

Diseño y evaluación de prototipos de biosensores como sistema de detección de riesgo microbiológico en colecciones de tipo orgánico en almacenamiento

Design and Evaluation of Biosensor Prototypes as a System to Detect Microbiological Risks for Organic Collections in Storage

DOI: 10.30763/Intervencion.288.v2n28.67.2023 · AÑO 14, NÚMERO 28: 148-190 · YEAR 14, ISSUE NO. 28: 148-190

Postulado/Submitted: 13.02.2023 · Aceptado/Accepted: 18.08.2023 · Publicado/Published: 16.02.2024

Lizeth Patricia Russy-Velandia

Universidad Militar Nueva Granada (UMNG),
Colombia

est.lizeth.russy@unimilitar.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7012-1025>

María Camila Patiño Ramírez

Universidad Militar Nueva Granada (UMNG),
Colombia

maria.patino@unimilitar.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3090-6658>

Corrección de estilo por/Copy editing by Alejandro Olmedo
Traducción por/Translation by Lucienne e Isabelle Marmasse

[Ir a versión
en español](#)

RESUMEN

La presente INVESTIGACIÓN aborda la implementación de prototipos de biosensores para la detección de riesgo microbiológico en ambientes con colecciones de tipo orgánico. En su primera fase se ensayaron las diferentes combinaciones de soportes, medios de cultivo e indicadores de pH para el diseño de los prototipos en el laboratorio, y en la segunda, se evaluaron los prototipos de colecciones en ambientes de almacenamiento. Durante la fase experimental se escogieron los mejores prototipos teniendo en cuenta los criterios de: tiempo de *unidades formadoras de colonias* (UFC), cantidad de UFC en los biosensores y diversidad de hongos filamentosos aislados. En la segunda fase se logró concluir que las condiciones ambientales son determinantes para el funcionamiento de los prototipos.

PALABRAS CLAVE

aire, almacenamiento, biosensores, colecciones, materiales orgánicos, microorganismos

[Go to English
version](#)

ABSTRACT

This RESEARCH addressed the implementation of biosensor prototypes to detect microbiological risks in environments with organic collections. During the first phase, different combinations of supports, culture mediums, and pH indicators were tested in order to design the prototypes in the laboratory, while the second phase saw the prototypes tested in collection storage environments. The best prototypes were chosen during the experimental phase, taking into account the criteria of *colony forming-unit* (CFU), amount of CFU in the biosensors, and the diversity of isolated fungi. During the second phase, it was possible to conclude that environmental conditions are determining factors for the prototypes' functionality.

KEYWORDS

air, storage, biosensors, collections, organic materials, microorganisms

Diseño y evaluación de prototipos de biosensores como sistema de detección de riesgo microbiológico en colecciones de tipo orgánico en almacenamiento

[Go to English version](#)

DOI: 10.30763/Intervencion.288.v2n28.67.2023 · AÑO 14, NÚMERO 28: 150-170

Postulado: 13.02.2023 · Aceptado: 18.08.2023 · Publicado: 16.02.2024

Lizeth Patricia Russy-Velandia

Universidad Militar Nueva Granada (UMNG),
Colombia

est.lizeth.russy@unimilitar.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7012-1025>

María Camila Patiño Ramírez

Universidad Militar Nueva Granada (UMNG),
Colombia

maria.patino@unimilitar.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3090-6658>

Corrección de estilo por Alejandro Olmedo

RESUMEN

La presente INVESTIGACIÓN aborda la implementación de prototipos de biosensores para la detección de riesgo microbiológico en ambientes con colecciones de tipo orgánico. En su primera fase se ensayaron las diferentes combinaciones de soportes, medios de cultivo e indicadores de pH para el diseño de los prototipos en el laboratorio, y en la segunda, se evaluaron los prototipos de colecciones en ambientes de almacenamiento. Durante la fase experimental se escogieron los mejores prototipos teniendo en cuenta los criterios de: tiempo de *unidades formadoras de colonias* (UFC), cantidad de UFC en los biosensores y diversidad de hongos filamentosos aislados. En la segunda fase se logró concluir que las condiciones ambientales son determinantes para el funcionamiento de los prototipos.

PALABRAS CLAVE

aire, almacenamiento, biosensores, colecciones, materiales orgánicos, microorganismos

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos tienen un papel importante en el biodeterioro de los bienes culturales debido tanto a los procesos de crecimiento y desarrollo como a las actividades metabólicas que eventualmente provocan alteraciones fisicoquímicas y mecánicas en su estructura, con consecuencias negativas para su preservación (Gacto y Gacto, 2011, pp. 108-110). Los ejemplares elaborados en materiales orgánicos de naturaleza proteica o celulósica se han reportado en colecciones documentales, de textiles arqueológicos, de restos óseos y momificados, de madera, de pieles, entre otras (González, Acevedo, Cases y Valenzuela, 2016, pp. 176-179); estos sustratos son nichos potenciales para el desarrollo, en condiciones ambientales favorables, de agentes de biodeterioro (Nitiu *et al.*, 2015, p. 428).

Generalmente, los procesos de biodeterioro que ocurren en las colecciones de tipo orgánico se detectan cuando están en estado avanzado (Rojas, 2019, p. 21) y las intervenciones que los encargados de su manejo y almacenamiento deben realizar en las piezas para detener la colonización y las afectaciones microbiológicas conllevan otro tipo de riesgos —algunos de ellos, de carácter estético— para los materiales (Merritt, 2007, p. 2) o la modificación de los componentes ultraestructurales, químicos y genéticos que suelen ser fuente de información para diversos estudios (Lasprilla *et al.*, 2014, pp. 25-26).

En América Latina, autores como Borrego, Herra, Paneque y Quitral han confirmado en el aire de bibliotecas, archivos y museos la presencia de bacterias y hongos, y relacionado su actividad con el deterioro de colecciones y el impacto en la salud del personal (Borrego, Herrera y Paneque, 2021, p. 10; Quitral, 2020, p. 86), mientras que, dada la importancia de conocer la calidad del aire en espacios que albergan colecciones, Villalba (2015, p. 23) ha documentado por método de impactación el estudio de biocontaminación en ellos, para establecer el índice de contaminación microbiológica ambiental (ICMA).

Entre los microorganismos reportados en esos ambientes se encuentran los géneros fúngicos *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Phoma*, *Trichoderma*, *Mycelia sterilia*, *Mucor* y *Chrysonilia* (Borrego *et al.*, 2010, p. 125; Villalba, 2015, p. 27); así como bacterias, predominantemente de los géneros *Micrococcus*, *Staphylococcus* y *Bacillus* (Skóra *et al.*, 2015, p. 395). Muchos de esos microorganismos se han reportado como causantes de biodeterioro de diversos materiales patrimoniales, por su capacidad de producir enzimas

hidrolíticas, ácidos y pigmentos que alteran las características de los materiales (Borrego *et al.*, 2010, p. 129).

De ahí que sea necesario plantear una estrategia para detectar prematuramente el riesgo por colonización microbiológica en objetos patrimoniales en almacenamiento, que incluya los parámetros de temperatura (grados Celsius) y de humedad relativa (HR) mediante el análisis de bioaerosoles que muestran la calidad del aire en los almacenes, como lo ha sugerido Valentín *et al.* (2017, pp. 102-107). No obstante, en los museos no se realizan con frecuencia estas prácticas (Valentín, 2015, p. 345) debido a los costos de contratar personal especializado y adquirir equipos de laboratorio.

Con base en lo anterior se han desarrollado investigaciones en biosensores; uno de los trabajos más relevantes es el de Nieves Valentín, en 2015, con la implementación de biosensores como sistema de alarma para detectar el crecimiento de microorganismos en vitrinas que albergan restos humanos momificados. Esos biosensores se fundan tanto en un *soporte* de alta higroscopicidad, de composición celulósica o proteica —materiales similares a los de las colecciones—, como en un *medio de cultivo*, al que se puede incorporar un producto marcador que cambie de color cuando crezcan microorganismos en condiciones de temperatura y humedad relativa favorables (Valentín, 2015, p. 346).

Los biosensores se colocan en vitrinas, armarios y muebles o espacios de almacenamiento junto a las piezas de colección, acoplados a un equipo que registra la temperatura y la humedad relativa para correlacionar con las condiciones ambientales los valores de crecimiento de microorganismos sobre el biosensor (Valentín, 2015, p. 344), influido por las microcondensaciones dentro de las vitrinas, que hidratan el medio de cultivo. El tiempo de exposición de los biosensores antes de que el medio se desnaturalice puede ser aun de tres meses (Valentín, 2015, p. 347). El sistema de alerta para corregir las condiciones ambientales de las vitrinas antes de que se produzca biodeterioro en los objetos de la colección, será la visualización de crecimiento de microorganismos sobre los biosensores.

De acuerdo con lo anterior, y teniendo en cuenta que en Colombia no hay antecedentes de investigaciones sobre biosensores, los objetos de esta investigación fueron determinar cuáles son las características, la composición y las condiciones ambientales que requieren los prototipos de biosensores para funcionar como sistema de detección de riesgo microbiológico, y qué clase de microorganismos detectan en el ambiente de almacenamiento de colecciones orgánicas.

METODOLOGÍA

Fase I. Diseño y evaluación de los prototipos en el laboratorio

Las características de los prototipos de biosensores se seleccionaron con base en algunas anotaciones hechas por Valentín (2015). El tamaño del soporte de los prototipos fue de 4 x 4 cm; basándose en lo consultado en la bibliografía y en la facilidad para adquirirlos, se escogieron tres materiales para los soportes (Valentín, 2015, p. 348; Urkullu, 2001, p. 58; Assis *et al.*, 2020, p. 5983): lino, papel crepé y pluma de ganso.

Se eligieron tres medios de cultivo líquidos: caldo Sabouraud, ampliamente usado en la recuperación de hongos filamentosos, por su composición de peptonas y glucosa (Guinea, Peláez, Alcalá y Bouza, 2005, pp. 333-334), caldo DG18 (dicloran-glicerol cloranfenicol), con baja disponibilidad de agua (Aw), que favorece el crecimiento de microorganismos xerófilos, como algunos hongos filamentosos reportados en ambientes de museos y bibliotecas (Manrique, Patiño y Gutiérrez, 2012, pp. 5-6) y, por último, caldo nutritivo como medio utilizado para el crecimiento de microorganismos con pocas exigencias nutricionales, incluyendo hongos y bacterias.

Otra característica del diseño de los prototipos de biosensores fue el indicador de pH; se propusieron cuatro, con el criterio del viraje de neutro o ligeramente básico, en un rango de 7-8 a un pH de 6.4-6.5 ligeramente ácido (Martín y Villegas, 2021, p. 111). Los indicadores escogidos fueron: azul de bromotimol, púrpura de bromocresol, tornasol y rojo de metilo. Para seleccionar el más adecuado se realizó un experimento en tubos de ensayo para todos los indicadores; en cada tubo había 3 ml de medio de cultivo líquido con alguno de los cuatro indicadores, a ese medio se adicionaron 0.5 ml de la solución de conidios de *Penicillium* sp. que contenía 4.8×10^5 conidios/ml, los tubos se incubaron durante una semana a 25° C. Las características de los biosensores seleccionadas previamente se combinaron tal como se muestra en la Figura 1.

Los prototipos se elaboraron por triplicado, junto con un control; en la autoclave se esterilizaron los soportes de lino, papel y pluma, así como los medios de cultivo con y sin indicador, y las cajas de Petri (121° C, 17 psi). Posteriormente se secaron en el horno a 70° C durante 40 minutos, hasta conseguir la deshidratación del medio de cultivo líquido (Figura 2).

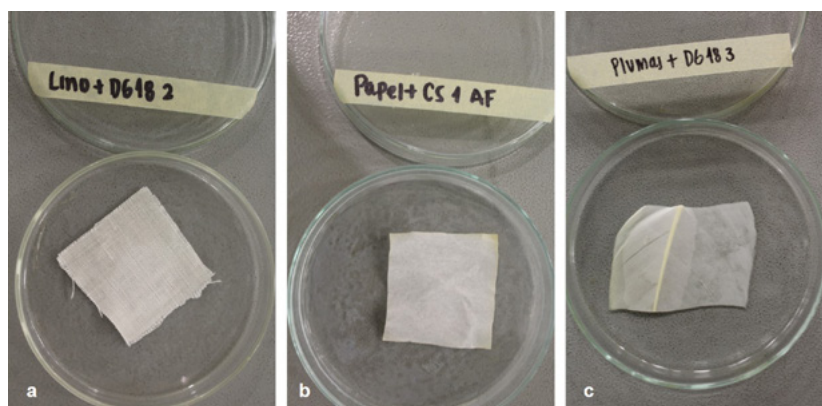
Intervención

JULIO-DICIEMBRE 2023
JULY-DECEMBER 2023

Soporte	Medio de cultivo	Indicador pH	Repeticiones	Control
Lino	Caldo Sabouraud	Con indicador	3	1
Lino	Caldo Sabouraud	Sin indicador	3	1
Lino	Caldo DG18	Con indicador	3	1
Lino	Caldo DG18	Sin indicador	3	1
Lino	Caldo nutritivo	Con indicador	3	1
Lino	Caldo nutritivo	Sin indicador	3	1
Papel	Caldo Sabouraud	Con indicador	3	1
Papel	Caldo Sabouraud	Sin indicador	3	1
Papel	Caldo DG18	Con indicador	3	1
Papel	Caldo DG18	Sin indicador	3	1
Papel	Caldo nutritivo	Con indicador	3	1
Papel	Caldo nutritivo	Sin indicador	3	1
Plumas	Caldo Sabouraud	Con indicador	3	1
Plumas	Caldo Sabouraud	Sin indicador	3	1
Plumas	Caldo DG18	Con indicador	3	1
Plumas	Caldo DG18	Sin indicador	3	1
Plumas	Caldo nutritivo	Con indicador	3	1
Plumas	Caldo nutritivo	Sin indicador	3	1

FIGURA 1. Diseño experimental para la evaluación de las características de los soportes, medios de cultivo e indicador de pH de los diferentes prototipos de biosensores (Tabla: María C. Patiño Ramírez, 31 de agosto del 2021).

FIGURA 2. Diseño de los prototipos de biosensores en cajas de Petri: a) prototipo biosensor LINO:DG18, b) prototipo de biosensor PAPEL:CS, c) prototipo de biosensor PLUMA:DG18 (Fotografía: Lizeth P. Russy-Velandia, 10 de septiembre del 2021).



Se elaboraron 108 prototipos de biosensores para exponerlos en el *Archivo Central* de la Universidad Militar Nueva Granada (UMNG) sede Cajicá, Cundinamarca, que se ubicaron en el centro del área de almacenamiento, a un metro del piso aproximadamente; exceptuado el control, las cajas de Petri que contenían los biosensores se expusieron al ambiente, y se dejaron durante una hora para que los microorganismos presentes en el aire se sedimentaran sobre

los soportes. Terminado el tiempo de exposición las cajas de Petri se cerraron y se llevaron nuevamente al laboratorio, donde se separaron en 2 sets de 54 prototipos para iniciar las pruebas en diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa.

El primer set se expuso en una cámara de curado en el laboratorio de materiales de la UMNG, en condiciones constantes de 90% HR y 23° C durante cuatro semanas, con un seguimiento semanal para hacer registro fotográfico y cuantificar las *unidades formadoras de colonias* (UFC) en los prototipos. El segundo se ubicó sobre un mesón en el Laboratorio Múltiple I de la UMNG a humedad relativa y temperatura ambiente. El promedio mensual de esas variables ambientales se obtuvo poniendo cerca de los prototipos un Datalogger marca Onset HOBO; durante cuatro semanas se realizó el mismo seguimiento fotográfico.

Tras ese periodo se llevó a cabo la descripción cualitativa y cuantitativa de las colonias que crecieron en los prototipos de los sets. Para el caso de los hongos filamentosos, se identificaron morfotipos hasta género por medio de tinción con azul de lactofenol, observación al microscopio óptico (40X) y seguimiento de claves taxonómicas (Barnett y Hunter, 1998, pp. 6-197; Franco *et al.*, 2012, pp. 137, 138, 184 y 434-437). Los prototipos de ambos sets que no presentaron crecimiento de UFC después de cuatro semanas se rehidrataron con solución salina a 0.9% p/v (Valentín, 2015, p. 348) y se incubaron a 25° C durante dos semanas, para verificar si había esporas o conidios que no se pudieron desarrollar en las condiciones en que se encontraban.

Se seleccionaron los mejores prototipos de biosensores con base en tres criterios: 1) *tiempo de aparición* de UFC de hongos filamentosos a lo largo de las cuatro semanas, registrando el momento inicial en el que se visualiza crecimiento de colonias en los biosensores; con la fórmula:

$$UFC_H \text{ / cm}^2 = \frac{N^{\circ} UFC_H \text{ en } 16 \text{ cm}^2}{\text{área del soporte (16cm}^2\text{'}}$$

donde UFC_H es el número de colonias contadas en el biosensor, 2) *cantidad de UFC* totales de hongos filamentosos, y 3) *diversidad* de hongos filamentosos en relación con el número de morfotipos diferentes aislados de cada soporte. La frecuencia de aparición (F_a) se calculó sobre el total de hongos filamentosos aislados de cada prototipo con la fórmula:

$$F_a = \frac{N^{\circ} UFC_{Morfotipo}}{Total UFC_{HS}} * 100,$$

JULIO-DICIEMBRE 2023
JULY-DECEMBER 2023

donde $N^{\circ} UFC_{Morfotipo}$ es el número de veces que apareció determinado morfotipo en el mismo soporte durante el proceso de identificación, y el *Total de* UFC_{HS} es el total UFC de hongos que crecieron en cada soporte. Los resultados se analizaron por medio de estadística descriptiva, para comparar esos parámetros en los prototipos evaluados.

Fase II. Evaluación de los prototipos en ambientes de almacenamiento de colecciones

Los prototipos que en la Fase I mostraron menor tiempo de aparición de UFC, gran cantidad acumulada de UFC y mayor diversidad de morfotipos se elaboraron nuevamente y, junto con un control, se colocaron por triplicado cerca de un Datalogger, en los lugares de almacenamiento de las colecciones seleccionadas en las ciudades de Bogotá y Medellín, y el municipio de Cajicá (Colombia). La exposición de los biosensores se hizo en varias semanas con registro fotográfico hebdomadario para monitorear el crecimiento de UFC de hongos filamentosos. Los prototipos que no presentaron crecimiento de UFC después de cuatro semanas se llevaron nuevamente al laboratorio, se rehidrataron con solución salina a 0.9% p/v (Valentín, 2015, p. 348) y se incubaron a 25° C durante dos semanas. Los resultados obtenidos se correlacionaron con las variables de humedad relativa y temperatura (HR y °C) en cada lugar de almacenamiento para analizar el comportamiento de los prototipos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase I. Diseño y evaluación de los prototipos en el laboratorio

Elección del indicador de pH

A lo largo del ensayo con los indicadores de pH, el azul de bromotimol presentó viraje de pH neutro a ácido en todos los medios de cultivo por la actividad de *Penicillium* sp.; con este indicador, en comparación con los demás indicadores, se evidenció un cambio de color más perceptible en el caldo nutritivo: por esa razón se escogió como el indicador de pH que serviría para observar el viraje de color en los soportes por la producción de los ácidos orgánicos

producto del metabolismo de los azúcares contenidos en el medio de cultivo (Arora, 2013, p. 3).

Selección de los mejores prototipos de biosensores

La selección se realizó únicamente con los datos recopilados en el ensayo del primer set de 54 prototipos ejecutado en la cámara de curado (90% HR-23° C), ya que el ensayo del segundo set de prototipos expuestos a humedad relativa y temperatura ambiente sobre el mesón del laboratorio no presentó crecimiento de UFC sino hasta el momento de la rehidratación con solución salina, al final de la cuarta semana. Después de la incubación se obtuvo crecimiento de *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Epicoccum* sp., *Paecilomyces* sp. y *Fusarium* sp., resultado que se asoció con las condiciones ambientales, que no superaron ni 70% HR ni 23° C. Las condiciones promedio mensual en el laboratorio fueron de 55.5% HR y 18.95° C, de manera que no se logró la rehidratación natural de los medios de cultivo y, por ende, no se observó aparición de colonias de hongos filamentosos.

Tiempo de aparición y cantidad de UFC/cm² de hongos filamentosos

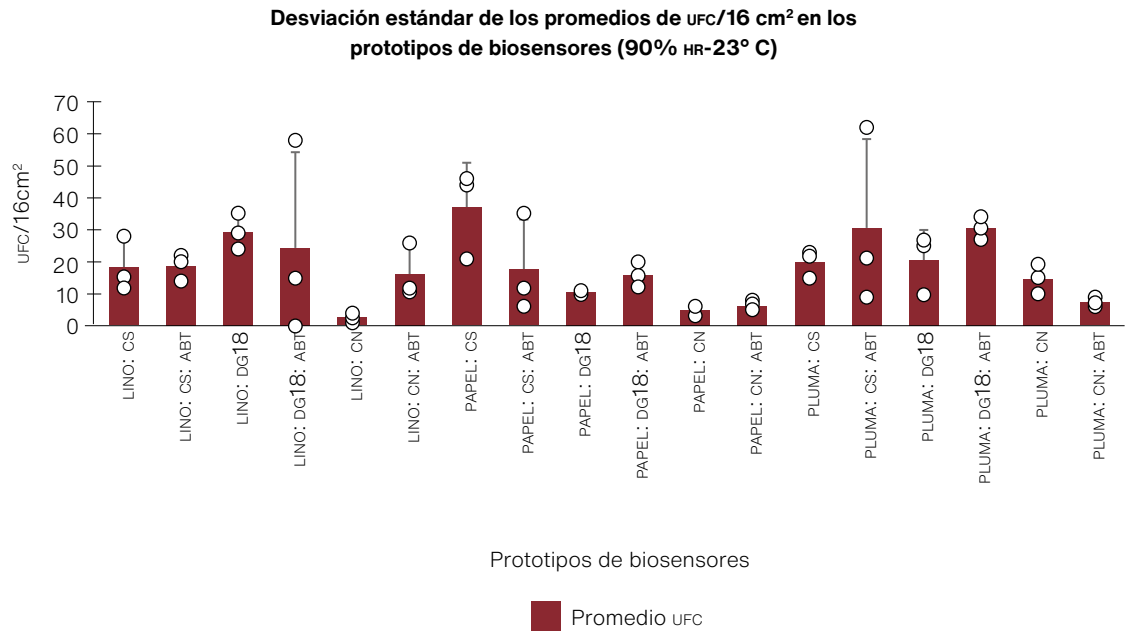
Como se mencionó anteriormente, estos criterios se evaluaron solamente para el set de prototipos que presentaron crecimiento de microorganismos. Por medio del seguimiento fotográfico, a lo largo de cuatro semanas se obtuvo el promedio de las réplicas de crecimiento de UFC/16 cm²; es decir, por el área total de los soportes (4 x 4 cm²) expuestos a 90% HR y 23° C; con esos valores se calculó la desviación estándar (Figura 3), que permitió ver qué tan dispersos estaban los datos alrededor del valor promedio de las tres repeticiones (Lee *et al.*, 2015, pp. 221-222).

Los valores altos de desviación estándar en algunos prototipos indican que, en su mayoría, los datos se extienden en un rango amplio respecto de la media (Barde y Barde, 2012, p. 113), lo cual puede estar asociado al lugar de los prototipos en la estantería durante el ensayo en la cámara de curado y su interacción con el vapor de agua circundante.

Teniendo en cuenta los criterios de tiempo de aparición de UFC y la cantidad de UFC/cm² de hongos filamentosos para la selección de los mejores biosensores, se identificó que los prototipos elaborados en PAPEL:CS, PLUMA:CS y PLUMA:CS:ABT presentaron un menor tiempo de aparición de UFC (desde la primera semana) y mostraron

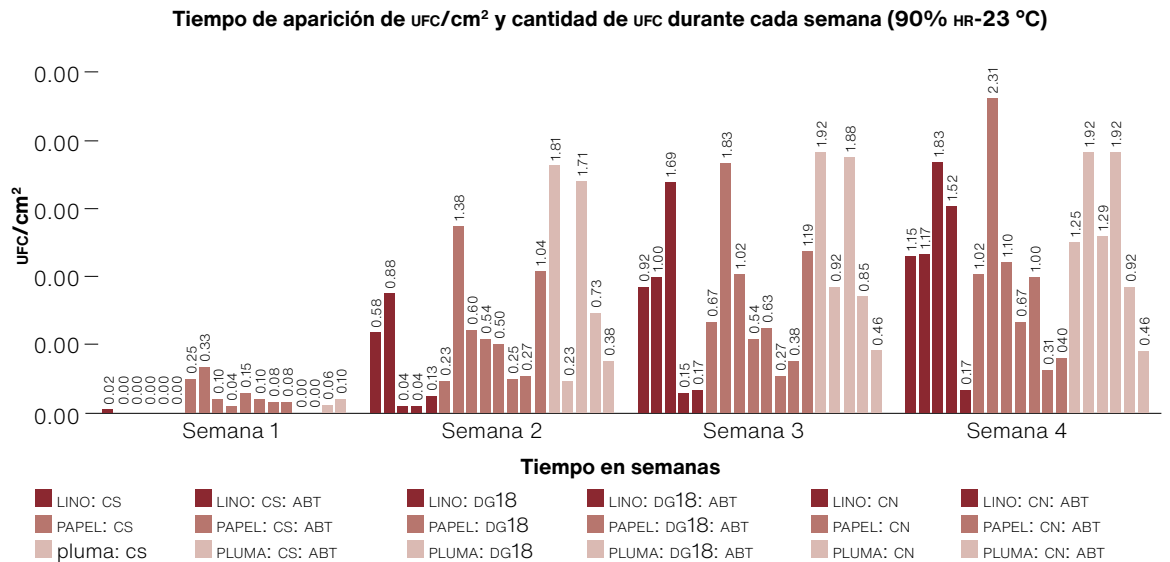
la mayor cantidad acumulada de UFC/cm² de hongos filamentosos al final de la semana 4 (Figura 4).

JULIO-DICIEMBRE 2023
JULY-DECEMBER 2023



*CS: caldo Sabouraud, CN: caldo nutritivo, DG18: caldo dicloran-glicerol cloranfenicol, ABT: azul de bromotimol

FIGURA 3. Desviaciones estándar obtenidas a partir del promedio UFC/16 cm² de las repeticiones de cada prototipo de biosensor en condiciones 90% HR-23° C en la cámara de curado (Tabla: Lizeth P. Russey-Velandia, 15 de abril del 2022).



*CS: caldo Sabouraud, CN: caldo nutritivo, DG18: caldo dicloran-glicerol cloranfenicol, ABT: azul de bromotimol

FIGURA 4. Número de UFC/cm² de cada prototipo de biosensor a lo largo de las cuatro semanas del ensayo en condiciones de 90% HR-23° C en cámara de curado (Tabla: Lizeth P. Russey-Velandia, 18 de mayo del 2022).

En el caso de los prototipos elaborados con soporte de lino, se observó que durante la primera semana en el medio de cultivo Sabouraud crecieron 0.02 UFC/cm²; sin embargo, al finalizar el ensayo se obtuvo un mayor aislamiento de hongos filamentosos en el medio de cultivo DG18, indicando que, aunque se demore una semana más en comenzar la detección de microorganismos, es posible aislar microorganismos xerófilos que suelen crecer con bajos requerimientos de agua. Con base en el análisis planteado anteriormente, los mejores biosensores fueron PAPEL:CS, PLUMA:CS, QQ total 18 morfotipos, siendo el más frecuente *Cladosporium* sp. morfotipo núm. 1 con 22.2% (Figura 5).

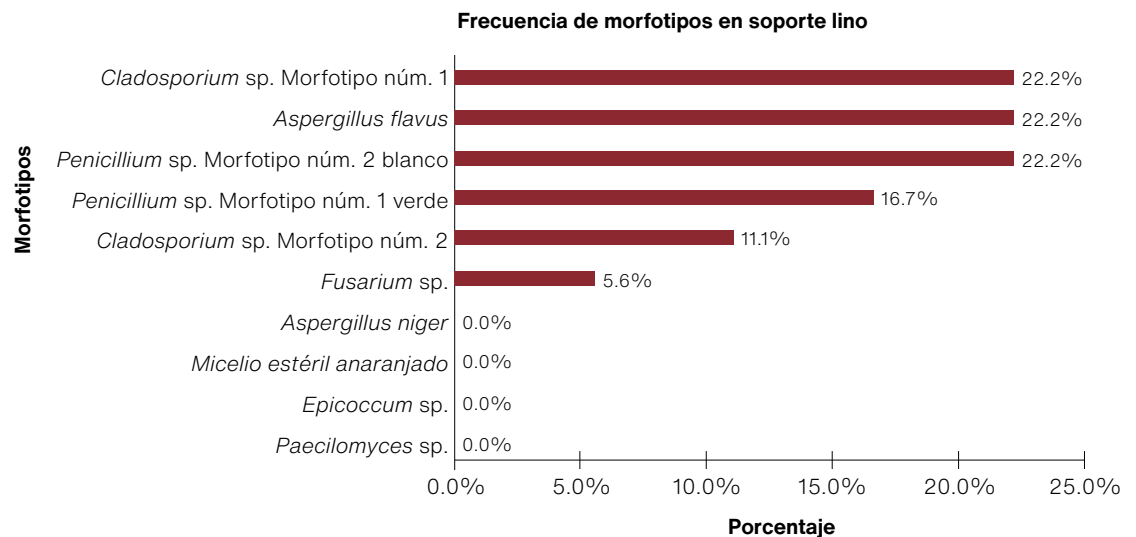


FIGURA 5. Porcentaje de frecuencia de los morfotipos identificados en el soporte lino (Tabla: Lizeth P. Russy-Velandia, 30 de mayo del 2022).

La mayor diversidad de morfotipos en el soporte de lino fue en los prototipos LINO:CS y LINO:CS:ABT, con cuatro morfotipos cada uno: LINO:DG18 y LINO:DG18:ABT presentando tres y cuatro morfotipos (Figura 6). Con base en los criterios de selección, se determinó que el prototipo con mejor capacidad de detección para el soporte lino es LINO:DG18, con un promedio acumulado de 1.83 UFC/cm², y, pese a que en ese prototipo desde la primera semana se tardó la aparición de hongos filamentosos, al final de la exposición en condiciones óptimas se obtuvo la cantidad más alta de crecimiento de colonias (Figura 7).

Para los biosensores elaborados en papel se obtuvo un total de 22 morfotipos, donde los más frecuentes fueron *Cladosporium* morfotipo núm. 1 (27.3%) y *Penicillium* sp. morfotipo núm. 1 verde (18.2%) (Figura 8).

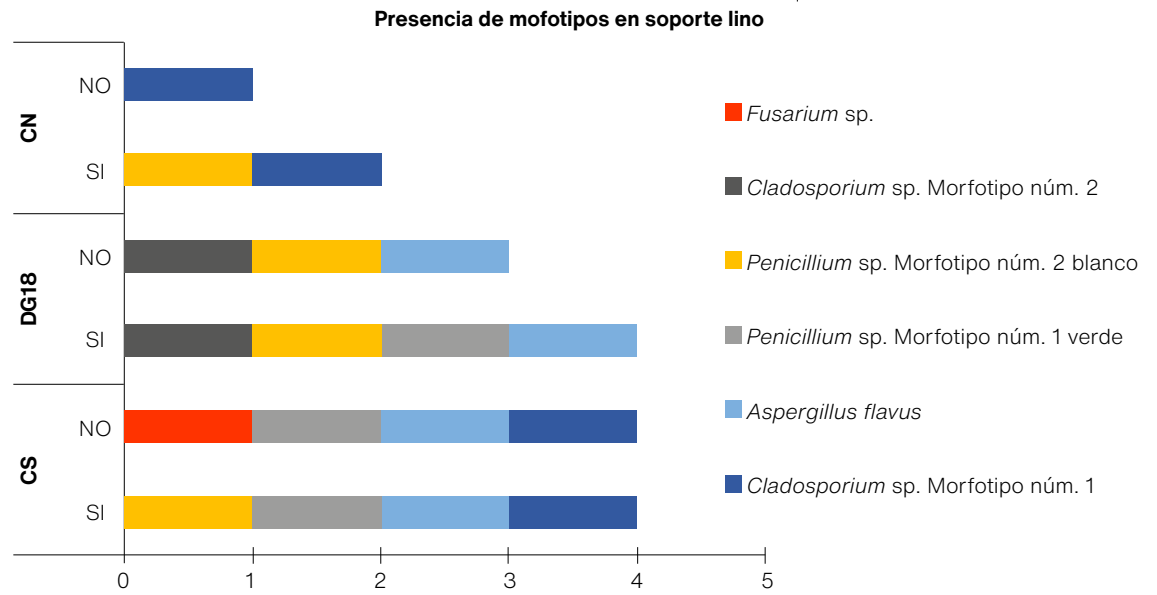


FIGURA 6. Presencia de morfotipos en el soporte de lino, de acuerdo con los tres medios de cultivo con y sin indicador (Tabla: Lizeth P. Russy-Velandia, 21 de junio del 2022).

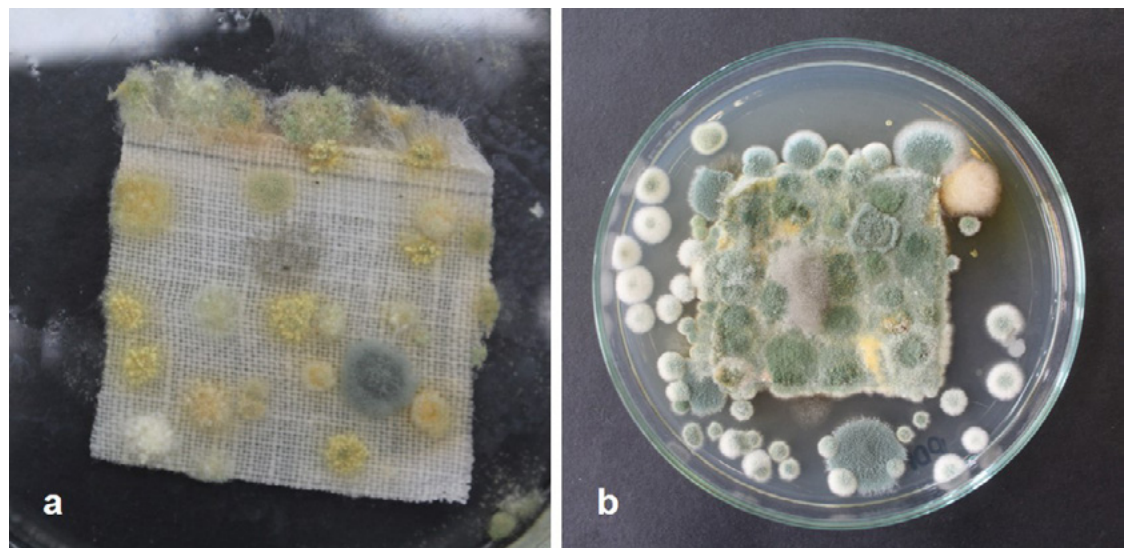


FIGURA 7. a) Prototipo de biosensor LINO:DG18, b) Soporte del mismo prototipo sembrado en medio de cultivo dicloran-glicerol cloranfenicol; se observa crecimiento de *Penicillium* sp. morfotipo núm. 2 (Fotografía: Lizeth P. Russy-Velandia, 21 de junio del 2022).

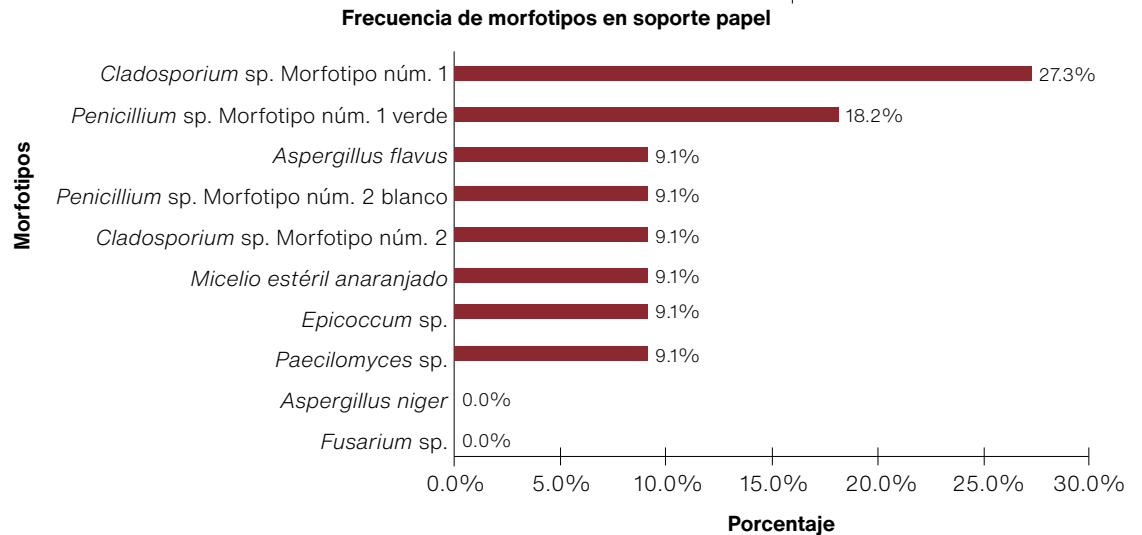


FIGURA 8. Porcentaje de frecuencia de los morfotipos identificados en el soporte de papel (Tabla: Lizeth P. Russy-Velandia, 23 de junio del 2022).

La mayor diversidad de morfotipos se encontró en los prototipos elaborados en soporte de papel crepé (PAPEL:CS con seis morfotipos) (Figura 9). Con base en los criterios de selección, se determinó que el prototipo con mejor capacidad de detección para el soporte de papel crepé es PAPEL:CS, con un acumulado de 2.31 UFC/cm² y un tiempo de aparición de UFC en poco tiempo, desde la primera semana, mostrando un acumulado de crecimiento de colonias de hongos superior en comparación con los otros prototipos al final del ensayo.

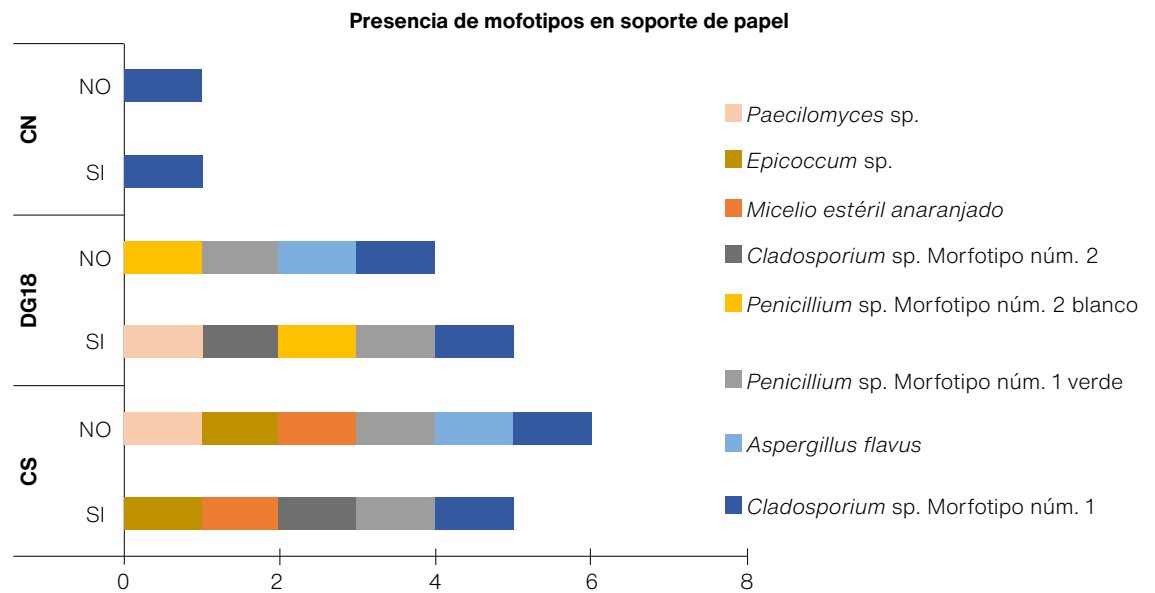


FIGURA 9. Presencia de morfotipos en el soporte de papel, de acuerdo con los tres medios de cultivo, con y sin indicador (Tabla: Lizeth P. Russy-Velandia, 23 de junio del 2022).

Los prototipos elaborados en pluma de ganso (Figura 10) presentaron las siguientes frecuencias sobre el total de 21 morfotipos: 23.8% *Cladosporium* morfotipo núm. 1, 23.8% *Aspergillus flavus*, 19.0% *Aspergillus niger*.

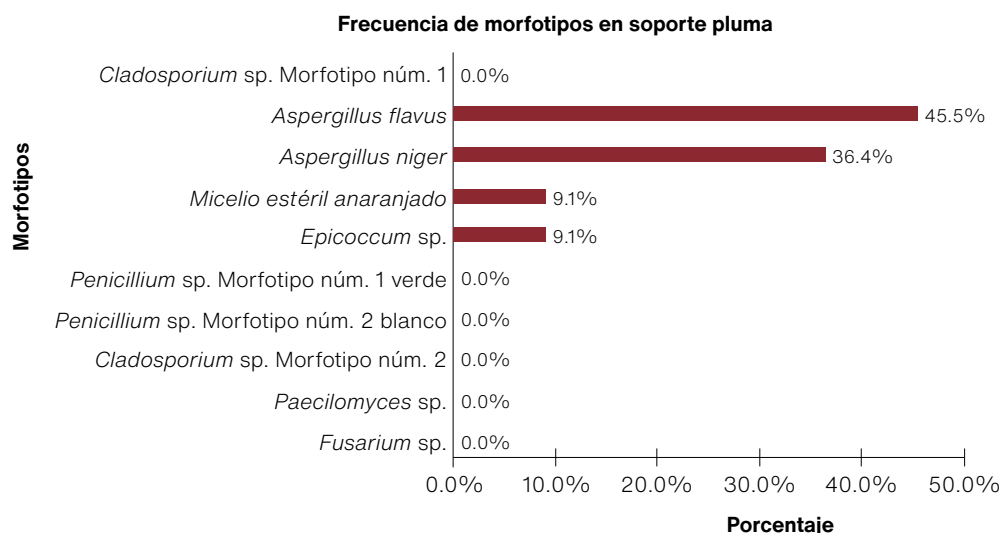


FIGURA 10. Porcentaje de frecuencia de los morfotipos identificados en el soporte de pluma (Tabla: Lizeth P. Russy-Velandia, 25 de junio del 2022).

La mayor diversidad de morfotipos encontrados fue en los prototipos PLUMA:CS y PLUMA:CS:ABT, con cinco morfotipos cada uno (Figura 11). Con base en los criterios de selección, se determinó que el prototipo con la mejor capacidad de detección para el soporte de pluma de ganso es PLUMA:CS, con un acumulado de 1.25 UFC/cm² y una rápida detección de colonias de hongos filamentosos desde la primera semana del ensayo.

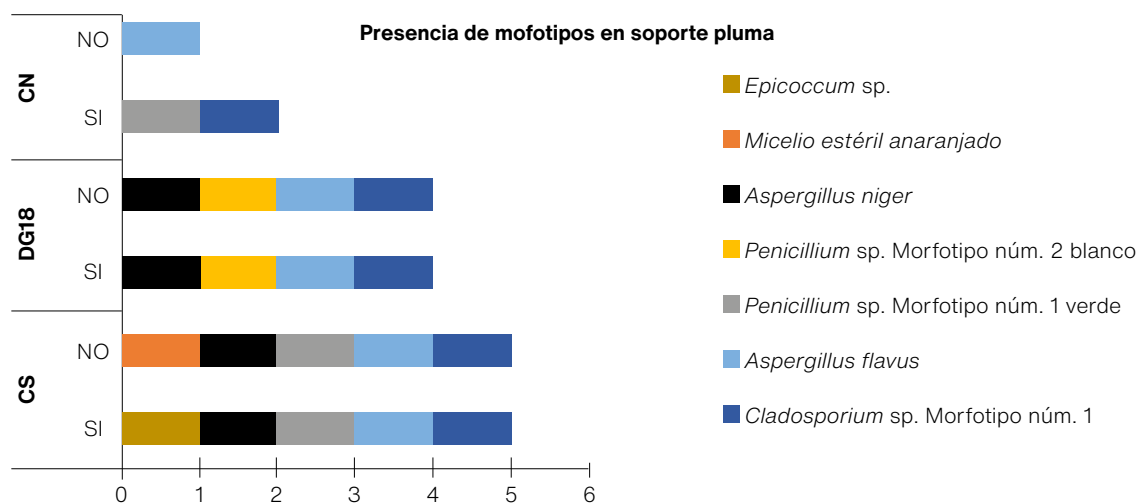


FIGURA 11. Presencia de morfotipos en el soporte de pluma, de acuerdo con los tres medios de cultivo con y sin indicador (Tabla: Lizeth P. Russy-Velandia, 25 de junio del 2022).

En el transcurso de los ensayos se concluyó que el indicador de pH no es fundamental para la elaboración de los biosensores, ya que con él o sin él, los resultados que se obtuvieron fueron muy similares, además de que no afectó el crecimiento de UFC/cm² y los cambios de color con el indicador azul de bromotimol fueron imperceptibles.

En los resultados obtenidos en la cámara de curado también se aislaron de los prototipos de biosensores elaborados con caldo nutritivo ocho morfotipos de bacterias. Éstas no eran apreciables sobre aquéllos, de modo que observar el crecimiento de bacterias sólo fue posible cuando los soportes se transfirieron y sembraron en cajas de Petri con el mismo medio de cultivo utilizado en la elaboración de los biosensores, e incubados a 37° C durante una semana en el laboratorio, por lo cual no se tuvieron en cuenta para este estudio.

Fase II. Evaluación de los prototipos en ambientes de almacenamiento de colecciones

La exposición de los mismos prototipos de biosensores se realizó en dos ciudades diferentes de Colombia con el fin de hacer una comparación entre éstas. Bogotá tiene un rango de temperatura ambiente de 14.5 a 22.5° C y un porcentaje de humedad relativa entre 77 y 83 puntos (Natarajan, Rodríguez y Vellei, 2015, p. 244); en el caso de Medellín, presenta un rango entre 23.3 y 27.2° C y 62.6% HR (Restrepo-Betancur, Peña-Serna y Martínez-González, 2019, p. 315). En la Figura 12 se resumen los lugares donde se expusieron los biosensores, el tipo de colección almacenada, así como el valor promedio mensual de la temperatura y la humedad relativa.

El prototipo expuesto en el Museo Colonial en Bogotá no mostró detección de UFC de hongos filamentosos; asimismo ocurrió con los prototipos expuestos en la UMNG, resultado que se asocia a la temperatura y la humedad relativa registradas en los tres lugares de almacenamiento (Figura 12): en todas las colecciones, por un lado no se supera la temperatura de 20° C y, pese a que la humedad relativa promedio mensual alcanza, por ejemplo, valores de 62% en la *Colección de Zoología José Ricardo Cure Hakim*, tampoco se detectó crecimiento de microorganismos. En la ciudad de Medellín el rango de valores de temperaturas que se presentó en promedio mensual fue de 22.7 a 19.5° C y una humedad relativa entre 58.7 y 57.3% (Figura 12), esto es, valores que no superan 60%, lo que impide la rehidratación del medio del cultivo en esas condiciones ambientales.

JULIO-DICIEMBRE 2023
JULY-DECEMBER 2023

Lugar de exposición	Prototipos de biosensor	Colección orgánica	T°	%HR
Museo Colonial (Bogotá)	Lino con caldo DG18	Colección mobiliario de la época colonial: tapizados de diversa naturaleza, fibras vegetales y piel de animal; también tejidos con hilos de plata, oro y cobre así como textiles pintados a mano	17.8	52.9
Universidad Militar Nueva Granada (Cajicá)	Papel con caldo Sabouraud	Archivo central: documentos, libros de contabilidad y registros en cajas de cartón	19.9	59.2
	Pluma con caldo Sabouraud	Colección de zoología José Ricardo Cure Hakim: pieles de mamíferos y aves almacenados	17.7	62.0
Museo Universitario Universidad de Antioquia (Medellín)	Lino con caldo DG18	Colección antropología: textiles de fibras vegetales y textiles arqueológicos	22.7	57.3
	Papel con caldo Sabouraud	Colección de historia: piezas de pintura, obra gráfica, fotografía, textos y libros en cajas de cartón	No se reporta	No se reporta
	Pluma con caldo Sabouraud	Colección de ciencias naturales: animales naturalizados, esqueletos, pieles de estudio entre otros especímenes	19.5	58.7

FIGURA 12. Lugar y colecciones de tipo orgánico en almacenamiento, donde se expusieron los mejores prototipos de biosensores, como sistemas de detección de riesgo microbiológico, junto con el registro mensual del promedio de temperatura y humedad relativa (Tabla: Lizeth. P. Russy-Velandia, 11 de julio del 2022).

Dado que no se presentó crecimiento de UFC de hongos filamentosos en ninguno de los lugares de almacenamiento ubicados en las diferentes ciudades, los prototipos se llevaron al laboratorio para ser rehidratados e incubados durante una semana a 25° C; de esta manera, se comprobó que en los prototipos había esporas/conidios sedimentados que no crecieron hasta tener las condiciones óptimas de temperatura y humedad. Crecieron hongos de los géneros *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*, que comúnmente se han reportado como contaminantes biológicos en espacios de interior (Khan y Karuppaiyil, 2012, pp. 406-414; Cepeda *et al.*,

2019, pp. 42-44). Los microorganismos encontrados en esos ambientes y recuperados en los biosensores coinciden con los resultados de Valentín (2015, p. 349), quien reporta la contaminación por microorganismos ambientales correspondientes a *Cladosporium* sp. y *Penicillium chrysogenum*; y de Borrego, Herrera y Paneque (2021, pp. 5-6), quienes reportan el predominio de *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium* en ambientes de almacenamiento.

Las condiciones óptimas para el crecimiento de microorganismos se han reportado entre los 25 y los 30° C y de 70 a 75% HR (Mallo *et al.*, 2017, p. 621), sin embargo, ninguno de los lugares de almacenamiento en estudio superó la temperatura promedio mensual de 25° C, y el porcentaje de humedad relativa más alto fue de 62 puntos; cuando los factores ambientales no son favorables, los microorganismos disminuyen su capacidad para iniciar procesos reproductivos (Mallo *et al.*, 2017, p. 621). Estos resultados coinciden con lo obtenido en la Fase I de los ensayos.

CONCLUSIONES

Las condiciones ambientales del control positivo en la Fase I (90% HR, 23° C) fueron determinantes para el desarrollo de hongos filamentosos sobre los prototipos de biosensores; los resultados obtenidos en la fase de campo demuestran que el uso de esos biosensores no es viable en espacios de almacenamiento abiertos con condiciones ambientales de humedad relativa en un rango entre 52.9 y 62.0% HR así como de temperatura en un rango entre 17.7 y 19.9° C. Los resultados de este estudio corroboran lo reportado por Valentín *et al.* (2017, p. 104), quienes afirman que lo más frecuente es que en vitrinas y museos con condiciones ambientales razonablemente buenas no se detecte visualmente desarrollo microbiano en los biosensores en un tiempo de 30 a 60 días.

De igual forma, posiblemente al exponer los biosensores en espacios tan abiertos se promueva la desecación de los soportes, razón por la cual Valentín propuso esta estrategia de prevención del biodeterioro aplicada a vitrinas y contenedores (Valentín, 2015, p. 347). Entre los microorganismos recuperados en los biosensores destacan los hongos *Cladosporium* sp., y *Penicillium* sp. así como algunas especies potencialmente peligrosas para la salud, como *Aspergillus flavus*; microorganismos que se encuentran frecuentemente reportados como contaminantes biológicos en espacios interiores.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos especialmente a la doctora Nieves Valentín tanto por la revisión de este documento como por su retroalimentación en el desarrollo de la investigación descrita.

REFERENCIAS

Arora, M. (2013). Cell culture media: a review. *Mater Methods*, 3(175),1-29. doi: <https://doi.org/10.13070/mm.en.3.175>

Assis, T., Pawlak, J., Pal, L., Jameel, H., Reisinger, L. W., Kavalew, D., Campbell, C., Pawlowska, L. y Gonzalez, R. W. (2020). Comparison between uncreped and creped handsheets on tissue paper properties using a creping simulator unit. *Cellulose*, 27, 5981–5999.

Barde, M. P. y Barde, P. J. (2012). What to use to express the variability of data: Standard deviation or standard error of mean? *Perspectives in Clinical Research*, 3(3), 113-116. doi: <https://doi.org/10.4103/2229-3485.100662>

Barnett, L. y Hunter, B. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi*. The American Phytopathological Society Press.

Borrego, S. F., Herrera, O. y Paneque, I. (2021). Calidad micológica ambiental en archivos cubanos y su impacto en la salud del personal. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*, 11(3), 1-17. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-01062021000300023

Borrego, S. F., Perdomo, I., Guiamet, P. y Gómez de Saravia, S. (2010). Estudio de la concentración microbiana en el aire de depósitos del Archivo Nacional de Cuba. *Augmdomus*, 1, 118-137. <https://revistas.unlp.edu.ar/domus/article/view/97/117>

Cepeda, R., Luque, L., Ramírez, D., Franco, P. y Fabra, M. (2019). Monitoreo de hongos ambientales en laboratorios y reservas patrimoniales bioarqueológicas. *Boletín Micológico*, 34(2), 33-49. doi: <https://doi.org/10.22370/bolmicol.2019.34.2.1909>

Franco, A. E., Cepero, M. C., Cárdenas, M. E., Estupiñán, N. y Restrepo, S. (2012). *Biología de hongos*. Universidad de los Andes.

Gacto, M. y Gacto, M. (2011). Los microorganismos y el arte. *Anales de Biología*, 33, 107-115. https://www.um.es/analesdebiologia/numeros/33/PDF/33_2011_13.pdf

González, C., Acevedo, N., Cases, B. y Valenzuela, G. (2016). Tejidos para la muerte: análisis textil y egiptológico de vendajes funerarios del Museo Nacional de Historia Natural. *Universum*, 31(1), 173-189. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-23762016000100011>

Guinea J., Peláez, T., Alcalá, L. y Bouza, E. (2005). Evaluation of Czapeck agar and Sabouraud dextrose agar for the culture of airborne *Aspergillus* conidia. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 53(4), 333-334. doi: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2005.07.002>

Khan, H. A. A. y Karuppaiyil, S. M. (2012). Fungal pollution of indoor environments and its management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(4), 405-426. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.06.002>

Lasprilla Rosero, L., Forero Lizarazo, L. M., Bernal Gómez, C. M., Alba Álvaro, W. R., Torres Landínez, A. Y., López Lagos, M. I., Vega Acosta, N. L., Rivera Zavala, J. C., Buitrago-Hernández, S. M., Suárez Díaz, H. A., Ortegón Meneses, L. A. y Tamayo Díaz, E. R. (2014). Identificación de agentes contaminantes de la colección del herbario de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja (Boyacá-Colombia). *Conexión Agropecuaria JDC*, 4(2), 25-44. <https://revista.jdc.edu.co/index.php/conexagro/article/view/207>

Lee, D., In, J. y Lee, S. (2015). Standard deviation and standard error of the mean. *Korean Journal of Anesthesiology*, 68(3), 220-223. doi: <https://doi.org/10.4097/kjae.2015.68.3.220>

Mallo, A. C., Nitiu, D. S., Eliades, L. A. y Saparrat, M. C. N. (2017). Fungal Degradation of Cellulosic Materials used as Support for Cultural Heritage. *International Journal of Conservation Science*, 8(4), 619-632. https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/71511/CONICET_Digital_Nro.3193845c-d6ba-4b2c-ab1f-e1903321f181_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

Manrique, A., Patiño, M. C. y Gutiérrez, A. (2012). Estudio del microbio-deterioro del fondo documental Anselmo Pineda de la Biblioteca Nacional de Colombia. *Conservamos. Guía técnica de preservación en bibliotecas*, 5(5), 3-41.

Martín, D. y Villegas, M. A. (2021). Implementación de sensores de pH para valorar la conservación preventiva en un taller de restauración de pintura. *Revista PH. Instituto Andaluz del Patrimonio Histórico*, (102), 98-116. doi: <https://doi.org/10.33349/2021.102.4608>

Merritt, J. (Agosto de 2007). Mold: prevention of microorganism growth in museum collections. *Conserve O Gram*, 3(4), 1-5. <https://www.nps.gov/museum/publications/conserveogram/03-04.pdf>

Natarajan, S., Rodriguez, J. y Vellei, M. (2015). A field study of indoor thermal comfort in the subtropical highland climate of Bogota, Colombia. *Journal of Building Engineering*, 4, 237-246. doi: <https://doi.org/10.1016/j.job.2015.10.003>

Nitiu, D., Mallo, A., Elíades, L., Saparrat, M. y Vázquez, H. (2015). Monitoreo de la carga fúngica ambiental y de otros bioaerosoles en un depósito de restos momificados del NOA del Museo de la Plata (Argentina): un estudio de caso. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 50(4), 427-436. doi: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v50.n4.12906>

Quitral, Y. A. (2020). Contaminación biológica en bibliotecas, reflexiones sobre una emergencia silenciosa. *Revista Eletronica da ABDF*, 4(número especial), 86-101. <https://revista.abdf.org.br/abdf/article/view/126/130>.

Restrepo-Betancur, L. F., Peña-Serna, C. y Martínez-González, M. F. (2019). Climate change in the city of Medellín-Colombia, throughout fifty years (1960-2010). *DYNA*, 86(209), 312-318. <https://www.redalyc.org/journal/496/49662418037/49662418037.pdf>

Rojas, L. P. (2019). *Diagnóstico de biodeterioro de la colección de anatomía de la Universidad Militar Nueva Granada y evaluación de un método para su control* [trabajo de grado]. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia. Repositorio Institucional. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/43143/Trabajo%20de%20grado%20-%20Lina%20Rojas.pdf?sequence=5&isAllowed=y>

Skóra, J., Gutarowska, B., Pielech-Przybylska, K., Stepien, L., Piwrezak, K., Piotrowska, M. y Pietrowski P. (2015). Assessment of microbiological contamination in the work environments of Museums, archives and libraries. *Aerobiología*, 31, 389-401. doi: <https://doi.org/10.1007/s10453-015-9372-8>.

Urkullu, T. (2001). *Investigación del comportamiento de algunos textiles utilizados como soporte de pintura como fuente de documentación a procesos de restauración* [tesis de Doctorado]. Universidad Complutense de Madrid.

Valentín, N. (2015). Biosensores como sistemas de alarma para detectar riesgos de biodeterioro en restos momificados. Estudios preliminares. *Boletín del Museo Arqueológico Nacional*, 33, 344-354. <http://www.man.es/man/estudio/publicaciones/boletin-info/2010-2019/2015-33-18-valentin-info.html>

Valentín, N., Sánchez, B., Durán, D., Muro, C., Herráez, Ma. I., Vilanova, O., Montero, J., Manrique, A. y Gaztañaga, A. (2017). Desarrollo de tecnologías para la detección precoz de contaminantes biológicos. Aplicaciones a vitrinas de aire y anoxia. En *Ciencia y arte VI* (pp. 101-119). Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. https://www.libreria.culturaydeporte.gob.es/libro/la-ciencia-y-el-arte-vi-ciencias-experimentales-y-conservacion-del-patrimonio_1495/

Villalba, L. S. (2015). Caso de estudio: modelo preliminar para evaluar biocontaminación en depósitos de archivo: parámetro de calidad de aire. *Conservamos. Guía técnica de la preservación en bibliotecas* 9(9), 22-30. https://www.academia.edu/20447081/Caso_de_estudio_modelo_preliminar_para_evaluar_biocontaminacion_en_depósitos_de_archivo_parámetro_de_calidad_de_aire

SOBRE LAS AUTORAS**Lizeth Patricia Russy-Velandia**

Universidad Militar Nueva Granada (UMNG), Colombia

est.lizeth.russy@unimilitar.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7012-1025>

Bióloga con experiencia en la identificación de indicadores de biodeterioro microbiológicos en restos óseos, ha dedicado su trabajo de pregrado al diseño y elaboración de prototipos de biosensores evaluados en diferentes condiciones ambientales en colecciones de tipo orgánico. Actualmente cursa la maestría en Biología Aplicada en la UMNG (Colombia), donde comienza a aplicar sus conocimientos en el área de la biotecnología.

María Camila Patiño Ramírez

Universidad Militar Nueva Granada (UMNG), Colombia

maria.patino@unimilitar.edu.co

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3090-6658>

Microbióloga industrial de la Pontificia Universidad Javeriana, magíster en Museología y Gestión del Patrimonio de la Universidad Nacional de Colombia, máster en Diagnóstico del Estado de Conservación del Patrimonio Histórico de la Universidad Pablo de Olavide (Sevilla, España), especialista en docencia universitaria. Trabaja en las líneas de cuidado y manejo de colecciones, procesos de biodeterioro de materiales y conservación preventiva mediante la integración de análisis científicos para la toma de decisiones. Consultora independiente y docente de Biología Aplicada a la Conservación del Patrimonio y Microbiología Ambiental en la UMNG (Colombia).