

Aislamiento de Microorganismos en diferentes ambientes (Suelo, Agua y Aire)

Álvarez María del Mar, Blandón Lily J, Ceballos Valeria, Mejía Michelle.*, Buriticá H Héctor Mario **

Resumen: Hace trescientos años Anton van Leeuwenhoek observó por primera vez en un microscopio unos “pequeños animáculos” que ahora se conocen como microorganismos. Los microorganismos son los seres más primitivos que existen en la Tierra, los cuales tienen la capacidad de colonizar cualquier tipo de ambiente. Estos microorganismos también participan de forma vital en todos los ecosistemas y están en interacción continua con las plantas, los animales y el hombre. Los microorganismos son clave para el funcionamiento de los sistemas biológicos y el mantenimiento de la vida, pues participan en diversos procesos metabólicos, ecológicos y biotecnológicos. Para efectuar el estudio de un organismo particular es necesario cultivarlo y posteriormente separarlo de la población mixta en la que se encuentra. Para tal fin se emplean técnicas de aislamiento que conducen a la obtención de un cultivo para su posterior observación e identificación mediante pruebas morfológicas, bioquímicas y moleculares. En la práctica se realizó el aislamiento de microorganismos de tres ambientes distintos: Tierra, Agua y Aire mediante siembra en medios de cultivo no selectivos donde crece todo tipo de microorganismos (Agar nutritivo y PDA) y se realizó una posterior caracterización macro y microscópica de los mismos; evidenciando como resultado la presencia de diversos tipos de bacterias y hongos en los ambientes estudiados, determinando así la importancia de realizar este tipo de procedimientos para conocer a fondo los diversos microorganismos a los que estamos expuestos a diario, y por ende, como afectan y benefician a nuestro entorno. **Palabras clave:** Aislamiento, ecología, microorganismos, ambiente.

Abstract: Three hundred years ago Anton van Leeuwenhoek observed for the first time in a microscope some "small animacles" that now are known as microorganisms. Microorganisms are the most primitive beings on Earth, which have the ability to colonize any type of environment. These microorganisms also play a vital role in all ecosystems and are in continuous interaction with plants, animals and humans. Microorganisms are the key for the functioning of biological systems and the maintenance of life, as they participate in various metabolic, ecological and biotechnological processes. To study a particular organism is necessary to cultivate it and then separate it from the mixed population in which it is found. To this end, isolation techniques are used to obtain a culture for subsequent observation and identification by morphological, biochemical and molecular tests. In practice, microorganisms were isolated from three different environments: soil, water and air by sowing in non-selective growing media (Nutrient agar and PDA) where all kinds of microorganisms grown, and then a subsequent macro and microscopic characterization was made; evidencing as a result the presence of different types of bacteria and fungi in the studied environments, thus determining the importance of performing this type of procedures to know in depth the different microorganisms we are exposed daily, and therefore, how they affects and benefits our environment. **Key words:** Isolation, ecology, microorganisms, environment.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos son organismos ubicuos y en los ambientes naturales se encuentran usualmente como poblaciones mixtas, por lo que es necesario tenerlos como cultivos puros por medio de aislamientos, para así poder identificarlos y caracterizarlos. La preparación de un cultivo puro implica no solo el aislamiento de un determinado microorganismo, sino su mantenimiento y el de su descendencia. Es importante determinar los diferentes medios de cultivo y condiciones de incubación óptimas para cada uno de ellos y así lograr la formación de colonias visibles aisladas.¹

Es posible utilizar diferentes estrategias para el aislamiento e identificación de microorganismos: Separación física mediante diluciones seriadas y siembra en; utilización de medios de cultivos selectivos y diferenciales y aprovechamiento de características particulares de los microorganismos. Para facilitar y mejorar el proceso generalmente se combinan estas estrategias.^{2, 3}

Microorganismo de agua

El agua, sustancia esencial para la vida frecuentemente actúa como vehículo de transmisión de microorganismos entéricos ya que la materia fecal puede accidentalmente alcanzar las fuentes de abastecimiento. Los controles rutinarios de la totalidad de microorganismos hídricos resultan difíciles debido a la gran variedad de bacterias patógenas cultivables.⁴

Microorganismos de suelo o tierra

El suelo está constituido por minerales de varios tamaños, formas y características químicas, raíces de plantas, población de organismos vivos (microorganismos) y materia orgánica en varias etapas de descomposición. Cada factor físico y químico del suelo influye en el crecimiento o actividad de los microorganismos.⁵

Microorganismos de aire o ambiente

La atmósfera no tiene una microbiota autóctona, pero es un medio para la dispersión de muchos tipos de microorganismos de otros ambientes. Estos tienen una gran importancia biológica y económica ya que producen enfermedades en plantas, animales y humanos y causan alteración de alimentos.⁶

El objetivo de la práctica fue aislar e identificar distintos microorganismos como bacterias y hongos presentes en diferentes ambientes (suelo, agua y aire).

METODOLOGÍA

Materiales y equipos

- Espátula
- Vidrio reloj
- Frascos tapa azul de 500 ml
- Tubos de ensayo
- Cajas de Petri
- Pipetas de 10 ml
- Micropipeta (puntas amarillas)
- Pipeteador
- Autoclave
- Plancha de calentamiento
- Balanza

- Agua destilada
- Solución salina (NaCl 0.85%)
- Agar Nutritivo
- Agar de papa - dextrosa (PDA)

Procedimiento

Preparación de medios de cultivo (Agar nutritivo y PDA) y de agua peptona

Se prepararon 350 ml de agar nutritivo y 50 ml de PDA según indicaciones de la casa comercial. Se llevaron a autoclave durante 25 minutos a 121 °C; se sirvieron en las respectivas cajas de Petri y se llevaron a prueba de esterilidad.

Preparación de Agua Peptona

Se prepararon 200 ml (6 tubos) de agua peptona según indicaciones de la casa comercial; se llevaron a autoclave por 25 minutos a 121 °C.

Aislamiento de microorganismos de suelo

Se pesó 1 g de tierra y se diluyó en 9 ml de agua peptona estéril (10^{-1}), se homogenizó y se dejó reposar un momento para que los sólidos decantaran. A partir de esta solución se realizaron dos diluciones más (10^{-2} y 10^{-3}) en agua peptona estéril. Para la siembra se tomó 1 ml de cada dilución y se sembró cada una en agar nutritivo con ayuda de un asa de drigalsky. Finalmente se incubaron las placas a temperatura ambiente por 7 días y se evaluó su crecimiento.

Aislamiento de microorganismos de agua

Se tomó una muestra de agua de charco y se depositó en una botella

plástica; luego se tomó 1 ml de la muestra, se suspendió en 9 ml de agua peptona (10^{-1}) y se homogenizó. A partir de esta solución se realizaron dos diluciones más (10^{-2} y 10^{-3}) en agua peptona estéril. Para la siembra se tomó 1 ml de cada dilución y se sembró cada muestra en agar nutritivo con ayuda de un asa de drigalsky. Finalmente se incubaron las placas a temperatura ambiente por 7 días y se evaluó su crecimiento.

Aislamiento de microorganismos de Aire

Se tomó una caja de PDA y se expuso al aire libre por 15 minutos. Luego se llevó a la incubadora por 7 días y se evaluó su crecimiento.

Observación de los microorganismos

Después de 7 días, al evaluarse el crecimiento de microorganismos y observar sus características macroscópicas, se procedió a realizar conteo de las colonias predominantes y a realizar tinción de las mismas para su identificación microscópica; en el caso de las bacterias se realizó tinción de Gram y en el caso de los hongos se realizó montaje con Azul de Lactofenol.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Microorganismos de Tierra

El suelo es un recurso viviente y dinámico que condiciona la producción de alimentos. El suelo no sólo es la base para la agricultura, sino que de él depende toda la vida del planeta ya que la mayor parte de las etapas de los ciclos biogeoquímicos tienen lugar en él. La actividad

microbiana del suelo da cuenta de las reacciones bioquímicas que suceden dentro de este complejo y heterogéneo sistema.⁷

En el suelo pueden encontrarse una gran variedad de microorganismos, entre ellos hongos, algas, protozoarios y virus, pero sin duda, las bacterias exceden la población, encontrando todo tipo de ellas, desde autotróficas y heterotróficas hasta aerobias y anaerobias. Varios factores contribuyen al número y tipo de microorganismos encontrados en el suelo, como su composición (cantidad y tipo de nutrientes), características físicas (humedad, temperatura, pH, aireación) y el tipo de plantas en el suelo (sistema de raíces).^{8, 9}



Fig 1. Observación macroscópica de bacterias aisladas del suelo. Dilución 10^{-2} La flecha roja señala la colonia observada microscópicamente. Fuente propia.

Si bien, en la Fig 1 y 2 se observan únicamente colonias bacterianas, se comprueba que estos microorganismos son los más encontrados en el suelo; además se observan colonias de diferentes colores y morfología, demostrando la gran diversidad microbiana, la cual es una propiedad que condiciona la capacidad de recuperación del sistema edáfico ante una alteración y le asegura su estabilidad funcional. La cantidad de microorganismos en un

gramo de suelo puede variar entre 10^7 y 10^9 células, mientras que algunas estimaciones indican la posibilidad de que haya al menos 10^4 especies microbianas distintas por gramo de suelo.¹⁰



Fig 2. Observación macroscópica de bacterias aisladas del suelo. Dilución 10^{-3} La flecha roja señala la colonia observada microscópicamente. Fuente propia.

Para realizar el conteo, se eligieron las colonias más abundantes en las dos diluciones y fue de esas mismas colonias que se realizó la tinción de Gram. En la dilución 10^{-2} , se eligieron colonias transparentes circulares, planas, húmedas y adherentes (señalada en la Fig 1) y en la dilución 10^{-3} se eligieron colonias blancas, irregulares y rugosas (señalada en la Fig 2); obteniendo una cantidad de 15 y 3 colonias respectivamente, pero el conteo microbiano se debe realizar en placas que presenten entre 30 y 300 colonias; por tal motivo no se tuvo en cuenta.

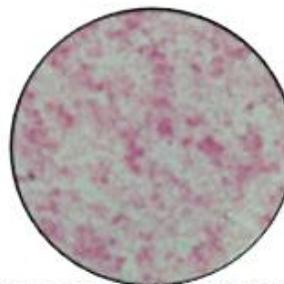


Fig 3. Observación microscópica de cocos Gram negativos a partir de la dilución de suelo 10^{-2} . Tinción de Gram, 10X. Fuente propia

En la figura 3 es posible observar la presencia de cocos Gram negativos, tomados de la colonia indicada anteriormente de la dilución 10^{-2} (Fig 1), pero no se hace posible su identificación ni macroscópica ni microscópicamente. Por su parte, la tinción realizada de la colonia señalada de la dilución 10^{-3} (Fig 2), no se pudo observar al microscopio debido a dos posibles factores: el colorante se encontraba precipitado o la cantidad de inóculo fue muy grande, por lo que se aglutinó impidiendo una clara observación.

La rizosfera, definida como la porción del suelo influenciada por las raíces vegetales, es el sitio de máxima interacción entre microorganismos edáficos y entre éstos y los cultivos. Por ello, el conocimiento detallado de este ambiente y la caracterización de su biodiversidad constituyen pilares fundamentales para lograr agroecosistemas sustentables⁹; es por ello que se sugiere realizar una identificación más completa de los organismos encontrados en el suelo que incluya pruebas bioquímicas y moleculares.



Fig 4. Observación macroscópica de bacterias aisladas de agua de charco. Dilución 10^{-2} La flecha roja señala la colonia observada microscópicamente. Fuente propia.

En la actualidad se utilizan bacterias benéficas del suelo para recuperar la estructura perdida por las prácticas agrícolas, para aumentar la disponibilidad de los nutrientes del suelo y para incorporar la materia orgánica que se necesita para mejorar la fertilidad. Entre los géneros bacterianos más importantes agrícolamente por la transformación de los compuestos orgánicos e inorgánicos y que favorecen la nutrición de las plantas están: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Thiobacillus*, *Lactobacillus*, y *Rhizobium*.^{5, 8}

Microorganismos de Agua

Más de 984 especies de hongos han sido aisladas en aguas subterráneas no cloradas, sistemas que utilizan aguas superficiales, cloradas y servicios principales. Estos incluyen *Aspergillus*, *Penicillium*, *Altenaria*, y *Cladosporium*.¹¹

La presencia de microorganismos en agua es un indicador de calidad, ya que muchos de los organismos encontrados en ella representan un interés sanitario, pues afectan la salud humana y la de otros organismos que utilizan el recurso hídrico.

Acinetobacter iwoffii produce infecciones del tracto respiratorio y urinario, sepsis y meningitis, *Burkholderia cepacia* produce enfermedades en plantas y humanos, *Pantoea agglomerans* es patógeno de plantas, *Lactococcus garvieae* es un patógeno de peces y produce mastitis en vacas y búfalos.¹²

Además de bacterias y hongos, en el agua también se ha registrado la



Fig 5. Observación macroscópica de bacterias aisladas de agua de charco. Dilución 10^{-3} . La flecha roja señala la colonia observada microscópicamente. Fuente propia.

presencia de algas y protozoos.

Para realizar el conteo, se eligieron las colonias más abundantes en las dos diluciones y de esas mismas colonias que se realizó la tinción de Gram y el montaje con azul de Lactofenol. En la dilución 10^{-2} , se eligieron colonias blancas, pequeñas y circulares bastante abundantes presentes en toda la superficie de la placa (señaladas en la Fig 4) y en la dilución 10^{-3} se eligieron colonias vellosas y de textura algodonosa de color gris verdoso o gris oliva (señalada en la Fig 5); obteniendo una cantidad de 270 y 4 colonias respectivamente, pero el conteo microbiano se realiza en placas que presenten entre 30 y 300 colonias; por lo que solo se tomó en cuenta el conteo de la dilución 10^{-2} ;

obteniendo un valor de 2.7×10^4 UFC/ml.

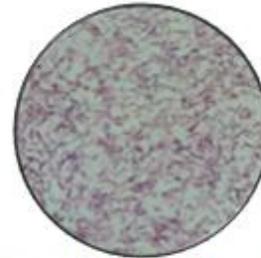


Fig 6. Observación microscópica de bacilos Gram positivos y Gram negativos a partir de la dilución de agua de charco 10^{-2} . Tinción de Gram, 10X. Fuente propia

En la figura 6 es posible observar la presencia de bacilos Gram positivos y Gram negativos, tomados de las colonias indicadas anteriormente de la dilución 10^{-2} (Fig 4), pero no se hace posible su identificación ni macroscópicamente ni microscópicamente; únicamente se deduce la presencia de dos microorganismos diferentes.

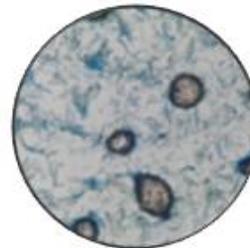


Fig 7. Observación microscópica de *Penicillium* spp. a partir de la dilución de agua de charco 10^{-3} . Azul de Lactofenol 10X. Fuente propia.

En la figura 7 es posible observar la presencia del hongo *Penicillium*, caracterizado por hifas septadas hialinas ($1.5-5 \mu$ de diámetro), con conidióforos, métulas, fialides y conidias. Las métulas son ramificaciones que se forman sobre

los conidióforos y acarrear fialides en forma de frasco. La organización de estas en la punta de los conidióforos es típica ("penicilli" o pincel). Las conidias ($2.5-5\mu$ de diámetro) son redondas, unicelulares y observadas como cadenas no ramificadas en el extremo de las fialides.¹³

Microorganismos de Aire

El aire no posee microorganismos propios, pero estos son capaces de dispersarse en ambientes exteriores e interiores gracias a las corrientes de aire, las cuales se encargan de recoger los microorganismos presentes en otros ambientes naturales como el suelo, el agua, las plantas y la microbiota humana. Además, algunas actividades industriales, comerciales y sociales han contribuido a la producción de desechos, emitiendo partículas que ayudan al camuflaje y dispersión de los microorganismos.^{6, 14}



Fig 8. Observación macroscópica de hongos aislados del aire exterior de la Universidad Libre seccional Pereira. Las flechas rojas muestran las colonias observadas microscópicamente. Fuente propia.

Los hongos representan uno de los grupos más diverso de los microorganismos de la atmósfera y alcanzan concentraciones elevadas en determinadas épocas del año¹⁵; por tal motivo se decidió usar un medio especial para hongos, donde es posible confirmar lo anterior (Fig 8), donde se observa una gran variedad

de colonias de hongos. El recuento de bacterias y hongos en el aire es un factor importante para determinar la calidad del mismo y de igual forma es importante la identificación de las bacterias y hongos que predominan para determinar si representan riesgo para la salud humana.

La rama de la Aeromicrobiología que estudia la variación temporal y espacial de esporas y propágulos fúngicos, así como la influencia de los factores que afectan dichas variaciones se le denomina Aeromicrobiología.¹⁶

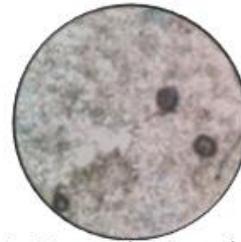


Fig 9. Observación microscópica de *Aspergillus* spp. y *Cladosporium* spp. Azul de Lactofenol, MO 40X. Fuente propia.

En la figura 9 es posible identificar aparentemente dos tipos de hongos, correspondientes a una colonia aterciopelada y pulvurenta de color verde oliva; de los cuales el más observado en toda la micrografía pertenece al género *Cladosporium*, caracterizado por presentar hifas finas, septadas, ramificadas de color hialino a marrón, que sostienen cadenas ramificadas de conidios unicelulares, elipsoides o cilíndricos.^{17, 18} Se identifica también la presencia

del género *Aspergillus*, sin poder identificar la especie, pero al observar microscopías de referencia (Fig 10) se presume que se podría tratar de *Aspergillus glaucus*, caracterizado por ascocarpos esféricos con ascosporas.¹⁸



Fig 10. Morfología microscópica a partir de cultivo de *Aspergillus glaucus*. Azul de Lactofenol, 100X. Fuente: Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia.

Numerosos autores han demostrado que los géneros *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Penicillium* son los más comunes, y su concentración en el aire varía dependiendo de factores biológicos (ritmo de esporulación y disponibilidad del sustrato para el desarrollo del micelio), climáticos (temperatura, humedad y precipitación) o físicos (movimientos atmosféricos, turbulencia y calentamiento).¹⁶ Las especies del género *Aspergillus* spp. se han aislado con mayor frecuencia debido a que sus esporas son livianas, lo que permite un fácil transporte.¹⁴

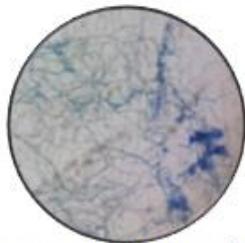


Fig 11. Observación microscópica de *Syncephalastrum* spp. Azul de Lactofenol, MO 40X. Fuente propia.

La Fig 11 corresponde a una colonia macroscópicamente algodonosa laxa, con micelio aéreo abundante y de color blanco, características del orden Mucorales, cuyos géneros más comunes son: *Syncephalastrum* spp., *Rhizopus* spp., *Mucor* spp., *Absidia* spp. y *Cunninghamella* spp.¹⁸ El género y por tanto la especie son difíciles de identificar, debido a que en la micrografía solo se pueden identificar hifas hialinas, gruesas, aseptadas y de pared delgada, como la mayoría de géneros de ese orden; pero no es posible identificar la forma del esporangióforo para usarla en su posible diferenciación.

En países de clima tropical como Colombia, las condiciones de temperatura y humedad favorecen el crecimiento y la esporulación de estos microorganismos, por lo que sus esporas o fragmentos hifales pueden encontrarse en la atmósfera en elevadas concentraciones. Esto constituye un riesgo para la salud, ya que pueden causar alergias, infecciones o intoxicaciones como neumonías (*Pneumocystis carinii*), micosis sistémicas (*Aspergillus fumigatus*, *Blastomyces dermatitidis*), hipersensibilidad (*Cladosporium Alternaria*, *Penicillium*) y micotoxicosis (*Aspergillus*, *Fusarium*).¹⁶

Es importante saber que en el aire no solo se encuentran hongos, sino también diversos géneros de bacterias. Soto et al., llevaron a cabo un estudio en la Universidad de Murcia, donde identificaron bacterias de los géneros *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Neisseria*, *Acinetobacter*,

Pseudomonas, *Corynebacterium* y *Enterobacter*, que fueron aisladas de salones de clase, corredores, baños, cafetería, librería, recepción y oficinas.¹⁹ Muchas de esas bacterias pueden causar enfermedades y síntomas en las mucosas y en la piel y algunas otras pueden producir enfermedades respiratorias, por ejemplo, *Streptococcus pyogenes* produce amigdalitis, faringitis y bronquitis, *Streptococcus pneumoniae* y *Klebsiella pneumoniae* son causantes de neumonía y *Neisseria meningitidis* causa meningitis.²⁰ Así mismo, muchos virus encontrados en el aire pueden causar enfermedades como el resfriado causado por los géneros *Rhinovirus* y *Mastadenovirus* y la gripe causada por *Influenzavirus*.⁶

En este caso específico, la muestra que se analizó fue tomada del aire exterior (en las afueras de la biblioteca) de la Universidad Libre seccional Pereira, por lo que se podría sugerir un nuevo análisis directamente en el laboratorio de microbiología de la Universidad, ya que en estos espacios se originan riesgos de diverso tipo, especialmente biológicos, que pueden producir problemas en la salud de los trabajadores²⁰, específicamente de los estudiantes. Esencialmente, el tipo de microorganismos encontrados en el aire, tienen relación con el tipo de muestras que se trabajan, y adicionalmente con las bacterias que llegan con el viento y permanecen allí influenciadas por factores como humedad, polvo, temperatura y viento. Así mismo, depende de los propios trabajadores, los materiales y el trabajo que se realiza en el interior²¹, por lo que es importante el aislamiento

de microorganismos para evaluar la calidad del aire y los posibles riesgos a los que se ven enfrentados diariamente los estudiantes que ingresan al laboratorio a realizar sus prácticas y buscar una forma de atenuarlos o reducirlos.

CONCLUSIÓN

Se determina la importancia del aislamiento de microorganismos en diferentes ambientes como agua, tierra y aire con el principal fin de pasar de tener una población de microorganismos que se sabe habitan en dichos medios, pero son imposibles de observar e identificar, a tener un cultivo que si lo permita. El cultivo fue un cultivo mixto ya que creció todo lo que se encontraba en los ambientes estudiados, pero a partir de allí, los microorganismos se encontraban en condiciones viables de caracterización, observación, identificación y obtención de un cultivo puro, lo que conlleva a un estudio más detallado de su metabolismo, morfología y características específicas mediante pruebas bioquímicas; y saber cómo afectan o benefician nuestro entorno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ramírez R, Luna B, Velásquez O, Vierna L, Mejía A, et al. Manual de Prácticas de Microbiología General. 5ª edición. México: Universidad Nacional Autónoma de México UNAM, Facultad de Química; 2006.
2. Madigan M, Martinko J, Parker J. Brock, Biología de los microorganismos. 10ª edición.

- España: Prentice Hall Iberia; 2003. p. 1089.
3. Tortora J, Fonke R, Case C. *Microbiology an Introduction*. 5ª edición. California: The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc.; 1995. p. 801.
 4. Ramos J. *Microorganismos del agua*. México: Universidad Autónoma de Yucatán. Departamento de Biología Experimental; 2008.
 5. Benintende S, Sánchez C. *Microorganismos del suelo*. 1st Ed. Universidad Nacional de Entre Ríos - Facultad de Ciencias Agropecuarias; 2000.
 6. De la Rosa M, Mosso M, Ullán C. El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio Medioambiental*. 2002; 5: 375-402.
 7. Cano A. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revisión. *Rev U.D.C.A Act & Div Cient*. 2011; 14(2): 15-31
 8. García F. *Microbiología del suelo*. 2011. p. 11.
 9. García I. Microorganismos del suelo y sustentabilidad de los agroecosistemas. *Revista Argentina de Microbiología*. 2011; 43: 1-3
 10. Torsvik V, Thingstad T. Diversidad procariótica – magnitud, dinámica y factores de control. *Science*. 2002; 296: 1064-6.
 11. Campoverde M, González F. Determinación de mohos y levaduras del sistema de agua de la junta administradora de agua potable de la parroquia baños. Ecuador: Universidad de Cuenca. 2012. p. 178.
 12. Ávila S, Estupiñan S. Calidad bacteriológica del agua del humedal de Jaboque, Bogotá, Colombia. *Caldasia*. 2006; 28(1): 67-78.
 13. Tangarife V. *Penicillium* spp. Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. 2011.
 14. Méndez C, Camacho J, Echeverry S. Identificación de bacterias y hongos en el aire de Neiva, Colombia. *Rev salud pública*. 2015; 17(5): 728-737.
 15. Sánchez K, Almaguer M. Aeromicrología y salud humana. *Rev Cubana Med Trop*. 2014, 66(3): 322-337.
 16. Ríos JM. La aeromicrología y su importancia para la medicina. *Revista Médico Científica*. 2011; 24(2): 28-42.
 17. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Cladosporium* spp. DataBio, Fichas de Agentes Biológicos; 2014.
 18. Tangarife V. *Cladophialophora* spp. Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. 2011.
 19. Soto T, García RM, Franco A, Vicente J, Cansado J, Gacto M. Indoor airborne microbial load in a spanish university (University of Murcia, Spain). *Anales de biología*. 2009; 31:109-115.

20. Herrera K, Cobar O, De León J, Rodas A, Boburg S, Quan J, Pernilla L, et al. Impacto de la calidad microbiológica del aire externo en el ambiente interno de cuatro laboratorios de instituciones públicas en la ciudad de Guatemala y Bárcenas, Villa Nueva. *Revista Científica*. 2012; 22(1):30-38.

21. Romero C, Castañeda D, Acosta G. Determinación de la calidad bacteriológica del aire en un laboratorio de microbiología en la Universidad Distrital Francisco José de Caldas en Bogotá, Colombia. *NOVA*. 2016; 13 (26): 129-137.