8 se muestra que con base en los resultados negativos señalados en las modificaciones de los métodos de aislamiento, se usó la técnica de contacto de superficie ^{2,} ⁵ que colectó el polvo del aire del exterior precipitado por acción de la gravedad ²⁵, en

superficies que están a por lo menos entre 1.0 a 1.35m sobre el nivel del suelo. Para ello se utilizó un hisopo que barrió la superficie de un área aproximada de 25.0 cm², como se muestra en la figura 7, el hisopo se sembró en tubo de 13x100 mm con 4.5 mL de CSbc a pH 4.5, se agitó en Vortex/60 segundos e incubó durante 24-48h /37 °C, de este tubo con CSBc, se usó 0.1 mL para sembrar en ASbc, la que se incubó a 37°C /24-48h^{4, 12, 17}.



Figura 7.- Método de contacto de superficie, área de colecta del polvo precipitado.



Figura 8. Método de contacto de superficie, para el aislamiento de *Candida* spp en el polvo precipitado del aire exterior, A) Plaza Valladolid, B) C.U-UMSNH.

4.4 Técnica de identificación de *Candida* spp del polvo precipitado del aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich.

Las levaduras aisladas del polvo precipitado del aire del exterior de la ciudad de Morelia, se les determinó su morfología macro y microscópica, y posteriormente se realizó su identificación bioquímica por un auxonograma con el sistema de asimilación de fuentes de carbono y nitrógeno llamado API-20C (American Petroleum Institute) de bioMérieux® 9, 13.



Figura 9. Sistema API-20C, A) aplicación en la identificación de levaduras y B) asimilación de nitrógeno orgánico y fuentes de carbono por levaduras.

En la figura 9, se muestra la forma de aplicación de la técnica de identificación de levaduras del polvo precipitado del aire del exterior de la ciudad de Morelia. Para ello se seleccionó un grupo de levaduras representativo de cada zona de la ciudad, el que se suspendió en solución salina e inoculó en los microtubos de la galería API-20C para

determinar la respuesta de asimilación a fuentes de carbono y nitrógeno: Nitrato ($\text{NO}_2\text{-N}_2$), Triptofano (TRP), Glucosa (GLU), Arginina-deshidrolasa (ADH), Ureasa (URE), Escualina (ESC), Gelatinosa (GEL), p-nitrofenil- β -D-galactopiranosido (PNG), Glutamina (Glu), L-arabinosa (ARA), Manosa (MNE), D-manitol (MAN), N-acetilglucosamina (NAG), Maltosa (MAL), Gluconato (GNT), Caprato (CAP), Adipato (ADI), Malato (MLT), Citrato (CIT) y Fenil- acetato (PAC). La galería inoculada con cada levadura se incubó a 37 °C/24-48h. La respuesta de las levaduras a la asimilación de carbohidratos y nitrógeno se leyó por comparación de cada microtubo, con la correspondiente galería usada como control inoculado con la levadura pero sin fuente de carbono como lo muestra la figura 10^{8, 10, 13}.



Figura 10. Sistema API-20C, para la identificación de levaduras del polvo precipitado del aire del exterior 4a) asimilación de nitrógeno orgánico y fuentes de carbono a 24h de incubación, 4b) 48h.

5. Resultados y discusión

En el cuadro 2, se presentan las principales características macroscópicas y microscópicas de levaduras encontradas en el polvo precipitado del aire del exterior de cada zona seleccionada de la ciudad de Morelia Mich. En la Plaza Valladolid se detectó una levadura blanca lo que equivale al 80.0 % del total del análisis del polvo precipitado del aire del exterior. Mientras un 20.0 % de una levadura que sintetizó un pigmento naranja. En el Palacio Municipal, en el polvo precipitado de la atmósfera del exterior, se encontró en un 75.0 % una levadura blanca y en un 25.0 % con un pigmento naranja. El hecho de que en ambos sitios se hayan aislado levaduras con pigmento, sugiere que éste es necesario para que supervivan en el polvo del aire en ambientes abiertos, a demás de los cambios en la intensidad de la radiación solar que varió de 0.68 kJ-1.73 kJ y de temperatura de 5.7°-28.8 °C³⁶, ya que está reportado que estos factores físicos disminuyen la probabilidad de su supervivencia en el polvo de la atmósfera de ambientes abiertos^{8, 23}.

Los géneros de levaduras encontrados en el polvo precipitado del aire del exterior en la ciudad de Morelia, fueron similares a las reportadas por Shelton *et al.*, en el 2002, que al examinar la calidad de la micobiota en el polvo del aire del exterior en los EUA, reportaron la asociación con *R. rubra* y *C. albicans*. Lo que apoya que estos géneros de levaduras patógenas oportunistas a humanos superviven en ambientes abiertos, lo que conlleva el

consecuente riesgo potencial de causar enfermedades respiratorias y alérgicas en la población susceptible que vive o frecuenta esos sitios ³³.

Los géneros de levaduras en el polvo precipitado de la atmósfera del exterior, en el Palacio Municipal y en la Plaza Valladolid en el centro de Morelia, aisladas con el método de contacto de superficie, fueron semejantes a las reportadas por Menezes *et al.*, en el 2004 en la ciudad de Fortaleza el Ceará, Brazil como: *Candida* sp y *Rhodotorula* sp, lo que confirma la existencia de géneros de levaduras patógenas oportunistas de humanos y saprobias que superviven adheridos en el polvo del aire del exterior ²⁰.

En el polvo precipitado de la atmósfera del ambiente abierto, de la zona comercial en el Mercado Municipal Independencia, se detectó que un 80.0 % de las colonias de levaduras recuperadas mostró colonias blancas y el 20.0 % un pigmento naranja. Esta zona se caracteriza por un pesado tráfico vehicular y intensa actividad comercial, ahí se ofertan productos vegetales como: hojas, flores y frutos que son origen de levaduras, lo que justifica el aislamiento de una levadura *RMS-1* con pigmento naranja, en respuesta de la adaptación a los cambios en la intensidad de la radiación solar de entre 1.13 kJ-1.23 kJ ³⁶, mientras que, por las condiciones sanitarias deficientes en la venta y manejo de los alimentos al aire libre, de los comerciantes, el uso y desecho de agua sucia, así como los

desechos orgánicos e inorgánicos expuestos al ambiente de éste lugar, permite la proliferación y dispersión de levaduras de diversos tipos coloniales ²³.

En el polvo precipitado de la atmósfera de ambientes abiertos en la zona escolar de Ciudad Universitaria de la UMSNH, se encontró en un 80.0 % una levadura de colonias blancas y en un 20.0 % otras colonias de pigmento naranja, este hecho se asoció con la elevada densidad de población y la falta de higiene en el lugar, con abundantes desechos orgánicos expuestos al aire libre, además ahí existen amplias áreas verdes otra fuente de origen de las levaduras ⁹.

En la zona residencial Fraccionamiento Jardines de Ocolusen con tráfico vehicular ligero, se observó que el 66.66 % de las colonias recuperadas fueron provenientes del polvo precipitado del aire del exterior, eran blancas y el 33.33 % colonias con pigmento naranja, como se presenta en la figura 11. En general las levaduras tienen la capacidad de adaptarse a los cambios ambientales relacionados con la radiación solar, con síntesis de un pigmento, que protege a la célula del efecto biocida de la luz ultravioleta cercana, estos compuestos de tipo carotenoide se localizan en la membrana plasmática y evitan la fotooxidación celular, como los géneros: *Rhodotorula* spp, *Candida pulcherrima* y *Sporobolomyces* sp a un factor climatológico ^{9, 32}. Otro mecanismo de adaptación de las levaduras a ambientes abiertos es la síntesis de mucílagos tipo lipopolisacáridos en la

cápsula ¹⁵, para adherirse a partículas del polvo del aire, facilitar su dispersión y proteger contra la desecación ^{25, 29, 35}.

Cuadro 2. Detección primaria de levaduras en el polvo precipitado del aire en el exterior de la ciudad de Morelia, Mich, México.

Fecha	Hora	Zona específica de la ciudad de Morelia, Mich.	Morfología macroscópica y microscópica y tipo de pigmento observado de acuerdo con el total del análisis del polvo del aire precipitado (%)
14/10/2005	9:00 h	Centro: Palacio Municipal	Colonia 2-3 mm, blanca, redondas, borde liso, consistencia cremosa, opacas, olor característico. 75.0 % **
08/11/2005	14:00 h	Centro: Plaza Valladolid	Colonia 3-4mm, blanca, redondas, consistencia cremosa, olor característico. 80.0 % **
24/11/2005	14:00 h	Comercial: Mercado Municipal Independencia	Colonia 2-3 mm, pigmento naranja, redondas, liso, cremoso, olor característico. 20.0 %**
08/12/2005	9:00 h	Escolar: C.U.- UMSNH*	Colonia 3-4 mm, pigmento naranja, redondas, olor característico. 20.0 %**
10/12/2005	9:00 h	Residencial: Fracc. Jardines de Ocolusen	Colonia 2-3 mm, blanca, redondas, lisas, cremosas, olor característico. 66.66 % **

Ciudad Universitaria-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. ** Las levaduras aisladas tuvieron morfología microscópica esferoidal y blastoconidias, con el característico olor frutal.

En la figura 11-A muestra la detección primaria de la levadura *RMS-1* que sintetizó un pigmento naranja, con formación de colonias de 3-4 mm de diámetro, redondas, lisas, brillantes, cóncavas, cremosas y con olor frutal, en la figura 11-B se observa en el microscopio el tipo de levaduras esferoidales con blastoconidias espaciadas^{3, 13}

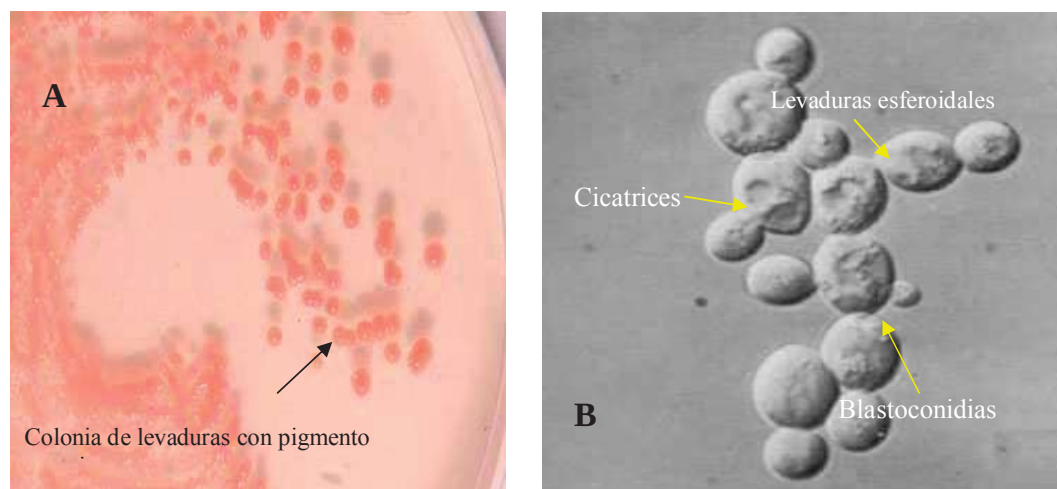


Figura 11. A) Morfología macroscópica de la levadura del polvo del aire del exterior *RMS-1*, B) preparación en fresco, aumento de 40x, de la levadura recuperada del polvo precipitado del aire del exterior del Fraccionamiento J. de Ocolusen de la ciudad de Morelia, Mich., México.

En la figura 12-A se muestra la detección primaria de la levadura *RMS-2*, que formó colonias de 2-3 mm de diámetro de color blanco, cóncavas, con borde liso, redondas, de consistencia cremosa, opacas y olor frutal característica común en este tipo de hongos, en lo referente a la morfología microscópica, la figura 12-B muestra que *RMS-2*, que fue frecuentemente aislada del polvo precipitado del aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich., tuvo una forma esferoidal con blastoconidias en pequeños grupos y con pseudohifas

3, 13



Figura 12. A) Morfología macroscópica de la levadura *RMS-2*, B) preparación en fresco, aumento de 40x recuperada del polvo precipitado del aire exterior, del Palacio Municipal de la ciudad de Morelia, Mich., México.

Cuadro 3. Identificación de levaduras en el polvo precipitado del aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich., México, a la asimilación de fuentes de carbono y nitrógeno del sistema API-20C.

Fuentes de carbono y nitrógeno*	Género de levadura [#]	
	<i>Rhodotorula rubra</i> [*] (RMS-1)	<i>Candida tropicalis</i> [*] (RMS-2)
NO ₂ - N ₂	-	-
TRP	+	+
** GLU	+	+
ADH	+	+
URE	-	+
ESC	+	+
GEL	+	+
PNG	+	+
GLU	+	+
** ARA	+	+
MNE	+	+
** MAN	+	+
NAG	+	+
MAL	+	+
GNT	+	+
CAP	+	+
ADI	+	+
MLT	+	+
CIT	+	+
PAC	+	+

*Nitrato.,= NO₂-N₂, Triptofano.,=TRP, Glucosa.,= GLU, L-Arginina-deshidrolasa.,= ADH, Ureasa.,= URE, Escualina.,= ESC, Gelatinosa.,= GEL, p-nitrofenil-β-D-galactopiranosido.,= PNG, Glutamina.,= Glu, Arabinosa.,= ARA, Manosa.,= MNE, D-Manitol.,= MAN, N-acetilglucosamina.,= NAG, Maltosa.,= MAL, Gluconato.,= GNT, Caprato.,= CAP, Adipato.,= ADI, Malato.,= MLT, Citrato.,= CIT y Fenil-acetato.,= PAC. # Géneros de levaduras más frecuentes detectadas en el polvo precipitado del aire del exterior de Morelia, Mich. (+)= Asimilación positiva, (-)= No asimilación, ****** Asimilación positiva de los dos géneros.

El cuadro 3 muestra los resultados del sistema API-20C²⁷ que determinó el perfil fisiológico de RMS-2, cuyas propiedades bioquímicas fueron: la asimilación positiva de L-arabinosa, D-manitol y maltosa^{8, 14, 30}, no sintetiza ureasa, ni D-arabinosa y rara vez desarrolla tubo germinal en agar harina de maíz, en contraste con *C. albicans* una patógena oportunista de humanos¹⁰, por lo cual se identificó que corresponde a la especie de *C. tropicalis* de acuerdo con Koneman¹³. Las propiedades bioquímicas de la levadura RMS-2, aislada con mayor frecuencia del polvo precipitado del aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich., fueron: asimilación positiva de la glucosa, la manosa, el D-manitol, L-arabinosa, de la síntesis de la ureasa pero no del inositol^{14, 30}, lo que corresponde al perfil bioquímico de *Rhodotorula rubra*, que produjo un pigmento rojo-anaranjado, de acuerdo con lo señalado en la literatura por Pelczar, como se muestra en la figura 13²⁷.

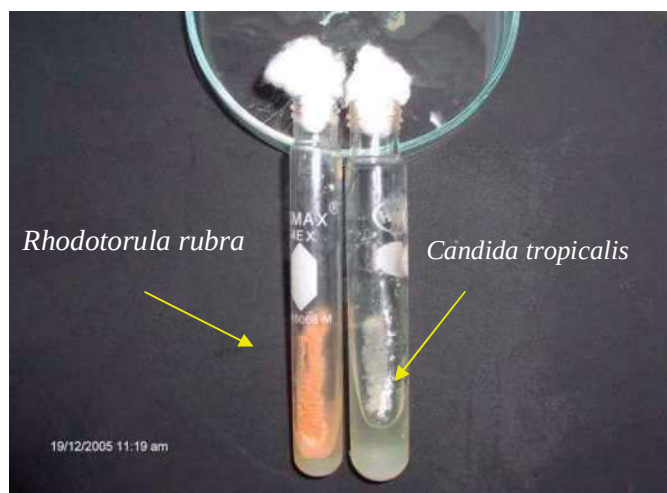


Figura 13. Géneros de levaduras frecuentes en el polvo precipitado del aire exterior de la ciudad de Morelia, Mich., México.

La detección de *C. tropicalis* en el polvo precipitado del aire del exterior, confirma que en ambientes abiertos de la ciudad de Morelia, existe un género potencialmente patógeno a humanos, que recientemente se asoció con *C. albicans* e incluso se le considera responsable de septicemia en pacientes con: linfoma, leucemia y diabetes ^{1, 3, 8}. Actualmente estos son problemas de salud en la población susceptible de Morelia en especial la diabetes, ello sugiere un riesgo potencial para quienes frecuentan los ambientes de la Plaza Valladolid, el Palacio Municipal y el campus de Ciudad Universitaria-UMSNH, de donde se aisló *C. tropicalis* considerada la segunda causa más frecuente de candidiasis después de *C. albicans*, probablemente su diseminación se debe a las fuentes de su origen que tienen que ver con fecalismo al aire libre y dispersión desde el suelo ⁸.

Cuadro 4. Distribución de los géneros de levaduras frecuentes en el polvo precipitado del aire del exterior en las diferentes zonas de la ciudad de Morelia, Mich., México.

Género de levadura ⁴	Zona de colecta del polvo precipitado del aire del exterior de la ciudad de Morelia ¹				
	P.V	P.M.	M.I.	C.U. UMSNH	Fracc. J.Ocol.
<i>Candida tropicalis</i>	06/12/2005 ² 9:00 h ³	14/10/05 9:00 14:00h	0	08/12/05 9:00 h	0
	0	07/12/05 14:00h	0	0	0
<i>Rhodotorula rubra</i>	10/11/05 9:00 h	14/10/05 14:00 h	24/11/05 14:00 h	27/10/05 14:00 h	10/12/05 9:00 h
Levaduras no identificadas	08/11/05 9:00, 14:00 h	11/10/05 9:00 14:00h	22/11/05 9:00 h	27/10/05 9:00 14:00 h	19/10/05 9:00 4:00 h
	10/11/05 9:00 h	0	13/11/05 9:00 14:00 h	08/12/05 9:00 14:00 h	10/12/05 9:00 h
	06/12/05 9:00,14:00 h	0	24/11/05 14:00 h	09/12/05 9:00 h	0
Detección positiva de levaduras acorde con el número de muestreos ⁵	5/6	4/6	4/6	5/6	3/6

¹ PM.,= Palacio Municipal; PV.,= Plaza Valladolid; C.U.-UNSNH.,= Ciudad Universitaria-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo; MI.,= Mercado Independencia; Fr.JO.,= Fraccionamiento Jardines de Ocolusen; ² Fecha y ³ hora de colecta, ⁴ Géneros de levaduras más frecuentes en el polvo precipitado del aire del exterior. ⁵ N° de detección positiva/ N° total de muestras en la zona, (0)= Sin detección de levadura.

En el cuadro 4 se señala la distribución de los géneros de levaduras más frecuentes, detectados en el polvo precipitado del aire del exterior, en la ciudad de Morelia, Mich., con relación a la fecha y el horario de colecta. En donde *R. rubra* y el grupo de levaduras no identificado fueron frecuentes en el 40.0 % de los sitios analizados en la ciudad, estos dos grupos fueron de menor interés para este trabajo, porque no están asociados directamente con *C. tropicalis* ³, la que se recuperó en sitios en donde se combinan la actividad de la población humana con un intenso tráfico vehicular como en: C.U.-UMSNH, en la Plaza Valladolid y en el Palacio Municipal, la existencia de *C. tropicalis* patógena oportunista para humanos en el polvo del exterior de esos lugares, fue un resultado similar al reporte de Mezzari *et al.*, en el 2002, en la ciudad de Porto Alegre, Río Grande dô Sul, en Brazil, en el que al examinar el polvo del aire del exterior de edificios públicos y privados detectaron *C. albicans* patógena responsable de enfermedades respiratorias y alérgicas en personas susceptibles ²¹.

Cuadro 5. Distribución de frecuencia de los géneros de levaduras en el polvo precipitado del aire del exterior en relación con las condiciones meteorológicas durante el otoño del 2005 en la ciudad de Morelia, Mich., México.

Fecha	Horario de colecta		Zona	Datos ambientales.							
	9:00h	14:00h		Temperatura (°C)		Viento Dir.	Vel. (m/s)	Humedad (%)		Lluvia	Radiación (kJ)
				Min.	Max.			Min.	Max.		
11/10/05	A,B	B	P. M.	12.1	27.5	N	2.1	54	93	+	1.2
14/10/05	C	C	F.O.	14.9	25.6	N	2.0	30	95	+	0.94
19/10/05	0	0	F.O.	9.6	25.0	N	2.5	47	98	-	1.69
25/10/05	C	B,C	C.U.	13.0	24.8	NE	2.6	42	99	+	1.06
27/10/05	C	0	M.I.	11.2	23.2	SSW	1.0	38	93	+	1.23
08/11/05	B,C	0	P.V.	9.9	26.5	N	2.3	40	98	-	1.36
10/11/05	C	C	M.I.	11.8	28.8	N	1.6	26	95	-	1.16
13/11/05	0	B,C	M.I.	9.3	28.5	N	3.1	32	95	-	1.60
22/11/05	C	C	P.V.	6.2	25.3	N	2.2	45	95	-	1.73
24/11/05	A,C	C	P.V.	5.7	23.7	SE	2.3	43	94	-	1.23
06/12/05	0	A	P.M.	7.0	21	SS	1.8	46	87	-	0.97
07/12/05	A,C	C	C.U.	8.7	22.2	SS	1.1	45	92	+	0.80
08/12/05	C	0	F.O.	9.1	22.9	SSE	0.8	49	97	-	0.68
09/12/05	C	C	P.M.	6.7	24.7	NNE	1.6	42	96	-	1.29
10/12/05	C	0	C. U.	7.5	25.6	N	2.5	54	93	-	1.26

C.U.=Ciudad universitaria; P.M.=Palacio Municipal; Fr.J.O.=Fr. Jardines de Ocolusen; M.I.=Mercado Independencia; P.V.=Plaza Valladolid; Max=máximo; Min=mínimo; Dir.= dirección; Vel=velocidad; (m/s)=metros/segundos; (A)=aislamiento *Candida tropicalis*; (B)= *Rhodotorula rubra*; (C)= Levaduras no identificadas; (0)= no se aisló levadura; (N)= norte; (NE)=noreste; (SS)=sur; (SSW)=sur-suroeste; (SE)=sureste; (SSE)=sur-sureste; (NNE)= nor-noreste; (+)=lluvia; (-)=sin lluvia³³.

En el cuadro 5, se muestra la distribución de frecuencia de los diferentes géneros de levaduras recuperadas, en el polvo precipitado del aire del exterior en la ciudad de Morelia, Mich., en relación con las condiciones meteorológicas que prevalecieron antes, durante y después de la colecta. Por principio fue evidente la supervivencia de diversos géneros de levaduras en el polvo precipitado del aire del exterior, en especial en los sitios con mayor densidad de población y actividad humana, por el contrario en el fraccionamiento Jardines de Ocolusen, solo se detectó un tipo o ninguno, lo cual probablemente se justifica por el escaso número de habitantes de esa zona residencial, con una baja actividad humana, en comparación con lo que sucede en el Palacio Municipal, Ciudad Universitaria-UMSNH y la Plaza Valladolid.

Independientemente de la variación de temperatura desde 9.6 °C, por la mañana hasta 25.0 °C por la tarde, del cambio de la humedad del 30 % al 95 %, de la velocidad del viento desde 0.8 a 2.5 m/s, de la radiación solar de 0.68 kJ a 1.69 kJ ²⁶, según la literatura ésta fue la causa principal de la pérdida de viabilidad microbiana, en consecuencia de la frecuencia de detección esos géneros de levaduras, en el polvo precipitado del aire del exterior en Morelia. Estos resultados sugieren que la intensidad de la radiación solar, fue el factor que más influyó en la recuperación y diversidad de estos géneros de levaduras ²¹. Por ello se reporta que existen diferencias fisiológicas entre los géneros de levaduras, para

tolerar el impacto negativo de la radiación solar y la temperatura, por lo que su aislamiento no fue constante en las diferentes zonas de la ciudad.

El grupo de levaduras no identificado alcanzó el valor más alto con un 63.33 % de los intentos por recuperarlas, pero como sus características bioquímicas no corresponden a ningún género patógeno oportunista para humanos se dejó sin identificar ³, aunque si se demostró que tienen la capacidad de supervivir en el polvo precipitado del aire del exterior, y esto apoya el riesgo moderado de encontrar las levaduras patógenas humanas, que pueden afectar a personas con problemas de salud, en especial del tipo inmunológico ^{1, 27}. En orden de frecuencia se detectó un 16.66 % de *R. rubra* con su pigmento rojo-anaranjado, lo que apoya que este tipo de carotenoides es necesario para la supervivencia del género en el polvo del aire del exterior ²⁸.

Respecto a la levadura *C. tropicalis* se detectó en un 13.33 % de los intentos de su aislamiento, es posible que su supervivencia se relacione en sitios con elevada actividad y densidad de población humana, como en el Palacio Municipal, en la Plaza Valladolid y en Ciudad Universitaria-UMSNH, lo que sugiere ese riesgo latente para individuos con problemas de salud ^{1, 3}.

La literatura señala que los cambios en la radiación solar, fue un factor crítico que determina la probabilidad de que un microorganismo sobreviva por un tiempo relativamente largo en el polvo del aire de un ambiente abierto ²⁷. Mientras que un factor climatológico que influyó poco en la distribución y frecuencia de las levaduras en el polvo del aire del exterior, fue la lluvia intensa, ya que la ligera fue insuficiente para precipitar las partículas en suspensión con las levaduras, de acuerdo a lo observado en las colectas del 11, 14, 25 y 27 de octubre y del 7 de diciembre del 2005 ²⁶.

Los datos mostrados en este cuadro confirman que los géneros de levaduras detectadas fueron viables, en el polvo del aire del exterior de la ciudad, lo cual apoya la necesidad de aplicar permanentemente programas de salud para la prevención de enfermedades causadas por levaduras ²², especialmente asociadas con piel y aparato respiratorio superior, que se transmiten por el aire y/o por contacto directo de una persona a otra ^{1,3}.

Cuadro 6. Análisis estadístico de la frecuencia de aislamiento de las levaduras en el polvo precipitado del aire del exterior de la ciudad de Morelia, Mich., México.

Zona de la ciudad	Frecuencia de la detección positiva de los géneros de levaduras
Centro: Plaza Valladolid	** A, B, C = 0.83^a
Centro: Palacio Municipal	A, B, C = 0.66^b
Comercial: Mercado Municipal Independencia	B, C = 0.66^b
Escolar: C.U-UMSNH*	A, B, C = 0.83^a
Residencial: Fracc. Jardines de Ocolusen.	B, C = 0.50^c

*C.U-UMSNH -= Ciudad Universitaria-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. ** (A)=aislamiento de *Candida tropicalis*; (B)= *Rhodotorula rubra*; (C)= Levaduras no identificadas. Letras minúsculas iguales sin diferencia estadística significativa según Tukey ($P < 0.01$)¹⁶.

En el cuadro 6, se presentan los valores del análisis estadístico de la frecuencia de aislamiento de los géneros de levaduras, en el polvo precipitado del aire del exterior, de la ciudad de Morelia, Mich., en el que de acuerdo con la prueba de Tukey¹⁶, en la Plaza Valladolid y el campus de C.U-UMSNH, corresponde un valor de 0.83, en donde *C. tropicalis*, *R. rubra* y el grupo de las levaduras no identificadas fueron más comunes en el polvo del aire precipitado que en los otros sitios, lo que se asoció con la intensa actividad humana de la Plaza Valladolid y por la importancia del lugar para la población que ahí se concentra durante las primeras ocho horas del día, así como por las amplias áreas verdes, en las que se acumulan a cielo abierto desechos sólidos orgánicos, por las deficientes condiciones sanitarias como: la venta de alimentos al aire libre sin cubrir y la falta de higiene de los comerciantes en C.U-UMSNH, explican por que *C. tropicalis* patógena

oportunistas de humanos ^{8, 13} se haya encontrado con mayor frecuencia. Este dato fue estadísticamente diferente respecto al del Palacio Municipal y del Mercado Independencia de 0.66 en la frecuencia de detección de esos géneros, en lo referente al Mercado Independencia por la venta y consumo de productos del campo, al igual que la importancia económica de esas zonas y debido a la alta densidad de la población humana. Al respecto se reporta que *C. tropicalis* se libera de los frutos y vegetales ²⁷ provenientes del comercio en esa zona de Morelia. Mientras que las personas contribuyen a una mayor frecuencia mediante con la descamación de la piel, cabello y otras partes del cuerpo ^{6, 29}, esto explica el número de aislamientos del género, el que es tolerante a la intensa radiación solar y los cambios de temperatura. Finalmente en el Fraccionamiento Jardines de Ocolusen de 0.50, donde la diversidad y frecuencia de los géneros de levaduras fue menor, lo que se atribuyó a la escasa actividad y baja densidad de la población humana en el exterior, así como el ligero tráfico vehicular ³⁴.

Lo anterior confirma que la probabilidad de que *C. tropicalis* y *C. albicans* patógenas oportunistas ^{25, 35} tengan contacto con humanos, lo que depende del sitio específico de la ciudad como en la Plaza Valladolid y el campus de Ciudad Universitaria-UMSNH, en el que las personas susceptibles, enfrentan un riesgo mayor de adquirir alguna de las enfermedades causadas por estos hongos, consecuencia de las condiciones sanitarias en esos lugares, que favorecen más la supervivencia de *C. tropicalis*. En contraste con el

Fraccionamiento Jardines de Ocolusen, donde fue evidente que este género fue menos abundante, lo que apoya un riesgo moderado por el contacto con el polvo del aire de esas zonas y la mayor posibilidad de enfermar personas susceptibles en los espacios abiertos del Palacio Municipal y el Mercado Independencia de la ciudad de Morelia, Mich.

6. Conclusión

En esta investigación se concluyó que en el polvo precipitado del aire del exterior de las diferentes zonas analizadas de la ciudad de Morelia, Mich., México. Sí se aisló *Candida tropicalis*, que es potencialmente patógena para humanos, así como otras levaduras que también pueden tener este carácter oportunista, pero no se aisló *Cryptococcus neoformans*, lo que sugiere que existe riesgo moderado para la salud de la población humana susceptible en la ciudad.

7. Referencias

- 1.- Arenas, R. 2003. Micología médica, 2ª ed., Ed. Mc Graw Hill 20:189- 203 y 205-211.
2. - Banwart, G.S. 1979. Microbiología básica de los alimentos. Ed. Bellaterra.
- 3.-Bonifaz, A. 2000. Micología médica básica, 2ª ed., Ed. Méndez S.A C.V. 2:9-30, 19:301-315 y 20:332-337.
4. - Chester, W., Chapman, H., Binford, J. P.U., and Chung, K.J. 1977. Medical micology 3th ed., Lea and Febiger Ed. 14:185 -198 and 16:206 – 228.
5. - Christensen, C.M.H.A., Fause, G.H., Bates, N., and Micoha, G. J. 1967. Microflora of black and red paper. Applied Microbiology. 15:622-626.
6. - Coronado, T. Manejo ecológico del suelo. 2006. <http://www.Sagan-gea.org/suelo/15hoja.html>
7. - Costa, S. V., Andrade, N. J., Cardoso, S., Cordeiro, A. R. M. and Kitakawa, L. S. A. 2003. Microbiological air quality of processing areas in dairy plants as evaluated by the sedimentation technique and a one-stage air sampler. Brazilian Journal of Microbiology. 34: 255-259.

8. - Ellis, D. 2006. Mycology Online. *Candida tropicalis* y *Rhodotorula rubra*. University of Adelaide, Australia. http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Yeasts/Candida/Candida_tropicalis.Rhodotorula_rubra.html.
9. - Fredrickson, J. K. and Fletcher, M. 2001. Subsurface microbiology and biogeochemistry. Wiley-Liss, Ed. USA. 2:39-68.
10. - Garza, P. S. N. 1982. Aislamiento e identificación de cepas nativas de *Saccharomyces* sp, a partir de diversas fuentes naturales. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, N.L., México. (Tesis de licenciatura, Químico Biólogo Parasicólogo, **inédita**).
11. - Henderson, B., Wilson, M., Mc. Bab, R. and Lax, A. J. 2000. Cellular Microbiology, bacteria-host interaction in health and disease. Wiley and Sons, Ed. USA. 5:191-221.
- 12.- Hurst, C. J., Knudsen, G. R. and Stetzenbach, L.D. 1997. Manual of environmental microbiology. American Society for Microbiology, Ed. USA. 69:641-660.
- 13.- Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P.C. y Winn, W.C. 1999. Diagnóstico microbiológico texto y atlas a color. 6ª ed. Ed. Panamericana. 19:1012-1030.
14. - Kreger-Van, R, N.J.W. 1984. The yeasts: a taxonomic study. 3th ed. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands.

15. – Láñez, E. 2006. Estructuras superficiales. <http://www.ugr.es/~eianez> Microbiologia /04capsula.htm.
16. - Little, M.T and Hills F.J. 1998. Métodos estadísticos para la investigación de la agricultura. Ed. Trillas. 3:46 y 6:67.
- 17.- Longréé, B. 1972. Técnicas sanitarias en el manejo de los alimentos. Ed. Pax-México.
18. - Madigan M.T., Martinko J.M. and Parker J. 2003. Brock, Biology of the microorganisms. 11^a ed. Prentice Hall Ed. 23:933-934.
19. - Matthai, W. C. and Berg, C. Y. 1991. Microbiology principles and explorations. 4th ed. John Wiley and Sons Ed. USA. 25:341-343.
20. - Menezes, A., Trindade, P., Costa, M., Freire, F., Cavalcante, S. and Cunha, A. 2004. Airborne fungi isolated from Fortaleza City, State of Ceará, Brazil. Instucional Medicine Tropical São Paulo 46:133-137.
21. - Mezzari, A., Perin, C., Santos, S. and Bernd, L. 2002. Airborne fungi in the City of Porto Alegre, Rio Grande dô Sul, Brazil. Institucional Medicine Tropical. São Paulo 44: 269-272.
22. - Miró, J.M. 2001. Presentacion clínica y tratamiento de las infecciones por hongos levaduriformes. <http://www.reviberoambi.cl/paginas/infecciones/015b2.html>.
23. – Mitchell, R. 1993. Enviromental Microbiology. Wiley-Liss Ed. USA. 8:991-207.

- 24.- Nava, A., Salgado, H y Sánchez-Yáñez J. M. 2006. La microbiota del aire de la zona metropolitana de la ciudad de Monterrey, N.L. México. <http://www.newslettersmonografias.com>.
25. - Obreroá, T. M. Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos. 2004. <http://www.siafa.com.ar/notas/nota43/hongos.html>.
- 26.- Observatorio Meteorológico de Morelia, clave: 665. Calle Heber Soto Fierro s/n. Col. Lomas de Santiaguito, Morelia, Mich., México.
27. - Pelczar, Jr, Chan, E.C.S. and Reld, D.R. 1993. Microbiology. 6th ed. Mc. Graw-Hill, Ed. 16:271 - 287 and 35:651 - 661.
- 28.- Raisman, J. S. y González M. A. 2004. Pigmentos. <http://www.fai.unne.edu.ar/biologia/bacterias/micro9.htm>.
29. - Razek, A., Mohsen, A. and Abdelmonem, M. 1999. Indoor air biocontaminants and suspended dust levels. Seed Journal 148:171-176.
30. - Rippon, J.W. 1988. Medical Mycology. 3th ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, U.S.A.
31. - Rosas, I., Salinas, E., Martínez, L., Eslava. C y Cravioto, A. Instituto Nacional de ecología. Bacterias en la atmósfera. 1995. <http://www.ine.gob.mx/aire/publicaciones/235/cap4.html>.

32. - Sandhu, D.K. and Waraich, M.K. 1997. Airborne leavenings in Amritsar. *Antonie Van Leeuwenhoek* 47:571-576.

33. – Shelton, B., Kirkland, K., Flanders, W. and Morris, G. 2002. Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Applied and Environmental Microbiology* 68:1743-1753.

34. – Sitkowska, J., Milanowski, J., Dutkiewicz, and Skórska, C. 2002. Exposure to airborne microorganisms in furniture factories. *Annual Agriculture Environmental Medical* 9:85–90.

35. – Stolp, H. 1988. *Microbial ecology: organisms, habitats, activities*. Cambridge University Press Ed. USA. 6:172-181.

36. - Uherek, E. *Partículas/aerosoles*. 2004. <http://www.reviberoammicol.com/AEM/Cadiz-98/MesasRedondas.html>.