



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“AMBIENTES DOMÉSTICOS DE LA COSTA
ECUATORIANA COMO RESERVORIOS DE LEVADURAS
POTENCIALMENTE PATÓGENAS”**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES: EVELYN JOHANNA SUÑA SOLANO

BRYAN FABRICIO VEGA LEMA

DIRECTORA: LIC. LENYS MARGARITA BUELA SALAZAR, MSC.

CUENCA - ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“AMBIENTES DOMÉSTICOS DE LA COSTA
ECUATORIANA COMO RESERVORIOS DE LEVADURAS
POTENCIALMENTE PATÓGENAS”**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES: EVELYN JOHANNA SUÑA SOLANO

BRYAN FABRICIO VEGA LEMA.

DIRECTORA: LIC. LENYS MARGARITA BUELA SALAZAR, MSC.

CUENCA - ECUADOR

2024

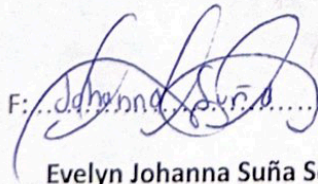
DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Evelyn Johanna Suña Solano portador(a) de la cédula de ciudadanía N° 0350274965. Bryan Fabricio Vega Lema portador(a) de la cédula de ciudadanía N° 0302323936. Declaramos ser los autores de la obra: "Ambientes domésticos de la costa ecuatoriana como reservorios de levaduras potencialmente patógenas", sobre la cual nos hacemos responsables sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaramos que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximamos a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaramos finalmente que nuestra obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también nos responsabilizamos y eximamos a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, 16 de octubre de 2024

F: .....
Evelyn Johanna Suña Solano

C.I. 0350274965

F: .....
Bryan Fabricio Vega Lema

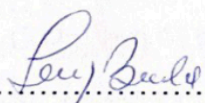
C.I. 0302323936

Certificación del Tutor

Lic. Lenys Buela Salazar, MSc
**DOCENTE DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR.
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**
De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado **“AMBIENTES DOMÉSTICOS DE LA COSTA ECUATORIANA COMO RESERVORIOS DE LEVADURAS POTENCIALMENTE PATÓGENAS”**, realizado por **SUÑA SOLANO EVELYN JOHANNA**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, Agosto 2024

Firma.....

Lic. Lenys Buela Salazar, MSc

C.I.:

Certificación del Tutor

Lic. Lenys Buela Salazar, MSc
DOCENTE DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR.
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA
De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado “**AMBIENTES DOMÉSTICOS DE LA COSTA ECUATORIANA COMO RESERVORIOS DE LEVADURAS POTENCIALMENTE PATÓGENAS**”, realizado por **VEGA LEMA BRYAN FABRICIO**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, Agosto 2024

Firma.....

Lic. Lenys Buela Salazar, MSc

C.I.: ...0960197929

DEDICATORIA.

Evelyn Johanna Suña Solano y Bryan Fabricio Vega Lema, se dedican este trabajo de grado a sí mismos, por cada paso dado en este camino de aprendizaje, cada desafío enfrentado y cada momento de perseverancia que nos ha llevado hasta aquí. Este trabajo es testimonio de nuestro compromiso, pasión y crecimiento personal. Que este logro sea solo el inicio de un viaje lleno de nuevas metas y conquistas.

AGRADECIMIENTOS:

Agradecemos sinceramente a todos nuestros docentes, quienes nos han guiado y apoyado a lo largo de este viaje académico. Su dedicación, paciencia y sabiduría han sido fundamentales para nuestro crecimiento personal y profesional.

También queremos expresar nuestro profundo agradecimiento a nuestros padres, cuyo amor incondicional y apoyo constante nos han brindado la fuerza necesaria para superar cada desafío. Sin su aliento y motivación, no estaríamos aquí hoy.

Este logro es el resultado de un esfuerzo colectivo, y estamos eternamente agradecidos por tenerlos en nuestras vidas.

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR
FACULTAD DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

Ambientes domésticos de la Costa Ecuatoriana como reservorios de levaduras potencialmente patógenas.

Evelyn Johanna Suña Solano y Bryan Fabricio Vega Lema

Palabras clave: Ambientes domésticos, levaduras, patógenos, termorresistencia.

Resumen

Introducción: Las enfermedades infecciosas son una de las principales causas de mortalidad mundial, transmitidas por microorganismos presentes en entornos humanos. La urbanización ha alterado la exposición humana a estos microorganismos, afectando la salud inmunológica. Los ambientes domésticos, como lavaplatos y desagües, son reservorios de microorganismos extremófilos, capaces de sobrevivir en condiciones extremas.

Objetivo: Determinar la diversidad de levaduras cultivables que colonizan ambientes domésticos extremos en la región litoral de Ecuador.

Metodología: Se recolectó muestras del biofilm, desagüe y secador de platos, seguida del aislamiento primario que fue cultivado en Sabouraud Dextrosa. Cada aislado fue caracterizado de forma morfológica, fisiológica y bioquímica. Previo a la caracterización se evaluaron los factores de virulencia y, a partir de técnicas moleculares se logró identificar la especie a la cual pertenece.

Resultados: Se seleccionaron 10 departamentos, de los cuales se obtuvieron 28 aislados de cepas microbianas. A partir de estas cepas se tomaron 12 levaduras y se determinaron los diferentes factores de virulencia, entre los cuales se incluyeron hemolisina, proteasa y lipasa. La amplificación de la región ITS mediante PCR reveló que las cepas más comunes eran de los géneros *Candida* *metapsilosis* y *Kodamaea ohmeri*.

Conclusión: Se destaca la prevalencia de levaduras patógenas en ambientes domésticos, lo cual tiene implicaciones para la salud humana en la región costera de Ecuador.

Suña Solano, Evelyn Johanna; Vega Lema, Bryan Fabricio.

ACADEMIC DEPARTMENT OF HEALTH AND WELLNESS

FACULTY OF BIOCHEMISTRY AND PHARMACY

Domestic Environments of the Ecuadorian Coast as Reservoirs of Potentially Pathogenic Yeasts

Evelyn Johanna Suña Solano and Bryan Fabricio Vega Lema

Keywords: Domestic environments, yeasts, pathogens, thermoresistance

Abstract

Introduction: Infectious diseases are one of the leading causes of global mortality, transmitted by microorganisms in human environments. Urbanization has altered human exposure to these microorganisms, affecting immune health. Domestic environments, such as dishwashers and drains, serve as reservoirs of extremophile microorganisms capable of surviving in extreme conditions.

Objective: To determine the diversity of cultivable yeasts that colonize extreme domestic environments in the coastal region of Ecuador.

Methodology: Samples were collected from biofilms, drains, and dish dryers, followed by primary isolation, which was cultured on Sabouraud Dextrose agar. Each isolate was characterized morphologically, physiologically, and biochemically. Before characterization, virulence factors were evaluated, and molecular techniques were used to identify the species to which it belongs.

Results: Ten locations were selected, from which 28 microbial strain isolates were obtained. From these strains, 12 yeasts were identified, and various virulence factors were determined, including hemolysin, protease, and lipase. PCR amplification of the ITS region revealed that the most common strains belonged to the genera *Candida metapsilosis* and *Kodamaea ohmeri*.

Conclusion: The prevalence of pathogenic yeasts in domestic environments is highlighted, which has implications for human health in the coastal region of Ecuador.

ÍNDICE

ÍNDICE.....	9
I. INTRODUCCIÓN.....	11
CAPÍTULO I.....	12
PLANTEAMIENTO TEÓRICO.....	12
I.1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	13
I.2.- JUSTIFICACIÓN.....	14
I.2.1.- PREGUNTA CIENTÍFICA:.....	15
I.3.- OBJETIVOS.....	15
I.3.1.-Objetivo General:.....	15
I.3.2.-Objetivos Específicos:.....	15
I.4.- MARCO TEÓRICO.....	16
I.4.1.- Antecedentes:.....	20
CAPÍTULO II.....	24
METODOLOGÍA.....	24
II.1- Tipo de investigación.....	25
II.2.- Población y muestra.....	25
II.2.1. Universo - Población:.....	25
II.2.2 Muestreo y muestra: Se establecieron puntos de muestreo en tres áreas del lavaplatos: desagüe, biofilm, y secador.....	25
II.3- Criterios de selección:.....	25
II.3.1 Criterios de inclusión: Se incluyó a departamentos localizados en la región litoral, con características urbanas similares (clase media), los cuales contaban con lavaplatos de acero inoxidable.....	25
II.3.2 Criterios de exclusión: Se excluyó los departamentos no pertenecientes a la zona y aquellos que no contenían un lavaplatos manual.....	25
II.4.- Definición y clasificación de las variables.....	25
II.5- Metodología.....	33
Aislamiento primario.....	33
Medios de cultivo.....	34
Evaluación macroscópica y microscópica de los aislados de levaduras.....	34
Estimación de la temperatura óptima de crecimiento.....	34
Expresión de factores de virulencia.....	35
Extracción de ADN.....	36
Amplificación de la región ITS.....	36
Electroforesis de ADN en geles de agarosa.....	36
Secuenciación y análisis de secuencias con BLAST-N.....	37

Ubicación filogenética.....	37
Procesamiento, análisis, resumen y presentación de la información (Tablas, Gráficos, Técnicas de análisis estadístico).....	37
Procedimientos éticos.....	37
CAPÍTULO III.....	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
1. Descripción de los sitios de muestreo.....	39
2. Aislamiento primario: Descripción.....	40
3. Purificación de aislados.....	41
4. Selección de aislados para estudios posteriores.....	44
5. Crecimiento de levaduras frente al efecto de la temperatura.....	47
6. Expresión de los factores de virulencia.....	51
a. Actividad hemolisina.....	51
b. Actividad proteasa.....	52
c. Actividad fosfolipasa.....	53
d. Capacidad de penetración en el sustrato.....	54
7. Amplificación por PCR de la región ITS del genoma de los aislados.....	57
8. Análisis de secuencias (Blast-N).....	58
Discusión.....	61
CAPÍTULO IV.....	65
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	65
IV.1.- CONCLUSIONES.....	66
IV.2.- RECOMENDACIONES.....	67
BIBLIOGRAFÍA.....	68
ANEXOS.....	73
Anexo 1. Aislados puros.....	74
Anexo 2. Selección de las cepas y purificación.....	74
Anexo 3: Crecimiento de las levaduras a diferentes temperaturas.....	75
Anexo 4: Capacidad de penetración de levaduras vistos bajo el microscopio con lente óptico de 4x, 10x y 40x.....	76
Anexo 5: Análisis de secuenciación.....	80
Anexo 6: Secuencias y espectroferograma de los 12 genomas aislados.....	86

I. INTRODUCCIÓN

Entre las causas más frecuentes de mortalidad en todo el mundo, son las enfermedades infecciosas, las mismas que pueden ser transmitidas, por el contacto directo de un conjunto de comunidades microbianas, que incluye bacterias, hongos, y virus, presentes en los entornos que son ocupados día a día por la humanidad (1).

La proliferación de estos microorganismos se debe a múltiples factores, como el diseño del edificio, la ocupación, la presencia de animales no humanos y la proximidad a espacios verdes.

La urbanización ha sido una de las causas que ha modificado la exposición humana a microorganismos, que dependen cada vez más del microbioma interior, lo que ha suscitado preocupaciones sobre la salud inmunológica humana, en parte debido a la hipótesis de la higiene, estos microorganismos toman como reservorios ambientes domésticos como: lavaplatos manuales, desagüe y biofilm.

En los últimos años se ha descubierto que estos ambientes se encuentran colonizados por microorganismos extremófilos que son un tipo de microorganismos que se caracterizan por su capacidad para sobrevivir y crecer en ambientes extremos, como las altas y bajas temperaturas, pH ácido o alcalino, elevada presión hidrostática, altas concentraciones de sal, entre otros (2).

La interacción entre el microbioma interior, que incluye estas levaduras extremófilas, y la salud humana son un área que requiere una mayor comprensión, por lo que se realizó un estudio en diez departamentos con las mismas características urbanas, dando como resultado la aparición de diferentes morfotipos de levaduras.

CAPÍTULO I
PLANTEAMIENTO TEÓRICO.

I.1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.

Los ambientes domésticos están colonizados por una amplia variedad de microorganismos, los cuales se desarrollan a medida que los electrodomésticos son utilizados, dando lugar a condiciones adecuadas para la proliferación de dichos microorganismos. Los extremófilos se clasifican en diferentes categorías según el tipo de condición extrema a la que se adaptan, como termófilos (colonizan ambientes a altas temperaturas para multiplicarse activamente), acidófilos y alcalófilos (se multiplican en ambientes muy ácidos o muy alcalinos), y psicrófilos (se multiplican activamente a bajas temperaturas).

En algunos casos, estos ambientes presentan características ambientales “extremas” que favorecen la colonización, multiplicación y diseminación de microorganismos llamados “extremófilos” (“amantes de los extremos”). Por ejemplo, los baños y las cocinas son ambientes particularmente propicios para el desarrollo de estos extremófilos debido a la presencia de condiciones favorables como la humedad intermitente, las fluctuaciones de la temperatura y la presencia de detergentes y desinfectantes (1).

Entre estos microorganismos extremófilos destacan los hongos levaduriformes, y particularmente aquellos potencialmente patógenos para el ser humano, entre los cuales se destacan especies como *Exophiala dermatitidis*, *Candida parapsilosis*, *Exophiala phaeomuriformis*, *Exophiala oligosperma* y *Sarocladium killiense* (2).

Estas levaduras pueden propagarse y proliferar en condiciones relativamente desfavorables para cualquier otro microorganismo debido a su extraordinaria capacidad de supervivencia y a la posibilidad de expresar factores de virulencia como, por ejemplo, adhesinas, enzimas hidrolíticas, biopelículas etc. Es por ello que se les considera una potencial amenaza para la salud de quienes habitan dichos ambientes domésticos, y que están expuestos al contacto –directo o indirecto- con estos patógenos potenciales (1).

I.2.- JUSTIFICACIÓN

Pese a que en otras latitudes ya se ha establecido su presencia en entornos domésticos y se han descrito algunas de sus características, existen escasos estudios sobre levaduras extremas en Latinoamérica. En efecto, las investigaciones sobre este tema se desarrollan desde aproximadamente 10 años, particularmente en el contexto de la región del Mediterráneo europeo. Por otra parte, las características ambientales condicionan el crecimiento de diversos tipos de levaduras por lo que se puede encontrar variaciones de especies entre una región y otra.

Es por ello que se hace necesario generar la evidencia científica necesaria para contribuir a conocer mejor la dimensión de dicha problemática en nuestro país. Esto permitirá, así como evaluar la probabilidad de riesgos la cual se expone la población especialmente personas inmunocomprometidas, al tener un contacto diario con dichas levaduras extremófilas; de igual forma se podrán sugerir estrategias para establecer un adecuado control de estos microorganismos.

La identificación de estas levaduras extremófilas cultivables, presentes en ambientes domésticos, ayudará al análisis y la generación de conocimientos acerca de sus características, naturaleza y comportamiento. Su posterior clasificación contribuirá a diferenciar las especies patógenas de las que no lo son; con ello se podrá establecer un correcto diagnóstico y tratamiento en los casos en los que se produzcan afecciones a la salud.

Con la información que se obtendrá se podrá analizar el nivel de riesgo que representa la exposición de las personas a estos microbiomas domésticos extremos; también se podrá evitar la propagación y desarrollo de estas levaduras extremófilas. De igual manera, se podrán proponer las estrategias a seguir para la prevención de patologías causadas por estos microorganismos.

Los resultados obtenidos durante la investigación generarán conocimientos más concretos y específicos, que servirán de punto de partida para futuras investigaciones sobre el posible uso de estas levaduras en el campo biotecnológico, así como los mecanismos de virulencia que pueden expresar este tipo de microorganismos.

I.2.1.- PREGUNTA CIENTÍFICA:

¿Están colonizados los ambientes domésticos extremos de viviendas ubicadas en la región de la costa ecuatoriana por levaduras?

¿Cuán patógenos podrían llegar a ser estos microorganismos?

¿A qué especies pertenecen estas levaduras?

¿Cuáles son las características fenotípicas específicas que distinguen a estas levaduras?

I.3.- OBJETIVOS

I.3.1.-Objetivo General:

Determinar la diversidad de levaduras cultivables que colonizan ambientes domésticos extremos en la región litoral de Ecuador.

I.3.2.-Objetivos Específicos:

Aislar levaduras a partir de ambientes domésticos extremos en la costa ecuatoriana.

Caracterizar los aislados de levaduras, a nivel macroscópico y microscópico, tomando en cuenta su morfología, fisiología y bioquímica.

Determinar la patogenicidad potencial de estos aislados de levaduras domésticas.

Identificar a qué especies pertenecen los aislados obtenidos y caracterizados en las etapas anteriores.

Determinar las relaciones filogenéticas entre estos aislados y otras especies conocidas de hongos levaduriformes.

I.4.- MARCO TEÓRICO.

Los microorganismos extremo tolerantes y extremófilos son seres vivos que han evolucionado y se han adaptado a ambientes desfavorables, considerando como “favorable” todo aquello que –como seres humanos- nos resulta familiar: un rango de temperaturas entre 15 y 35°C, un pH neutro, la presencia de humedad y agua líquida, etc. Evidentemente, se trata de una categoría “antropocéntrica”. Los extremófilos, por el contrario, no solo tienen la capacidad de multiplicarse y sobrevivir bajo condiciones “adversas” o “extremas” (elevada presión hidrostática, altas o bajas temperaturas, escasa humedad, elevada radiación electromagnética, alcalinidad, acidez etc.), sino que lo hacen de manera muy eficiente y rápida (9).

Usualmente, encontramos este tipo de microorganismos en hábitats como glaciares, fuentes termales, desiertos, en el fondo del océano, etc. Si bien estos ambientes son los que consideramos “extremos” por excelencia, en los últimos años se han descrito otro tipo de ambientes extremos en el interior de nuestros hogares: los denominados “ambientes extremos domésticos”. Entre estos encontramos a los calefones, las estufas, los lavaplatos, las lavadoras, las duchas y los lavamanos. Se trata de ambientes que están colonizados por todo tipo de microorganismos, muchos de ellos extremófilos. Ampliar la información sobre estas formas de vida nos puede dar un indicio de la posible patogenicidad que pueden presentar, los factores de virulencia que expresan y la forma en la que evolucionan para adaptarse a un ambiente hostil (9).

La presencia de microorganismos extremo tolerantes o extremófilos en los entornos domésticos mencionados se explica, principalmente, por la contaminación que se origina a través del agua corriente, los alimentos, el aire disperso, los animales domésticos, las personas (habitantes) y las partículas de polvo que actúan como vectores para la diseminación e inoculación (9).

Todo tipo de microorganismos forman parte de estas comunidades microbianas domésticas. Entre las especies de hongos que frecuentemente se encuentran en el polvo doméstico podemos destacar a aquellas pertenecientes a los géneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* (3). Se ha establecido que las colonias de organismos fúngicos alcanzan concentraciones de hasta 10^9 células por gramo de polvo. La variación entre

especies depende, principalmente, de la fuente de contaminación de la cual proviene, y del clima de la región en la que están establecidos (10).

Otra de las principales fuentes de contaminación, mediante la cual varios microorganismos logran ingresar al interior de casas y edificios, es el suministro de agua potable. Al ingresar a través del grifo, los microorganismos logran establecer colonias en el lavaplatos, pero también en electrodomésticos como lavaplatos automáticos y lavadoras. Especies de los géneros *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Phoma*, *Candida* spp., *Cystobasidium* spp, entre otros, están presentes en el agua potable proveniente de fuentes superficiales; por otro lado, en el agua potable proveniente de fuentes subterráneas podemos encontrar especies de los géneros *Cladophialophora*, *Exophiala*, *Rhinochlamydia* (11).

La interacción de factores externos, como los tratamientos físico-químicos empleados para potabilizar el agua, y factores internos, como la temperatura, el uso de productos de limpieza que contienen lejía y peróxido de hidrógeno, la desecación o la variación del pH, han desempeñado un papel fundamental en la adaptación y evolución de especies de levaduras en entornos domésticos extremos (11).

Estas especies pueden llegar a desarrollar mecanismos capaces de biotransformar compuestos formados por carbono e hidrógeno, incluso fenoles; en otros casos, los microorganismos se adaptan de manera que llegan a adquirir termotolerancia, y una mayor resistencia al estrés oxidativo. Estas características tienen una correspondencia directa con la patogenicidad en seres humanos, pues en nuestros órganos y tejidos se encuentran compuestos y condiciones similares a los que están presentes en los mencionados ambientes. Es por ello que muchos de estos extremófilos se comportan en ocasiones como microorganismos oportunistas, llegando a causar alergias e infecciones superficiales de piel uñas y cabello en la población vulnerable y en personas inmunocomprometidas (11).

En el caso particular de los lavaplatos, se creía que las posibilidades de un desarrollo microbiano eran muy limitadas, debido a las elevadas temperaturas (cerca de los 80 °C) y al uso de productos de limpieza (detergentes y desinfectantes); sin embargo, se ha evidenciado la presencia de colonias de levaduras en las gomas de estos artefactos (11).

El predominio en la mayoría de los casos es de las levaduras negras, pertenecientes a las especies *E. dermatitidis* y *E. phaeomuriformis*. Se trata de especies de patógenos oportunistas, caracterizadas por su termotolerancia, su gran eficiencia para aprovechar los escasos nutrientes y recursos de su entorno. Además, son capaces de resistir ácidos, elevadas concentraciones de sal y estrés mecánico. Finalmente, cuentan también con la capacidad para biotransformar surfactantes presentes en productos detergentes (3,4, 11).

E. dermatitidis, la especie más virulenta del género, se caracteriza por tener un intenso color marrón (dematiáceo, debido a la producción de melanina), presentarse tanto en la forma de levadura como de filamentos, y tener preferencia por las altas temperaturas. Su patogenicidad se atribuye principalmente a tres factores de virulencia:

i.

en primer lugar, la formación de biopelículas con gran cantidad de biomasa que favorece su adhesión y colonización de tejidos;

ii.

En segundo lugar, la presencia de melanina en su pared celular que le posibilita la resistencia a antifúngicos y le permite evadir las defensas del hospedador.

iii.

Por último, la síntesis de material extracelular que asemeja a una cápsula.

Esta especie es la responsable de causar una amplia gama de afecciones en individuos inmunocompetentes, entre las cuales destacan infecciones pulmonares, micetoma eumicótico, feohifomicosis, y también infecciones cutáneas que pueden agravarse y diseminarse hacia otros órganos (6).

En los ambientes domésticos extremos también se evidencia la presencia de *C. parapsilosis* (14). La importancia actual de los hongos del género *Candida* es muy destacada, puesto que son los responsables de las infecciones fúngicas más comunes a nivel mundial. Por ejemplo, en hospitales de países desarrollados representa alrededor del 15 % al 20 % de todas las afecciones de la sangre. En Latinoamérica la candidemia

(invasión de la sangre por parte de levaduras del género *Candida*) llega a ser mortal en el 41 y 54% de los casos (6).

Candida parapsilosis, *Candida orthosilopsis* y *Candida metapsilosis* son las especies que forman parte del complejo de hongos denominado *Candida parapsilosis sensu lato*. Estas levaduras llegan a causar afecciones a recién nacidos y se asocia principalmente a infecciones producidas por catéteres y alimentación parenteral en adultos. La incidencia de estas especies se ha elevado considerablemente en los últimos años, convirtiéndose en la tercera causa más frecuente de candidemia. En Chile, en particular figura como la segunda causa más común (13,14).

Entre otras especies frecuentes en los ambientes domésticos extremos destaca también *Rhodotorula mucilaginosa*, la cual se describe como un microorganismo mucóide de forma ovalada, incapaz de desarrollar pseudohifas. Esta especie se encuentra formando parte de microflora de las membranas mucosas, uñas, piel y tracto respiratorio superior; también se ha descrito su presencia en el suelo, aire y aparatos domésticos como cepillos de dientes y cortinas de duchas (2) (15) (16).

Si bien no es considerada como un patógeno virulento, la importancia de *R. mucilaginosa* radica en que puede causar infecciones en personas inmunodeficientes, que presenten catéteres intravenosos, o en pacientes con insuficiencias renales sometidos a diálisis. Además, la especie se ha relacionado con infecciones oftálmicas, meningitis y fungemia (15) (16).

Fusarium spp, es otro de los microorganismos fúngicos más comunes en los lavaplatos. Es un género constituido por especies de hongos filamentosos que se encuentran principalmente en el suelo y las plantas. Estos hongos son considerados como patógenos oportunistas debido a su habilidad para crecer a una temperatura de 37°C. En pacientes inmunodeprimidos, llegan a ocasionar infecciones sistémicas que presentan un alto riesgo de mortalidad (17).

En estos ambientes domésticos extremos se encuentran también los hongos *Aureobasidium melanogenoum*, y *Magnusiomyces capitatus*. Este último es un hongo patógeno oportunista que se encuentra en el suelo, la arena de la playa, las heces de aves de corral y la pulpa de madera. Pertenece al orden Saccharomycetales, y es

considerado una especie emergente en términos de infecciones fúngicas. Los pacientes con neutropenia, neoplasias hematológicas en tratamiento de quimioterapia, corticosteroides o antibióticos de amplio espectro tienen un alto riesgo de contraer infecciones causadas por hongos de esta especie.

También se han reportado factores predisponentes como cirugía, abuso de drogas, catéteres y tratamiento con dosis bajas de azoles (18).

La presencia inicial de *M. capitatus* en el organismo puede derivar hacia una infección invasiva y la propagación a través del torrente sanguíneo, dando lugar a diversos tipos de infecciones. La tasa de mortalidad relacionada con esta infección es elevada, sin importar el tratamiento antifúngico administrado. Además, se han evidenciado algunos casos de infecciones superficiales y sistémicas en pacientes inmunocomprometidos (18).

Estas levaduras extremo resistentes oportunistas componen la microflora en los lavaplatos. Debido a su capacidad de adaptación, tienden a formar biopelículas, las cuales favorecen su viabilidad al ejercer una función protectora contra agentes desinfectantes, compuestos antifúngicos y daño físico por estrés mecánico. Esta capacidad de formar una matriz protectora constituye un importante factor de virulencia que juega en contra de los habitantes humanos del mismo entorno (3) (4) (6).

Una vez colonizados, los lavaplatos se convierten en una fuente de contaminación para otros objetos, incluyendo platos, cubiertos y superficies, ya que estas levaduras pueden propagarse a través de bioaerosoles. Además, también existe la posibilidad de que contaminen las manos de las personas que manipulan estos dispositivos, lo que representa un medio potencial para el desarrollo de infecciones fúngicas (4) (19).

I.4.1.- Antecedentes:

Los extremófilos pueden sobrevivir a condiciones extremas de temperatura, pH, salinidad, presión, radiación. Este grupo de organismos incluye bacterias, arqueas, hongos y otros microorganismos. Pese a que dichas condiciones parecieran ser ajenas a nuestra realidad y a nuestro entorno, los ambientes extremos pueden presentarse en nuestros hogares; es por ello que es importante estudiarlos y conocer la diversidad de microorganismos que allí habitan.

La construcción de viviendas favorece el desarrollo de nuevos ambientes, que tienden a ser colonizados por microorganismos. Pese a que existe una buena cantidad de información con respecto a la microbiología de los ambientes extremos domésticos, todavía son evidentes algunas lagunas en el conocimiento de la diversidad de los microbios allí presentes. Particularmente escasa es la información relacionada con la diversidad de hongos levaduriformes (levaduras) que colonizan este nicho artificial o antrópico. Esto puede ser relevante, puesto que la presencia de hongos en el aire y en las superficies domésticas puede estar relacionada con una serie de impactos negativos en la salud humana, tales como enfermedades infecciosas que afectan el sistema respiratorio y reacciones alérgicas (3).

El trabajo publicado por Zupane y sus colaboradores reveló la presencia de reconocidos patógenos oportunistas pertenecientes a las especies *Exophiala dermatitidis*, *Fusarium dimerum*, *Candida parapsilosis*, *Exophiala phaeomuriformis*, *Exophiala oligosperma* y *Sarocladium killiense*, en lavaplatos automáticos y determinó su dispersión hacia el resto de los ambientes de las cocinas. Los aislados fueron identificados mediante métodos moleculares y microbiológicos (4).

Las levaduras negras pertenecientes al género *Exophiala*, implicadas a infecciones al ser humano, causan infecciones cutáneas, subcutáneas o sistémicas. Estas especies se pueden presentar en ambientes domésticos, particularmente en superficies húmedas como ventanas, lavabos, duchas, bañeras, azulejos del baño, así como en sus juntas de sellado y sistemas de ventilación y aire acondicionado. Si estos sistemas no se mantienen adecuadamente o sufren filtraciones de agua, pueden crear un ambiente propicio para el crecimiento de estas levaduras (5).

En un estudio realizado por Zalar en 2011, en muestras provenientes de lavaplatos automáticos se logró aislar, hongos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Candida*, *Magnusiomyces*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Rhodotorula*. Sin embargo, con mayor frecuencia se aislaron levaduras negras como *Exophiala dermatitidis* y *Exophiala phaeomuriformis*, las cuales son causantes de patologías sistémicas en el ser humano y con mayor prevalencia en pacientes con fibrosis quística, cuyos pulmones son colonizados por estas levaduras (6).

En un trabajo similar realizado por Monika Novak y sus colegas en Eslovenia se tomó muestras de cajones para detergentes y sellos de goma para puertas a partir de los cuales se logró aislar cepas de las especies *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*, *Candida parapsilosis* y *Exophiala phaeomuriformis*. Estas especies son conocidas como patógenos oportunistas ya que producen infecciones de uñas, piel y ojos en personas sanas (7).

En una investigación dirigida por Prem Krishnan, en 2018, se aisló de sellos de goma de lavaplatos automáticos cepas de hongos pertenecientes a los géneros *Candida*, *Cryptococcus* y *Rhodotorula*. Este estudio puso de relevancia cuáles son las especies clave que contaminan los ambientes domésticos y representan una amenaza de la salud pública al ser agentes patógenos oportunistas (8).

En un estudio previo que analizó la microbiota presente en diferentes ambientes domésticos realizado por Jerneja Zupančič, en 2018, se investigó la diversidad microbiana en diferentes superficies y electrodomésticos mediante técnicas de secuenciación masiva de ADN. Los investigadores identificaron una amplia variedad de microorganismos en los lavaplatos, muchos de ellos pertenecientes a especies patógenas oportunistas como *Exophiala dermatitis* y *Saprochaete/Magnusiomyces* los mismos que se propagan desde los lavaplatos hacia las cocinas (27).

En una investigación sobre la ecología de *Exophiala dermatitidis*, llevado a cabo por Polona Zalar y sus colaboradores, en 2017, se examinó la presencia y el comportamiento de este hongo en una variedad de entornos naturales y artificiales, utilizando técnicas de muestreo y análisis molecular. Los resultados mostraron una mayor frecuencia de su aparición en hábitats interiores creados por el hombre como los lavaplatos y las cocinas (28).

La relación entre la durabilidad de electrodomésticos y la probabilidad de contaminación microbiana en entornos domésticos fueron parte del trabajo investigativo de Neda Amirzadeh. En dicho trabajo se dejó claro que el 31% de lavadoras contaminadas estaban ubicadas en las cocinas, las mismas que a medida que fueron desgastadas dieron paso a condiciones adecuadas para la proliferación microbiana (29).

CAPÍTULO II
METODOLOGÍA

II.1- Tipo de investigación

La investigación es de tipo mixta, observacional y descriptiva.

II.2.- Población y muestra

II.2.1. Universo - Población:

No es un estudio de carácter epidemiológico por lo cual no aplica. Al azar se escogió diez departamentos de clase media, los cuales estuvieron localizados en la región litoral (Ecuador).

II.2.2 Muestreo y muestra: Se establecieron puntos de muestreo en tres áreas del lavaplatos: desagüe, biofilm, y secador.

II.3- Criterios de selección:

II.3.1 Criterios de inclusión: Se incluyó a departamentos localizados en la región litoral, con características urbanas similares (clase media), los cuales contaban con lavaplatos de acero inoxidable.

II 3.2 Criterios de exclusión: Se excluyó los departamentos no pertenecientes a la zona y aquellos que no contenían un lavaplatos manual.

II.4.- Definición y clasificación de las variables

Tabla 1: Definición conceptual y operacional.

Variables	Definición	Clasificación	Indicador	Escala
Especie a la que pertenece.	Clasificación biológica de un organismo en la jerarquía taxonómica	Cualitativa-ordinal.	Secuenciación del material genético.	Identificación taxonómica, lo que incluye el reino, filo, clase, orden, familia, género, especie.

<p>Crecimiento en diferentes medios de cultivo.</p>	<p>Multiplicación celular en medios que contienen nutrientes necesarios, condiciones adecuadas de pH, temperatura y ambiente para el crecimiento óptimo de los organismos bajo investigación.</p>	<p>Cualitativa-ordinal.</p>	<p>Crecimiento determinado de forma visual.</p>	<p>Crecimiento en Agar Sabouraud Dextrosa, Agar Papa Dextrosa, Agar Sabouraud Dextrosa con Yema de huevo, Agar Sabouraud, Dextrosa con leche semidescremada, Chromagar Candida, y Agar Sabouraud con sangre desfibrinada.</p>
<p>Expresión de factores de virulencia.</p>	<p>Presencia o ausencia de ciertas estructuras o enzimas en un microorganismo que están relacionados con su capacidad para causar enfermedad o daño en un hospedador.</p>	<p>Cualitativa-ordinal.</p>	<p>Formación de halos en medios de cultivo diferenciales.</p>	<p>Presencia o ausencia.</p>

<p>Capacidad de penetración .</p>	<p>Se refiere a la habilidad de un microorganismo para invadir y atravesar las barreras protectoras del hospedador, como las membranas celulares, los tejidos o los sistemas de defensa del organismo.</p> <p>Es un aspecto importante de los factores de virulencia que contribuyen a la capacidad de un microorganismo para causar infección o enfermedad.</p>	<p>Cualitativa-ordinal.</p>	<p>Determinado de forma visual (con la ayuda de un microscopio).</p>	<p>Penetra/no penetra.</p> <p>Forma hifas o pseudohifas, o no las forma.</p>
-----------------------------------	--	-----------------------------	--	--

<p>Temperatura óptima de crecimiento</p>	<p>Se refiere a la temperatura a la cual un microorganismo específico puede crecer y reproducirse de manera óptima. Cada microorganismo tiene una temperatura óptima de crecimiento particular que corresponde al rango de temperaturas en el que muestra la máxima tasa de crecimiento y actividad metabólica.</p>	<p>Cuantitativa-continua.</p>	<p>Crecimiento, (determinado de forma visual).</p>	<p>grados centígrados (C°).</p>
--	---	-------------------------------	--	---------------------------------

Ubicación filogenética	Se refiere a la posición de un organismo o grupo de organismos en el árbol filogenético de la vida. Se determina mediante análisis comparativos de su material genético, como el ADN o el ARN, así como de características morfológicas y otros datos relevantes.	Cualitativa.	Análisis comparativo de la secuencia de ADN correspondiente a un marcador molecular específico.	Esquema.
------------------------	---	--------------	---	----------

Morfología de la colonia.	Se refiere a las características físicas y visuales que presenta una colonia de microorganismos en un medio de cultivo. Estas características incluyen el tamaño, la forma, el color, el aspecto, la textura entre otros.	Cualitativa-nominal discreta.	Determinado de forma visual.	(Azul, rojo, verde, magenta, amarillo, naranja, blanco, celeste y lila). (Lisa, rugosa y plegada). (Intenso, opaco, apagado o ausente). (Entero, ondulado, lobulado, erosionado, filamentosos y rizado). (Plana, elevada, convexo, pulvinate y umbonate). (Puntiforme, circular, rizoide, irregular y filamentosos). (Suave, rugosa, arrugada, seca con aspecto polvoriento). (Húmedo o seco).
Morfología celular.	Se refiere a la forma y estructura de las células. Incluye el tamaño, la forma, la organización estructural y la apariencia de las células.	Cualitativa-nominal discreta.	Determinada de forma visual (empleo de microscopio).	(Fusiformes, estrelladas, prismáticas, aplanadas, elípticas, globosas o redondeadas). (Unicelular o pluricelular). (Presencia o ausencia). (Gemación o ascosporas).

<p>Modo de vida.</p>	<p>Se refiere a la forma en que los microorganismos interactúan con su entorno y obtienen los recursos necesarios para sobrevivir y reproducirse.</p>	<p>Mixta.</p>	<p>Nutrición, metabolismo, ambiente de crecimiento.</p>	<p>Observación en el comportamiento de crecimiento y características morfológicas.</p>
<p>Diversidad de la comunidad microbiana.</p>	<p>Variedad y abundancia de diferentes tipos de microorganismos que coexisten en un determinado hábitat o ambiente. Esta diversidad puede evaluarse a diferentes niveles, como el nivel de especies, géneros, familias u otros grupos taxonómicos.</p>	<p>Mixta.</p>	<p>Número de especies que colonizan un determinado hábitat.</p>	<p>Comunidades complejas y diversas o simples.</p>

Fuente: Elaboración propia.

II.5- Metodología

Aislamiento primario

Para la recolección de muestras, los ambientes domésticos seleccionados compartían características similares, específicamente fueron departamentos de familias de clase media. Estos departamentos contaban con cocinas equipadas con mesones de granito o mármol, así como lavaplatos manuales fabricados en acero inoxidable. Las muestras se tomaron en diferentes áreas de los lavaplatos manuales, incluyendo los bordes, la batea y la base. Para este propósito, se utilizó un hisopo estéril impregnado en una solución salina. Las muestras obtenidas fueron introducidas en tubos que contienen solución salina estéril, donde posteriormente se llevó al laboratorio, las muestras se diluyeron en forma seriada (desde 10^{-1} hasta 10^{-4}), luego 100 μ l fueron tomados de cada dilución, luego se distribuyó de forma uniforme sobre la superficie del medio de cultivo agar glucosado de Sabouraud utilizando una varilla conocida como "rastrillo". La temperatura de incubación fue de 25 °C, el tiempo fue acorde a la visualización de colonias. Estas colonias fueron transferidas a un medio fresco mediante el proceso de repique, con el objetivo de purificar los aislados y obtener cultivos puros. Se registró todas las características de la morfología macroscópica de las colonias, estos aislados se mantuvieron en tubos con agua estéril, con el objetivo de ser conservados para su posterior análisis y estudio.

Medios de cultivo

Agar Sabouraud Dextrosa, Agar Sabouraud Dextrosa con Yema de huevo, Agar Sabouraud Dextrosa con leche semidescremada, Chromogar Candida, Agar Papa Dextrosa (PDA) y Agar Sabouraud con sangre desfibrinada son los medios de cultivo destinados para el análisis de la morfología de las levaduras y la detección de posibles factores de virulencia.

Evaluación macroscópica y microscópica de los aislados de levaduras

Se evaluó las características de las colonias de cada aislado. Los criterios a tomar en cuenta fueron: el borde, la elevación, el color, la textura, el brillo, el pigmento y la forma de las colonias. Para el análisis microscópico, se realizó suspensiones de cada aislado en solución salina y se examinó bajo el microscopio utilizando aumentos de 100X y 400X.

Estimación de la temperatura óptima de crecimiento

A los cultivos frescos cuya densidad óptica fue de 0.5 en la escala McFarland obtenidos a partir de las suspensiones cada uno de los aislados, se les realizó diluciones seriadas (desde 10^{-3} hasta 10^{-6}), de las mismas se inoculó 10 μ l en la superficie de 5 réplicas de medio agarizado (Sabouraud Dextrosa). Cada una de las placas se incubó a diferentes temperaturas, específicamente a 5, 12, 20, 30 y 37°C. Después de un período de cultivo de 48 horas, se comparó la biomasa que formó cada colonia en las diferentes placas y su tamaño.

Expresión de factores de virulencia

Se realizó una evaluación de la síntesis de hemolisinas utilizando un medio agar enriquecido con sangre humana desfibrinada al 2,04% v/v y glucosa al 3% (20).

Para evaluar la actividad de fosfolipasas, se preparó un medio Sabouraud dextrosa suplementado con yema de huevo liofilizada al 3% v/v, cloruro de sodio y cloruro de calcio (21).

El análisis de proteasas se hizo empleando un agar nutritivo suplementado con leche semidescremada pasteurizada al 1% (22).

En cada instancia, se procedió a la inoculación de los medios con una suspensión de cada cepa de levadura, que debía estar ajustada a una densidad óptica de 0.5 unidades McFarland. La incubación se ejecutó con la temperatura óptima de crecimiento correspondiente, el posterior análisis se basó en la observación de la

formación de halos alrededor de las colonias, lo cual fue un indicio de la actividad enzimática.

Se siguió el protocolo de Cullen para evaluar la capacidad de penetración de sustratos agarizados (23)(24). Se preparó diluciones en serie de 10⁻¹ hasta 10⁻⁴ a partir de una suspensión de levadura en solución salina ajustada a 0,5 unidades McFarland. Se extendió 5 µl de cada dilución sobre la superficie del medio Sabouraud dextrosa.

Los cultivos se incubaron durante 5 días a la temperatura óptima para cada aislamiento. Las células de la superficie se eliminaron mediante un lavado suave con agua destilada y frotando suavemente con los dedos húmedos. Luego, se cortó el agar en rodajas finas con un bisturí estéril y se observó bajo un microscopio óptico con aumentos de 100× y 400× (23).

Extracción de ADN

La extracción del ADN genómico de los aislados de levaduras, se utilizó la técnica de lisis alcalina (24). Una suspensión de levaduras fue mezclada con una solución de SDS al 0.025% y NaOH al 0.025 N. La suspensión se incubó a 95 °C durante 20 minutos en un termobloque THERMO SCIENTIFIC. Posteriormente, el lisado obtenido se centrifugó a 12.000 × g y se conservó a -20 °C hasta su uso (24).

Amplificación de la región ITS

La región ITS fue amplificada mediante PCR utilizando los cebadores ITS1 (CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A) - ITS4 (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GV) (24). Cada mezcla de reacción de 25 µl incluyó: Master Mix (12.5 µl), cebador ITS1 (2.0 µl), cebador ITS4 (2.0 µl), agua ultrapura (6.5 µl) y ADN (2.0 µl).

La amplificación se hizo con un termociclador Bioneer con el siguiente perfil térmico: desnaturalización inicial que fue a 95 °C por 5 min, seguido de 38 ciclos de amplificación (desnaturalización a 58 °C por 1 min, alineación a 72 °C durante 1

min y elongación a 72 °C durante 10 min), y una elongación final a 72 °C durante 10 min.

Electroforesis de ADN en geles de agarosa

La amplificación de la región ITS se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa, teñido con SYBR Safe. El gel se preparó al 1.5% (p/v) en buffer TBE, y la electroforesis, se realizó a una corriente constante de 90 voltios. Los productos de amplificación se visualizaron mediante un transiluminador de rayos UV utilizando SYBR Safe (24).

Secuenciación y análisis de secuencias con BLAST-N

Los amplicones que se generaron por PCR fueron enviados a la empresa Macrogen (Seúl, Corea del Sur) para su secuenciación mediante el método de Sanger automatizado. Las secuencias obtenidas fueron comparadas con las secuencias depositadas en las bases de datos de acceso público y gratuito (GenBank, EMBL-EBI) utilizando el algoritmo BLAST-N (25).

Ubicación filogenética

Para determinar la ubicación filogenética de las cepas de levaduras, se empleó el software Mega 11 en su versión más actualizada (26). Se alinearon las secuencias nucleotídicas correspondientes a la región ITS de cada cepa con las secuencias de especies previamente identificadas disponibles en GenBank. A partir de estos alineamientos, se construyeron árboles filogenéticos utilizando los distintos modelos matemáticos proporcionados por el programa.

Procesamiento, análisis, resumen y presentación de la información (Tablas, Gráficos, Técnicas de análisis estadístico)

La presentación de los resultados se realizó mediante paneles fotográficos donde se ilustró los resultados obtenidos para cada cepa, así como tablas que resumen los datos generados.

Procedimientos éticos

No aplica, por no tratarse de un trabajo de investigación con seres humanos o con animales.

CAPÍTULO III
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Descripción de los sitios de muestreo

Las áreas seleccionadas para el muestreo corresponden a los lavaplatos manuales, pertenecientes a diez departamentos al azar, ubicados en la región costa de Ecuador. Los lavaplatos presentaron características comunes entre sí, siendo significativo el empleo de materiales como granito, cerámica, cemento y acero inoxidable, en los cuales se encuentran empotrados los lavaplatos. En las Figuras 1 y 2 se muestran como ejemplo las áreas específicas donde se recolectaron las muestras en dos de los diez lavaplatos que fueron considerados para este estudio. Se optó por estas áreas ya que era notable la presencia de biofilms oscuros y diversas manchas que eran parte del contorno de los lavaplatos, lo que sugeriría la presencia de microorganismos.



Figura 1. Área de muestreo en las cocinas equipadas con lavaplatos del departamento identificado como #2. A) Biofilm formado en los contornos. B) Desagüe. C) Secador de platos.



Figura 2. Área de muestreo en las cocinas equipadas con lavaplatos del departamento identificado como #7. A) Biofilm formado en los contornos. B) Desagüe. C) Secador de platos.

2. Aislamiento primario: Descripción

Los aislamientos primarios fueron realizados en agar Sabouraud Dextrosa y Agar Nutritivo. Las primeras colonias se obtuvieron al cabo de una semana de incubación a temperatura ambiente. Destaca claramente la presencia de una amplia gama de microorganismos (bacterias, hongos filamentosos y levaduras) (Figura 3). Las colonias obtenidas presentaron una variedad de morfotipos, color y texturas. La coloración blanca fue dominante en las muestras obtenidas, así también una clara dominancia de texturas lisas y rugosas.

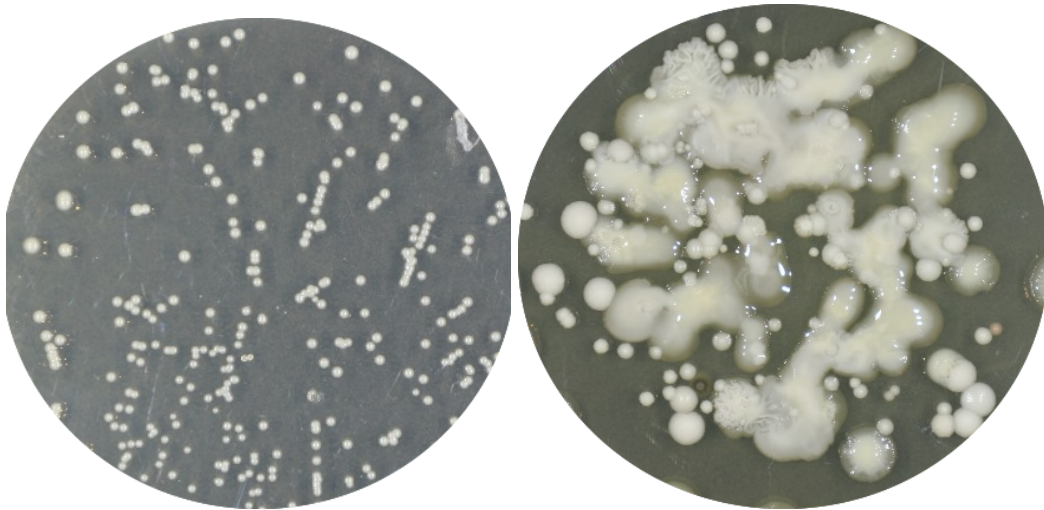


Figura 3. Crecimiento de levaduras en Agar Sabouraud

3. Purificación de aislados

A partir de los aislamientos primarios realizados se purificó, mediante sucesivas repiques (o subcultivos), un total de 28 aislados. En la tabla 3 se detalla la cantidad de aislados obtenidos en los diez departamentos según el área de muestreo correspondiente.

Con el empleo de un microscopio óptico, y una vez purificados los aislados, se logró distinguir entre bacterias y levaduras en base a su morfología. Las levaduras fueron conservadas en aislamientos puros, en tubos contenidos con agua destilada estéril hasta identificarlas y caracterizarlas.

Tabla 2. Aislamientos de colonias según zona de muestreo y departamento.

Área de muestreo	Departamento	Medio	N de aislados	Total
Desagüe	1	Agar Sabourud	1	

Biofilm	1	Agar Sabourud	1	3
Lavado	1	Agar Sabourud	1	
Desagüe	2	Agar Sabourud	1	6
Biofilm	2	Agar Sabourud	3	
Lavado	2	Agar Sabourud	2	
Desagüe	3	Agar Sabourud	1	4
Biofilm	3	Agar Sabourud	1	
Lavado	3	Agar Sabourud	3	
Desagüe	4	Agar Sabourud	0	4
Biofilm	4	Agar Sabourud	2	
Lavado	4	Agar Sabourud	2	
Desagüe	5	Agar Sabourud	1	3
Biofilm	5	Agar Sabourud	1	

Lavado	5	Agar Sabourud	1	
Desagüe	6	Agar Sabourud	0	0
Biofilm	6	Agar Sabourud	0	
Lavado	6	Agar Sabourud	0	
Desagüe	7	Agar Sabourud	0	2
Biofilm	7	Agar Sabourud	1	
Lavado	7	Agar Sabourud	1	
Desagüe	8	Agar Sabourud	0	2
Biofilm	8	Agar Sabourud	0	
Lavado	8	Agar Sabourud	2	
Desagüe	9	Agar Sabourud	0	2
Biofilm	9	Agar Sabourud	1	
Lavado	9	Agar Sabourud	1	
Desagüe	10	Agar Sabourud	1	2
Biofilm	10	Agar Sabourud	0	

Lavado	10	Agar Sabourud	1	
				Total: 28

4. Selección de aislados para estudios posteriores

Se seleccionó 12 aislados de levaduras, en base a claras diferencias morfológicas (= morfotipos). Esto sirvió de base para explorar la diversidad de levaduras que se encuentran colonizando los ambientes domésticos.

En la tabla 3 se muestran las características que presenta cada uno de los aislados seleccionados (Anexo 1).

Tabla 3. Aislamientos de colonias según zona de muestreo y departamento.

Aislado	Fenotipo Colonias								
	Forma	Color	Brillo	Textura	Borde	Tamaño	Elevación	Transparencia	Consistencia
M2-1	C	N.P	B	L	E	P	P	O	SUAVE
M2-2	C	P (CREMA)	S	R	E	P	U	O	DURA
M2-5	C	P(BLANCO)	S	L	E	P	E	O	SUEVE
M2-6	C	P(BLANCO)	S	R	E	P	U	O	SUAVE
M3-3	C	P (BLANCO)	S	L	E	M	E	O	SUAVE

M3-4	C	N.P	B	L	E	M	E	O	SUEVE
M4-1	I	P(BLANCO)	S	R	R	M	U	O	DURO
M5-1	C	N.P	S	L	E	P	P	O	SUAVE
M9-1	I	N.P	S	R	O	M	U	O	DURA
M9-2	C	N.P	B	L	E	P	C	O	SUAVE
M10-1	C	N.P	S	L	E	P	E	O	SUAVE
M10-4	I	N.P	S	R	R	M	U	O	DURA

Forma: C= circular ; R= rizoide; F= filamentososa; I= irregular; **Color:** A= amarillo; C= crema; R= rosado; N= naranja; B= blanco; **Textura:** L=lisa; R= rugosa; **Tamaño:** G= grande; M= mediano; P= pequeño; p = puntiforme; **Transparencia:** O= opaca; T= transparente; B= brillo; brillante; S= sin brillo; **Borde:** E= entero; R= rizoide; F= filamentososo; O= ondulado; L= lobulado; r= rizado; **Elevación:** C= convexa; P=plana; E= elevada; U= umbilicada; **Consistencia:** D= dura; S= suave; M= mucosida.

Las características morfológicas pueden observarse en las Figuras 5 y 6, en donde se visualiza que la mayor parte de colonias son opacas, y en cuanto a su consistencia el 80% presenta una consistencia suave y el 20% dura.



Figura 5: Aislamientos de cepas puras en Agar Sabouraud Dextrosa.

Figura 5: Aislamientos de cepas puras en Agar Sabouraud Dextrosa.

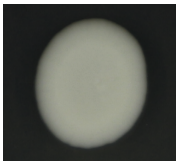
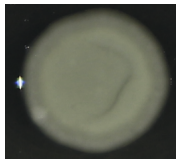
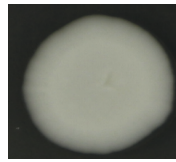
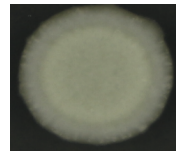
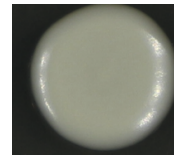
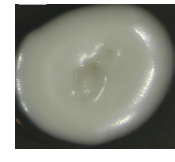
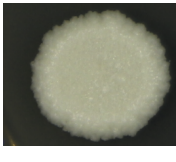
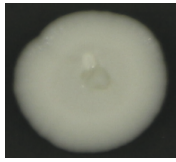
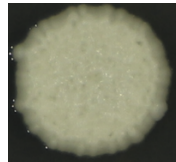

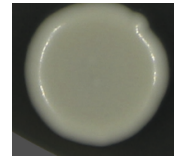
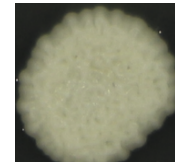
M2-1	M2-2	M2-3	M2-4	M3-1	M3-2
					
M4-1	M5-1	M9-1	M9-2	M10-1	M10-2
					

Figura 6: Morfología macroscópica de las colonias de cada aislado.

En cuanto a las características morfológicas de las células, cada cepa se diferencia una de otra; sin embargo la mayor parte de los aislados presentan pseudohifas (Figura 7).

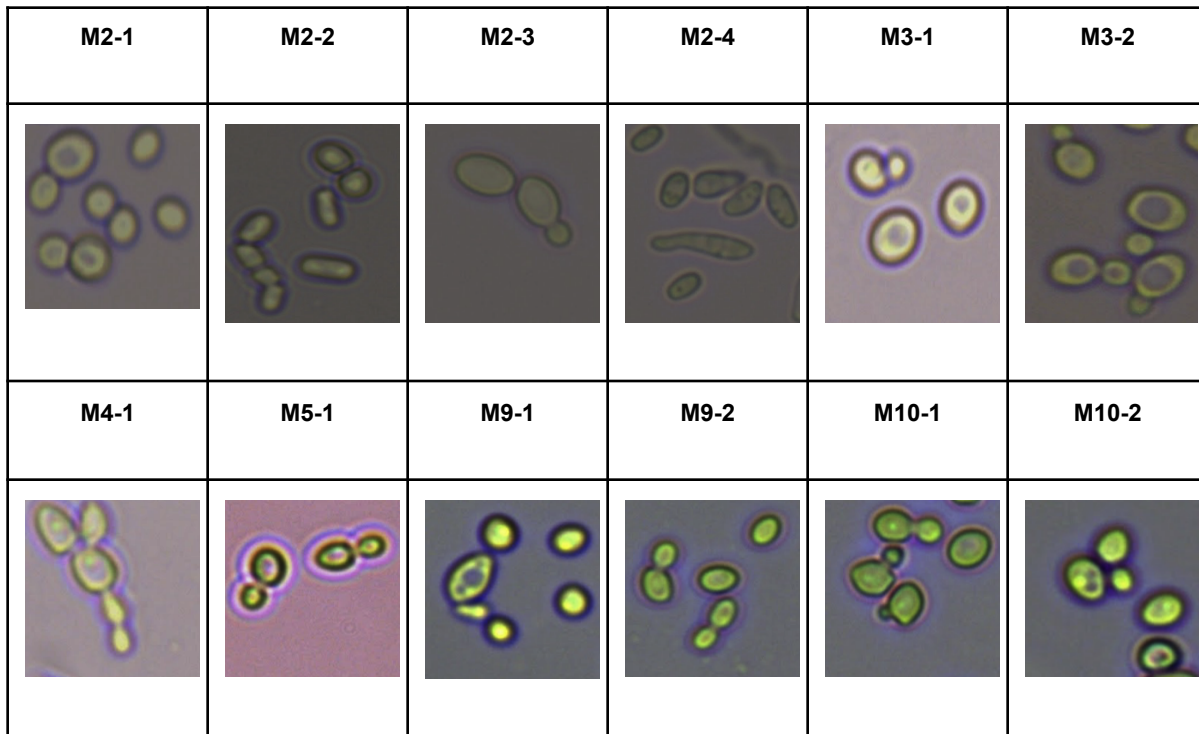


Figura 7: Morfología celular de las células de los aislados puros.

5. Crecimiento de levaduras frente al efecto de la temperatura

Los aislamientos puros fueron incubados a diferentes temperaturas, con la finalidad de establecer una temperatura óptima para su crecimiento (Tabla 4) (Anexo 2).

Tabla 4: Cantidad de biomasa de los aislados de levaduras cultivados a diferentes temperaturas durante 48 horas.

Código de	Temperatura de crecimiento.			
	25°C	30°C	37°C	40°C

aislamiento.				
M2-1	+++	++++	-	-
M2-2	+++	++++	++	-
M2-3	+++	++++	-	-
M2-4	+++	++++	++	-
M3-1	+++	++++	+++	++
M3-2	+++	+++	++++	++
M4-1	+++	+++	++	++
M5-1	++++	+++	-	-
M9-1	+++	+++	+++	++
M9-2	+++	+++	+	-
M10-1	++	+++	++	+
M10-2	++	+++	+++	+++
+ = Crecimiento escaso ++ = Crecimiento medio				

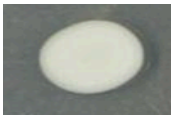
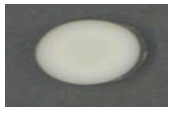


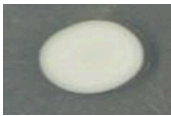
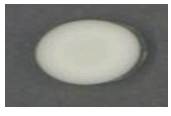



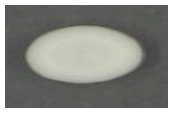


+++ = Crecimiento abundante


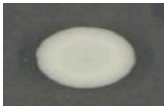

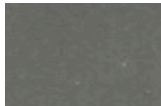

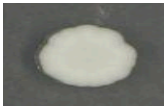



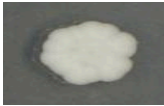


++++ = Crecimiento excesivo

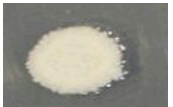


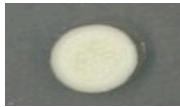








Cada aislado se comportó de forma diferente al cultivarlos a diferentes temperaturas, se logra evidenciar que la temperatura óptima para el crecimiento del 100% de estas cepas es a 30°C. La cepa (M9-1) crece hasta los 40 °C de manera similar a como lo hace a temperaturas inferiores; sin embargo, la cepa (M2-4) deja de crecer de manera abundante a 37 °C.

Al incrementar la temperatura a 37°C, las cepas (M2-1, M2-3, M5-1) no presentaron crecimiento evidente; por otra parte, si se aumenta la temperatura a 40°C, se puede ver claramente que 6 cepas son incapaces de crecer (M2-1, M2-2, M2-3, M2-4, M5-1, M9-2) (Figura 8).

Figura 8: Producción de biomasa a diferentes temperaturas .

Aislado	Temperatura			
	25°C	30 °C	37 °C	40 °C
M2-4				
Sin diluir				
Dilución 10 ⁻¹				

Dilución 10^{-2}				
Dilución 10^{-3}				
Dilución 10^{-4}				

Aislado M9-1	Temperatura			
	25°C	30 °C	37 °C	40 °C
Sin diluir				
Dilución 10^{-1}				
Dilución 10^{-2}				



6. Expresión de los factores de virulencia

Los factores de virulencia permiten a las levaduras causar infecciones en algún hospedador, en caso de comportarse como patógenas. Su estudio se llevó a cabo con la finalidad de detectar la expresión de estos factores en cada una de las 12 cepas seleccionadas.

a. Actividad hemolisina

Todos los aislados tuvieron la capacidad de producir una hemólisis parcial (hemólisis alfa), ya que la zona de crecimiento presenta un halo de coloración verdosa (Figura 9).

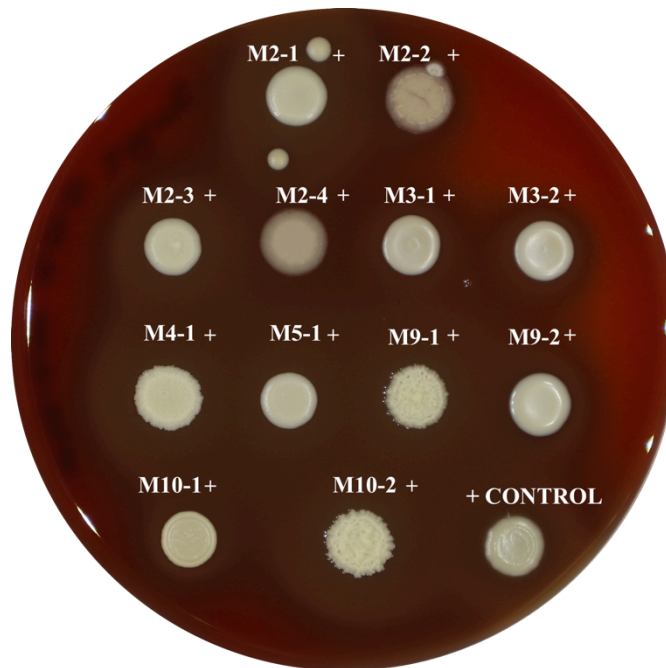


Figura 9: Actividad hemolisina presente en todos los 12 aislados purificados y cultivados en Agar Sangre.

b. Actividad proteasa

Con el fin de determinar la actividad proteasa se preparó un medio de cultivo que contenía, Agar SD, el cual fue suplementado con leche descremada. Al cabo de 120 horas de incubación se evidenció que solamente dos aislados tuvieron actividad proteasa (Figura 10).

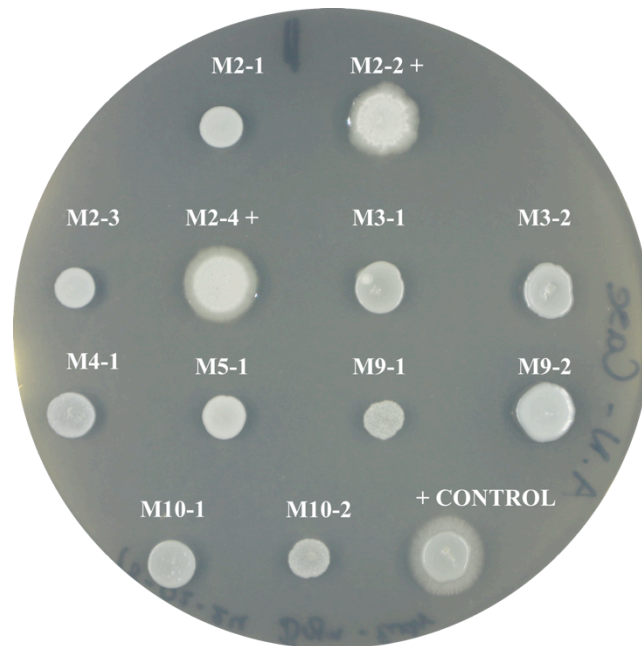


Figura 10: Actividad proteasa de los aislados M2-2, M2-4 de 12 aislados purificados y cultivados en Agar SD suplementado con leche descremada.

c. Actividad fosfolipasa

Para la determinación de la actividad lipasa se preparó un medio de cultivo que consiste en Agar SD suplementado con yema de huevo. Al término de la incubación durante 120 horas se determinó que ninguno de los 12 aislados presentó la capacidad de producir lipasas (Figura 11).

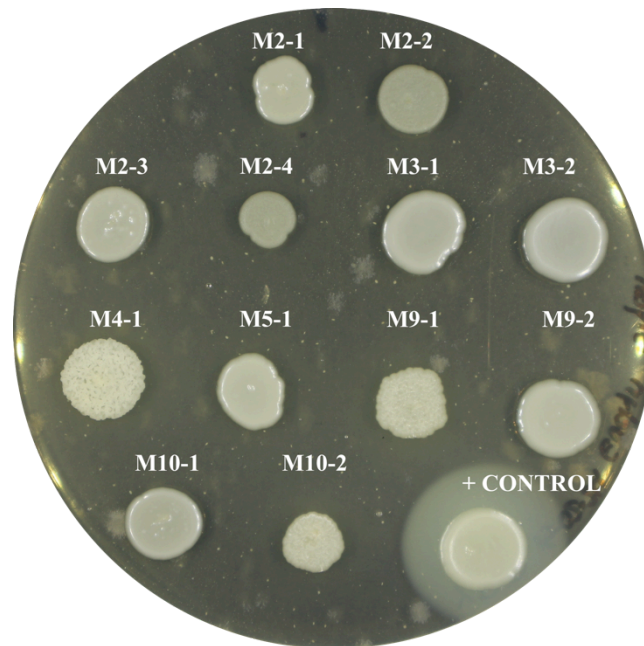


Figura 11: Ausencia de actividad lipasa de los 12 aislados purificados y cultivados en Agar SD suplementado con yema de huevo

d. Capacidad de penetración en el sustrato

Desde el punto de vista experimental, la capacidad que tiene una cepa de hongos para penetrar tejidos se evalúa en medio agarizado. Una vez que se han desarrollado, se determina si pudo penetrar y hasta qué profundidad lo hizo. Para ello, se realiza un corte transversal en el medio sobre el cual creció cada cepa y se observa al microscopio.

Once de los doce aislados fueron capaces de penetrar el agar (Figura 12 y 13). La figura 14, muestra los resultados del ensayo de penetración que obtuvimos mediante microscopía óptica con un lente de 10× y 40×. Claramente se observa la penetración de hifas al interior del medio (Figura 13 y Anexo 4). En algunos casos, la distancia de penetración supera las 1000 micras, como es en el caso de las cepas M2-2, M2-4, M9-1, M10-2. Sin embargo; el resto de cepas oscila entre los 95 y 900 micras.

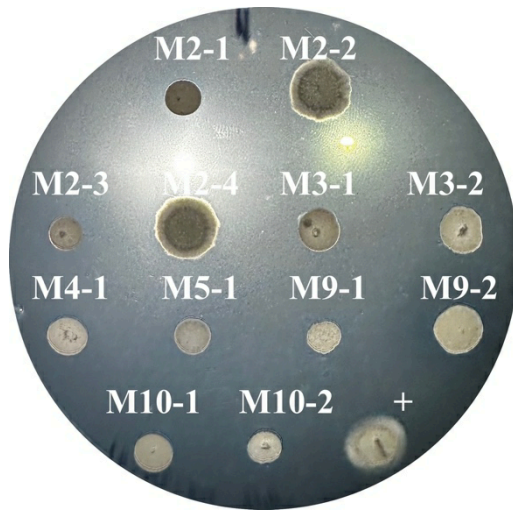


Figura 12: Capacidad de penetración de los aislados antes del lavado.

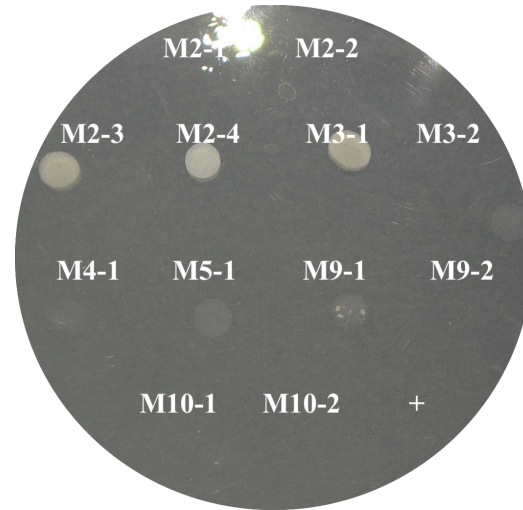


Figura 13: Capacidad de penetración de los aislados después del lavado.

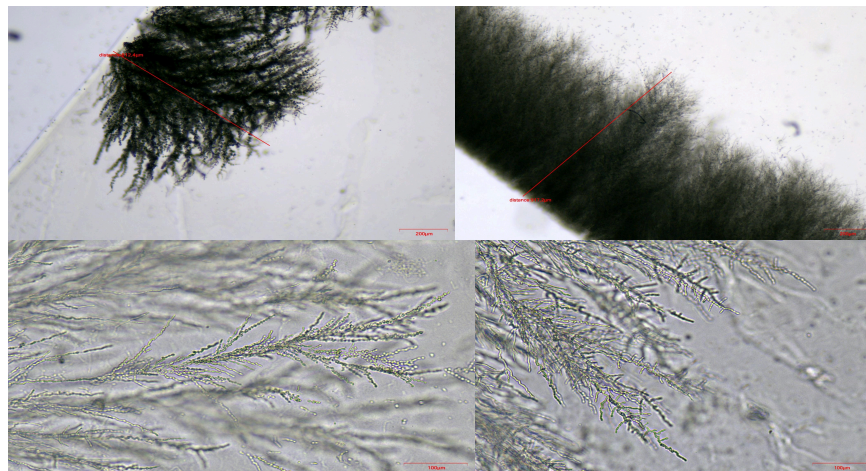


Figura 14: Capacidad de penetración de levaduras bajo microscopio óptico con lente de 10x y 40x.

Los resultados que se obtuvieron en cada ensayo se detallan de manera resumida en la Tabla 5.

Tabla 5: Factores de virulencia expresados por cada una de las 12 cepas aisladas.

Código de aislado.	Factores de virulencia			
	Hemolisina	Proteasa	Fosfolipasa	Capacidad de penetración
M2-1	+	-	-	+
M2-2	+	+	-	+
M2-3	+	-	-	+
M2-4	+	+	-	+
M3-1	+	-	-	+
M3-2	+	-	-	+
M4-1	+	-	-	+
M5-1	+	-	-	+
M9-1	+	-	-	+
M9-2	+	-	-	-

M10-1	+	-	-	+
M10-2	+	-	-	+
Actividad positiva (+)				
Actividad negativa (-)				

7. Amplificación por PCR de la región ITS del genoma de los aislados

El genoma de los 12 aislados puro se extrajo mediante el método de lisis alcalina. A partir de ese material se amplificó la región ITS (espaciador transcrito interno) mediante PCR. Los resultados se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa (Figura 15). Las bandas que corresponden a los fragmentos de amplificación se encuentran ligeramente por debajo del marcador de 500 pb, lo que indica que la longitud de los amplicones presentan un tamaño entre 400 a 500pb.

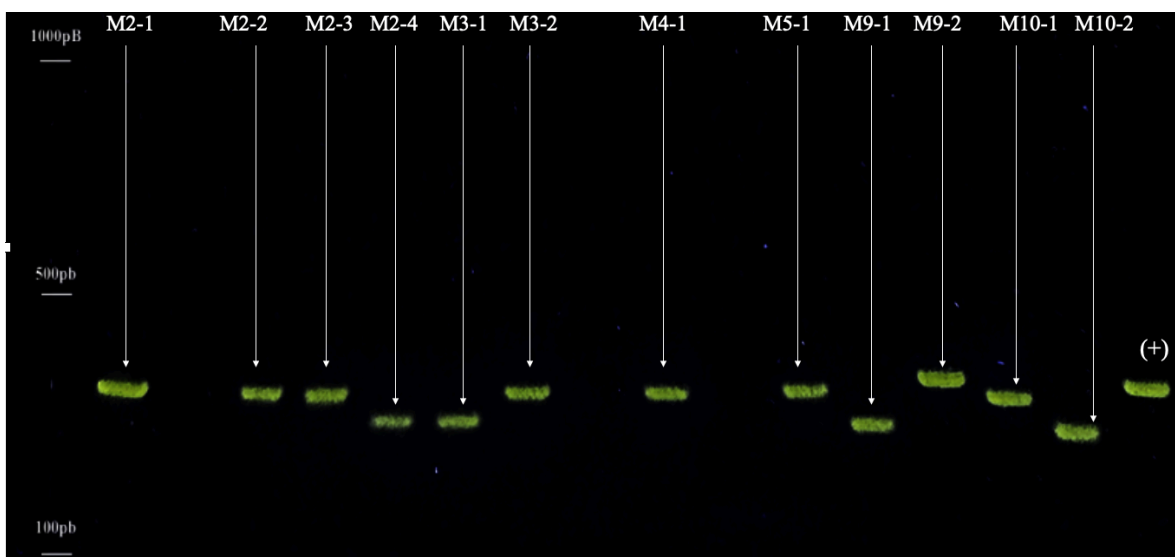


Figura 15: Amplificación de la región ITS mediante el genoma de los 12 aislados y subsecuente electroforesis en gel agarizado.

Los amplicones obtenidos fueron enviados a secuenciación a la empresa Macrogen Inc (Seúl, Corea del Sur). Los resultados se presentan en el Anexo 5.

8. Análisis de secuencias (Blast-N)

Para el estudio de similitud entre secuencias nucleotídicas se empleó el programa Blast-N. Las secuencias obtenidas a partir de nuestros aislados fueron comparadas con secuencias almacenadas en el GenBank.

La tabla 6 muestra los resultados obtenidos al hacer este análisis (Anexo 6).

Tabla (6) Resultado del análisis de las secuencias de nucleótidos pertenecientes a la región ITS.

Aislado	Especie filogenéticamente más cercana	% identidad	% Cobertura	No. de Acceso	Longitud de la secuencia analizada
M2-1	<i>Candida metapsilos</i>	100,00%	65%	MG009521. 1	350
M2-2	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	80,20%	98%	KY814728. 1	200

	a				
M2-3	<i>Trichosporon asahii</i> YGC-16	99,73%	74%	MW534718. .1	500
M2-4	<i>Phlebia acerina</i>	100,00%	59%	OM955744. 1	100
M3-1	<i>Kodamaea ohmeri</i>	92,21%	96%	EF196811.1	80
M3-2	<i>Candida intermedio</i> aislado 4Y142	100,00%	60%	MT138731. 1	250
M4-1	<i>Kodamaea ohmeri</i> SB6	97,60%	72%	MF061602. 1	230
M5-1	[<i>Candida</i>] <i>haemuli</i> , S49AF	100,00%	62%	KY112738. 1	300
M9-1	<i>Kodamaea ohmeri</i> , CU19015.6	100,00%	53%	MT482661. 1	250

M9-2	<i>Candida metapsilosis</i> ZA019	99,22%	73%	GQ280290. 1	350
M10-1	<i>Trichosporon asteroides</i> BPI003	94,72%	82%	MZ133617. 1	300
M10-2	<i>Candida metapsilosis</i> ZA019	100,00%	79%	GQ280290. 1	300

De acuerdo a la secuenciación de la región ITS del genoma de los aislados, el género fúngico que más comúnmente se encuentra colonizando los ambientes domésticos en la región Litoral es *Candida* correspondiendo al 41,66% del total de cepas que fueron seleccionadas.

Tres de nuestras 12 cepas están emparentadas con *Candida metapsilosis*; en algunos casos (cepas M2-1 y M10-2) la identidad es del 100%. Por otro lado, cuatro de las 12 cepas están relacionadas con la especie *Kodamaea ohmeri*, lo cual representa el 25% del total de cepas seleccionadas.

Los demás aislados están relacionados con las especies incluyen *Rhodotorula mucilaginosa* y *Trichosporon asahii*, con porcentajes de identidad del 80.20% y 99.73%, respectivamente.

Discusión

La finalidad de nuestro proyecto de tesis fue evaluar, mediante métodos microbiológicos y moleculares, la posible presencia de levaduras termoresistentes sobre superficies que están ubicadas en lavaplatos domésticos y sus alrededores. Los resultados que logramos obtener muestran que efectivamente cada superficie se encuentra colonizada de manera abundante por una diversidad de levaduras.

Nuestro estudio incluyó 12 aislados capaces de multiplicarse de manera óptima a 30°C. De estos, seis aislados tuvieron la capacidad de crecer a 40°C. De igual manera, se evidenció que 11 de los 12 aislados son capaces de penetrar medio agarizado, una evidencia de su potencial como patógenos oportunistas. En base a nuestro conocimiento de literatura especializada, este trabajo se trata de una de las primeras investigaciones realizadas en la región costa ecuatoriana.

Uno de los descubrimientos más notables fue la elevada diversidad morfológica de las colonias de bacterias y levaduras. Esta diversidad es similar a la reportada por Gilbert y Hartmann en el 2024, en donde se hizo una revisión de literatura, con la finalidad de recopilar y analizar diversas fuentes para entender cómo los microorganismos se comportan en ambientes cerrados, como los ambientes domésticos (30).

Estos microbiomas domésticos se ven influidos por múltiples factores, como el diseño del edificio, la ocupación, la presencia de animales no humanos, la higiene y la proximidad a espacios verdes. Los microorganismos como las levaduras están presentes en áreas que son construidas con la finalidad de ser habitadas por seres humanos. Su presencia se atribuye a las actividades que se realizan dentro de estas áreas, como la manipulación de carnes, verduras, frutas, el lavado de utensilios y otros enseres. Los factores ambientales y físicos aportan un nicho óptimo para su proliferación.

Teniendo en cuenta que la región costa ecuatoriana presenta una temperatura ambiente que varía entre los 25°C y los 36°C, no es de extrañar que 9 de 12

aislados fueran capaces de multiplicarse a 37°C,; sin embargo, la capacidad de crecimiento de 6 aislados disminuyó conforme se incrementó la temperatura a 40°C. De hecho, únicamente 6 aislados presentaron una capacidad de crecimiento a esta temperatura, relativamente elevada, indicando la presencia de especies termoresistentes (31).

La temperatura habitual del cuerpo humano oscila entre los 36°C y 37°C, temperatura similar a la que proliferan estas levaduras, siendo este un posible factor de riesgo para la salud humana ya que, en caso de ser patógenas potenciales, podrían multiplicarse en los órganos y tejidos de las personas. Esta capacidad de termotolerancia le permitiría colonizar nuevos nichos orgánicos, como lo son los seres humanos, produciendo así diversas patologías (30).

En este estudio se encontró que los ambientes domésticos están colonizados en gran parte por levaduras del género *Candida*, muchas de las cuales son conocidas patógenas oportunistas en humanos, capaces de proliferar en los fluidos corporales y penetrar tejidos (32).

Los factores de virulencia indican la capacidad que tiene un microorganismo para producir una infección en diferentes tipos de hospedadores. En el presente estudio se evidenció que todos los aislados evaluados producen hemolisinas. Estas enzimas son responsables de la destrucción de hematíes y una consecuente liberación de hemoglobina produciendo anemias hemolíticas (33).

En cuanto a la actividad proteasa, dos de los 12 aislados (M2-2,M2-4) la presentaron. Estas enzimas son capaces de hidrolizar el enlace peptídico, llevando a la degradación de proteínas. Se trata de un factor de virulencia crucial pues, en caso de ingresar a nuestro organismo, produciría la hidrólisis de proteínas importantes como las inmunoglobulinas, el colágeno, y ciertas enzimas, entre otros (34).

Ninguna de las cepas incluidas en el estudio fue capaz de producir fosfolipasas no obstante, no sería de descartar que, tal vez, las condiciones en las que fué evaluada la producción de estas enzimas no fueron óptimas. Se trata de un factor de virulencia que juega un papel importante en la degradación de lípidos, pudiendo contribuir con graves infecciones en pacientes inmunodeprimidos (34).

En cuanto a la capacidad de penetrar sustratos agarizados, 11 de los 12 aislados fueron capaces de hacerlo. Esta habilidad constituye un factor de virulencia importante, pues la activación de crecimiento en forma de hifas y la diseminación de las mismas podría culminar en una infección grave (35).

Los resultados de análisis de secuenciación de nucleótidos, demostraron que de los 12 aislados 5 pertenecen al género *Candida*, 3 al género *Kodamaea*, 2 al género *Trichosporon*, y 1 al género *Rhodotorula*. Algunas especies pertenecientes a estos géneros son conocidas patógenas o patógenas oportunistas. Como sabemos, este tipo de patógenos son muy peligrosos para personas inmunocomprometidas. Tal vez las especies del género *Candida* son los mejores ejemplos de esto. En un estudio firmado por Furlaneto en el 2018, se aclaró que la mayor parte de infecciones del torrente sanguíneo son producto de diversas especies del género *Candida* (36).

En forma similar, un estudio llevado a cabo por *Thambugala Kasun* en 2024, reportó que *Kodamaea*, *Rhodotorula*, y *Trichosporon* se cuentan entre los géneros de hongos que mayor cantidad de infecciones causan en seres humanos. Estas infecciones fúngicas representan una gran amenaza para millones de personas inmunodeprimidas (37).

Pese a la novedad de algunos de los resultados reportados en este estudio cabe destacar ciertas limitaciones. La primera de ellas es que, al ser un trabajo realizado en base a métodos dependientes de cultivos, solo se pudo evidenciar el 1% de la biodiversidad microbiana de un ambiente. En efecto, las condiciones de cultivo no nos permiten cultivar el 99% restante (39).

Sin embargo, gracias a este método se pueden observar las características fisiológicas y fenotípicas de los aislados microbianos, aspecto que no se lograría dilucidar de otra manera (38). La segunda limitación, fue que, al tratarse de un estudio observacional y descriptivo se incluyó en el estudio un conjunto relativamente modesto de diez departamentos; hubiera sido conveniente trabajar con un mayor número de departamentos para poder extrapolar nuestros resultados a toda la región. No obstante, pese a las limitaciones mencionadas, esta investigación aporta información muy relevante para el estudio de levaduras extremófilas domésticas y su posible impacto en la salud humana, particularmente en una región del mundo que no ha sido estudiada hasta la fecha en relación con este tema.

Para concluir, a través de este proyecto de investigación hemos determinado la presencia de levaduras extremófilas en ambientes domésticos de la costa ecuatoriana. De los aislados purificados 12 seleccionados para su caracterización en extenso, presentaron resistencia a temperaturas moderadas (37°C), y 6 crecieron a 40°C. Asimismo, todos los aislados fueron capaces de penetrar un sustrato agarizado, lo cual representa uno de los factores más importantes para el desarrollo de infecciones fúngicas, porque podría llegar a afectar tejidos profundos. Como hemos mencionado anteriormente, hasta donde hemos consultado la literatura especializada, este estudio representa el primero en su estilo que se realiza en ambientes domésticos de la costa ecuatoriana.

CAPÍTULO IV
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

IV.1.- CONCLUSIONES

- Se determinó la presencia de al menos 12 aislados de levaduras en ambientes domésticos de la Costa Ecuatoriana. Entre los mismos, destacan cepas relacionadas filogenéticamente con las especies *Candida metapsilosis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichosporon asahii*, *Phlebia acerina*, *Kodamaea ohmeri*, *Candida intermedio*, *Kodamaea ohmeri*, *Candida haemuli*, *Kodamaea ohmeri*, *Candida metapsilosis*, *Trichosporon asteroides*, *Candida metapsilosis*.
- Estas levaduras presentaron factores de virulencia como actividad hemolítica , proteolítica y capacidad de penetrar el medio agarizado.
- El 100% de los aislados fueron capaces de proliferar a 37°C, misma temperatura a la que se encuentra el cuerpo humano, siendo esto una posible amenaza para las personas inmunocomprometidas. De igual manera, el 50% de los aislados son termoresistentes, siendo capaces de crecer a 40°C.

IV.2.- RECOMENDACIONES

- Adentrarse en el estudio de los aislados obtenidos a partir del muestreo en lavaplatos manuales.
- Amplificar el número de muestras, para un posterior análisis de la diversidad microbiana.
- Garantizar el libre acceso a esta información para posteriores estudios, fomentando el interés en el área.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kulesza K, Biedunkiewicz A, Nowacka K, Dynowska M, Urbaniak M, Stępień Ł. Dishwashers as an Extreme Environment of Potentially Pathogenic Yeast Species. *Pathogens*. 2021 Apr 8;10(4):446.
2. Gümral R, Özhak-Baysan B, Tümgör A, Saraçlı MA, Taner Ş, Yıldırım Ş, Ilkit M, Jernej I. Dishwashers provide a selective extreme environment for human-opportunistic yeast-like fungi. *Fungal Divers*. 2016;76:1-9.
3. Raghupathi PK, Zupančič J, Brejnrod AD, Jacquiod S, Houf K, Burmølle M, Gunde-Cimerman N, Sørensen SJ. Microbial diversity and putative opportunistic pathogens in dishwasher biofilm communities. *Appl Environ Microbiol*. 2018 Feb 14;84(5)
4. Zupančič J, Novak MB, Zalar P, Gunde-Cimerman N. The black yeast *Exophiala dermatitidis* and other selected opportunistic human fungal pathogens spread from dishwashers to kitchens. *Fungal Biol*. 2016 Feb 11;11(2):1-20.
5. Döğen A, Kaplan E, Oksüz Z, Serin MS, Ilkit M, de Hoog GS. Dishwashers are a major source of human opportunistic yeast-like fungi in indoor environments in Mersin, Turkey. *Med Mycol*. 2013 Jul;51(5):493-8.
6. Zalar P, Novak M, de Hoog GS, Gunde-Cimerman N. Dishwashers: a man-made ecological niche accommodating human opportunistic fungal pathogens. *Fungal Biol*. 2011 Oct;115(10):997-1007.
7. Novak Babic M, Zalar P, Zupančič J, Gunde-Cimerman N. *Candida* and *Fusarium* species known as opportunistic human pathogens from customer-accessible parts of residential washing machines. *Fungal Biol*. 2015 Mar;95-113.

8. Grau C, Sánchez D, Zerpa A, García N. Influencia de la actividad del agua, pH y temperatura en el crecimiento de *Aspergillus penicillioides* y *A. terreus* aislados de la carne seca y salada de atún listado (*Katsuwonus pelamis*). Rev Cient (Maracaibo). 2007;17(2):193-9.
9. González J, Romero-Aguilar L, Matus-Ortega G, Pardo JP, Flores-Alanis A, Segal-Kischinevzky C. Levaduras adaptadas al frío: el tesoro biotecnológico de la Antártica. TIP Rev Esp Cienc Quím Biol. 2020.
10. Rintala H, Pitkäranta M, Täubel M. Comunidades microbianas asociadas con el polvo doméstico. In: Laskin AI, Sariaslani S, Gadd GM, editors. *Adv Appl Microbiol*. 2012;78:75-120.
11. Novak Babič M, Gostinčar C, Gunde-Cimerman N. Microorganisms populating the water-related indoor biome. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2020 Aug;104(15):6443-6462.
12. Usuda D, Higashikawa T, Hotchi Y, Usami K, Shimosawa S, Tokunaga S, Osugi I, Katou R, Ito S, Yoshizawa T, Asako S, Mishima K, Kondo A, Mizuno K, Takami H, Komatsu T, Oba J, Nomura T, Sugita M. *Exophiala dermatitidis*. *World J Clin Cases*. 2021 Sep 26;9(27):7963-72.
13. Villalobos JM, Castro JA, Avilés A, Peláez MC, Somogyi T, Sandoval L. *Candida parapsilosis*: principal causa de candidemia en un hospital de referencia para adultos de Costa Rica. *Rev Chil Infectol*. 2016 Abr;33(2):159-65.
14. Tapia C, Correa N. *Candida parapsilosis* complex. *Rev Chil Infectol*. 2015 Oct;32(5):569-70.
15. Pérez Pintado E, Fernández García LM, Pérez Pintado E. Fungemia causada por *Rhodotorula* en un lactante crítico. *Rev Cubana Pediatr*. 2019 Mar;91(1)

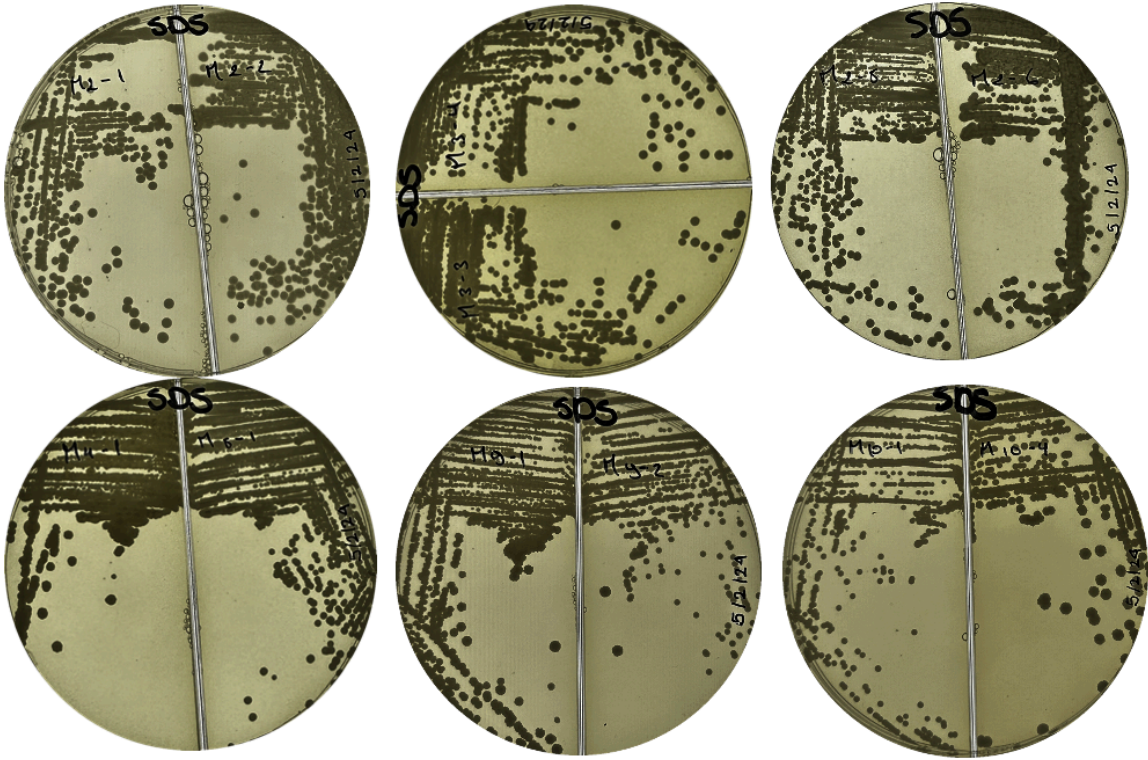
16. Reyes Martínez I, Pérez Morales L, Morffi García M, Barletta Castillo J. Aislamiento de *Rhodotorula*: presentación de un caso en paciente con leucemia mieloide aguda. *Medisur*. 2013 Oct;11(5):542-5.
17. Tapia C, Amaro J. Género *Fusarium*. *Rev Chil Infectol*. 2014 Feb;31(1):85-6.
18. Hosuru Subramanya S, Supram SGACSMRSGPH. Emergence of *Magnusiomyces capitatus* infections in Western Nepal. *Med Mycol*. 2016 Feb;54:103-10.
19. Gostinčar C, Grube M, Gunde-Cimerman N. Evolución de los patógenos fúngicos en entornos domésticos. *Fungal Biol*. 2011;115(10):1008-18.
20. Elfeky DS, Gohar NM. Evaluation of virulence factors of *Candida* species isolated from superficial versus systemic candidiasis. *Egypt J Med Microbiol*. 2016;38(87):1-10.
21. Cafarchia C, Iatta R, Danesi P, Camarda A, Capelli G, Otranto D. Yeasts isolated from cloacal swabs, feces, and eggs of laying hens. *Med Mycol*. 2018;57(3):340-5.
22. Gardini F, Tofalo R, Belletti N, Iucci L, Suzzi G, Torriani S, Guerzoni ME, Lanciotti R. Characterization of yeasts involved in the ripening of *Pecorino Crotonese* cheese. *Food Microbiol*. 2006;23:641-8.
23. Borman AM, Muller J, Walsh-Quantick J, Szekely A, Patterson Z, Palmer MD, et al. MIC distributions for amphotericin B, fluconazole, itraconazole, voriconazole, flucytosine and anidulafungin and 35 uncommon pathogenic yeast species from the UK determined using the CLSI broth microdilution method. *J Antimicrob Chemother*. 2020;75(5):1194-205.
24. White TJ, Bruns T, Lee SJW, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: a guide to methods and applications*. 1990;18(1):315-22.

25. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* 1990;215:403-10.
26. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol Biol Evol.* 2021;38(7):3022-7.
27. Zupančič J, Novak Babič M, Zalar P, Gunde-Cimerman N. The black yeast *Exophiala dermatitidis* and other selected opportunistic human fungal pathogens spread from dishwashers to kitchens. *PLoS One.* 2016 Feb;11(2).
28. Novak Babič M, Zupančič J, Gunde-Cimerman N, de Hoog S, Zalar P. Ecology of the human opportunistic black yeast *Exophiala dermatitidis* indicates preference for human-made habitats. *Mycopathologia.* 2018 Feb;183(1):201-12.
29. Zareshahrabadi Z, Amirzadeh N, Pakshir K, Nasr R, Mohammadi R, Zomorodian K. Evaluation of building washing machines as an extreme environment for potentially pathogenic fungi. *Sci Rep.* 2023;13(1):21408.
30. Gilbert JA, Hartmann EM. El microbioma de interiores y la salud humana. *Nat Rev Microbiol.* 2024. <https://doi.org/10.1038/s41579-024-01077-3>.
31. Gümral R, Özhan-Baysan B, Tümgör A, Saraçlı M, Yıldız T, Ilkit M, Jernej. Dishwashers provide a selective extreme environment for human-opportunistic yeast-like fungi. *Fungal Divers.* 2016;76:1-9.
32. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. Virulence. 2013 Feb 15;4(2):119-28.
33. Furlaneto M, Góes HP, Perini HF, dos Santos RC, Furlaneto-Maia L. How much do we know about the hemolytic capability of pathogenic *Candida* species? *Folia Microbiol (Praha).* 2018 Jul;63(4):405-12.

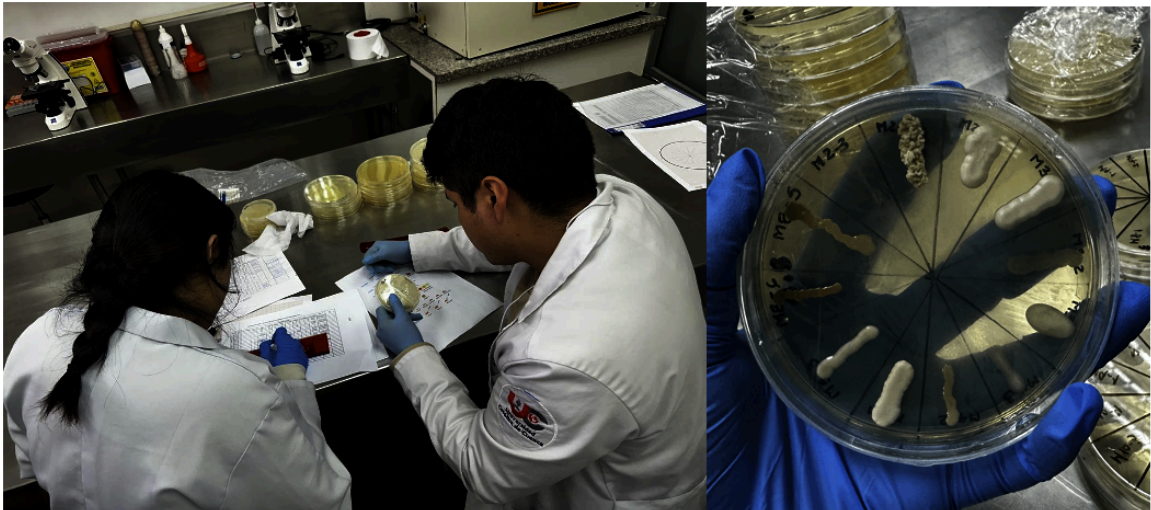
34. Panizo MM, Reviákina V, Flores Y, Montes W, González G. Actividad de fosfolipasas y proteasas en aislados clínicos de *Candida* spp. Rev Soc Ven Microbiol. 2005 Feb;25(2):64-71. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562005000200006&lng=es.
35. Lavrin T, Konte T, Kostanjšek R, Sitar S, Sepčič K, Prpar Mihevc S, et al. The neurotropic black yeast *Exophiala dermatitidis* induces neurocytotoxicity in neuroblastoma cells and progressive cell death. Cells. 2020 Apr 14;9(4):963.
36. Furlaneto M, Góes HP, Perini HF, dos Santos RC, Furlaneto-Maia L. How much do we know about the hemolytic capability of pathogenic *Candida* species? Folia Microbiol (Praha). 2018 Jul;63(4):405-12.
37. Thambugala KM, Daranagama DA, Tennakoon DS, Dona Pamoda WJ, Hongsanan S, Xie N. Humans vs. fungi: an overview of fungal pathogens against humans. Pathogens. 2024;13(5):426.
38. Mohr KI. Diversity of Myxobacteria—We Only See the Tip of the Iceberg. Microorganisms. septiembre de 2018;6(3):84.
39. Rappe MS, Giovannoni SJ. The uncultured microbial majority. Annu Rev Microbiol 2003;57:369-94.

ANEXOS

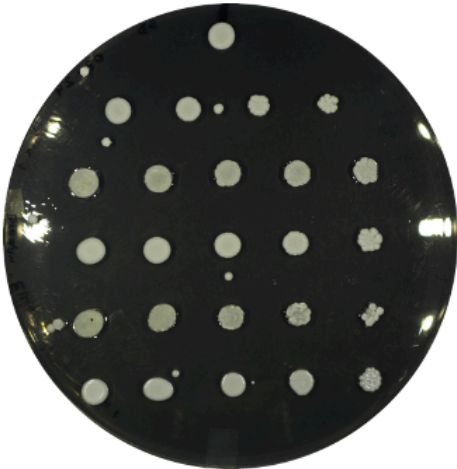
Anexo 1. Aislados puros.



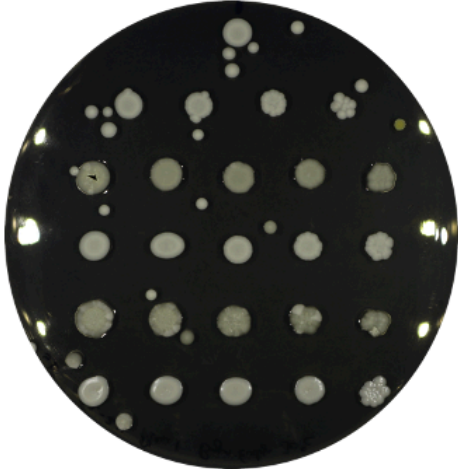
Anexo 2. Selección de las cepas y purificación.



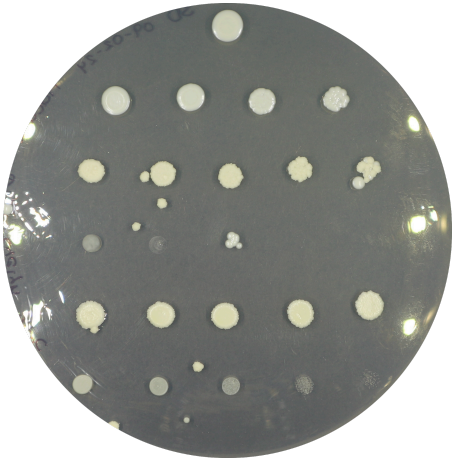
Anexo 3: Crecimiento de las levaduras a diferentes temperaturas.



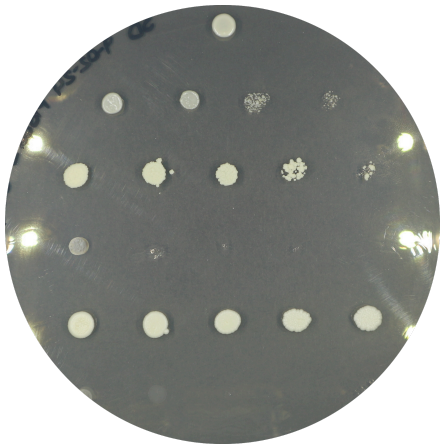
25 °C



30 °C



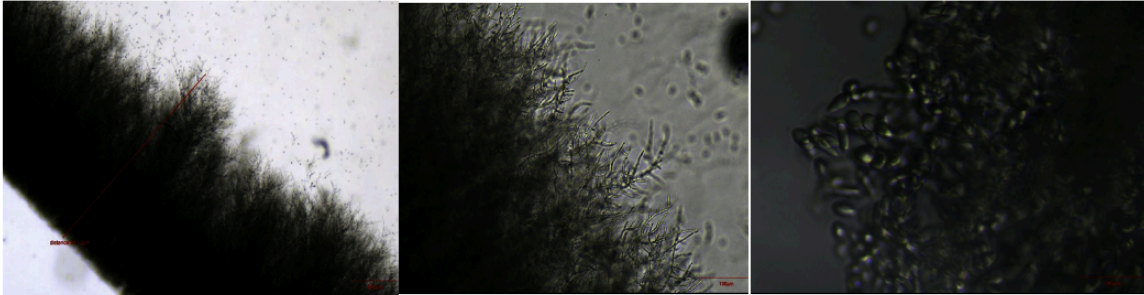
37 °C



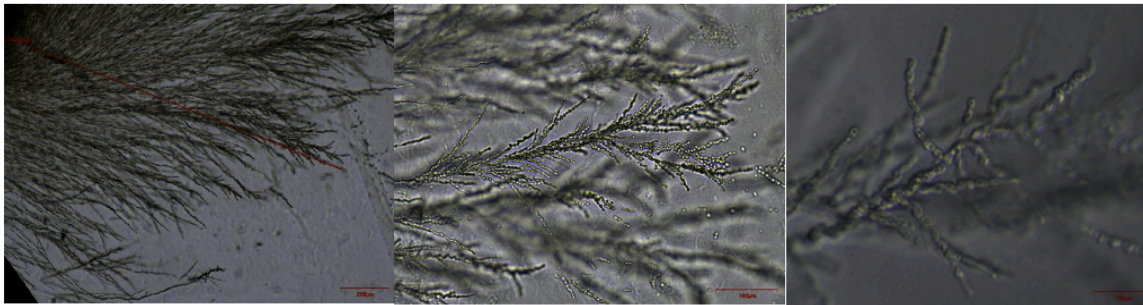
40 °C

Anexo 4: Capacidad de penetración de levaduras vistos bajo el microscopio con lente óptico de 4x, 10x y 40x.

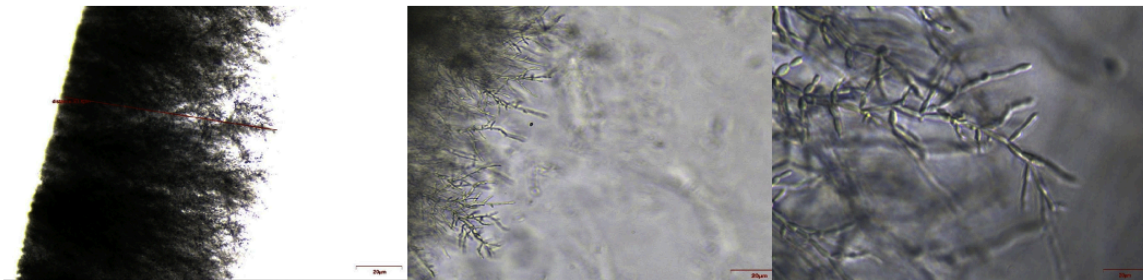
Aislado M2-1.



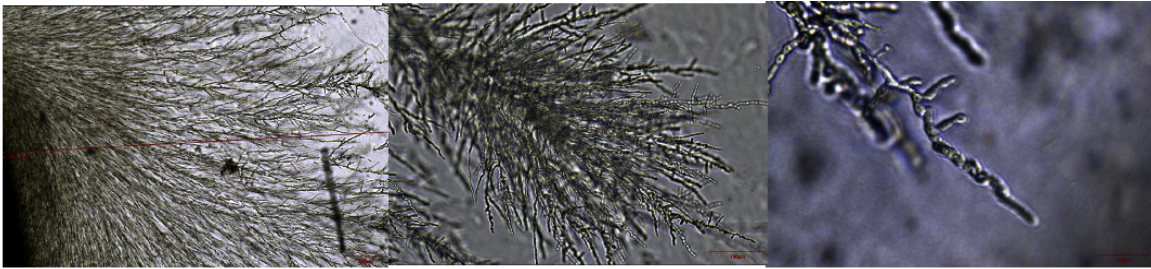
Aislado M2-2..



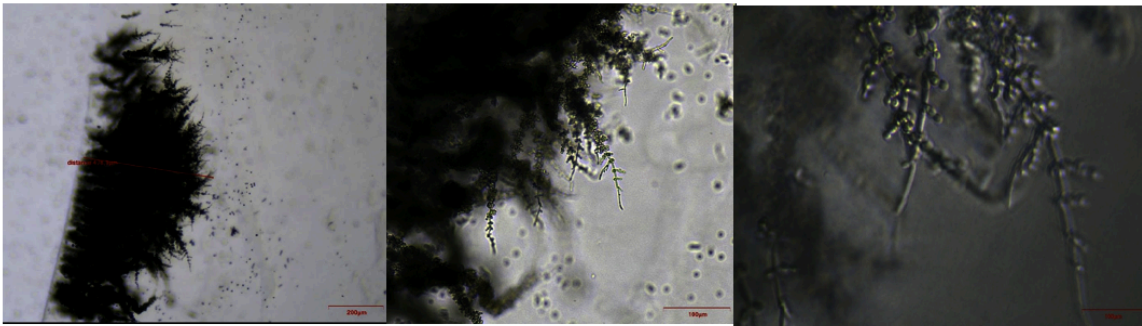
Aislado M2-3.



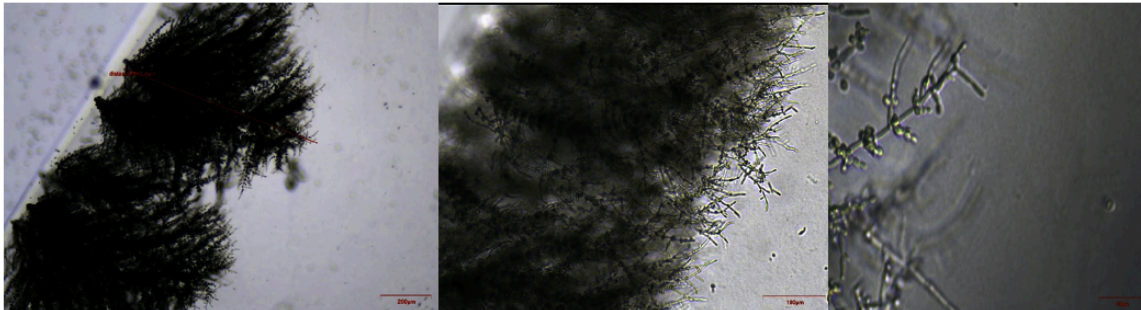
Aislado M2-4



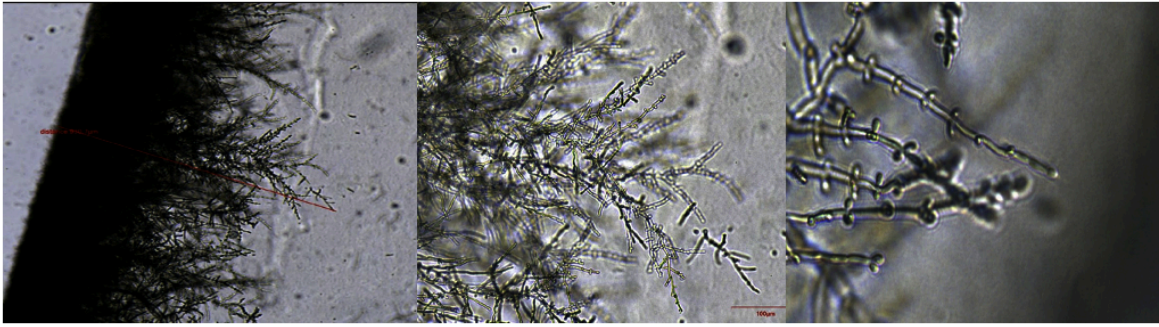
Aislado M3-1



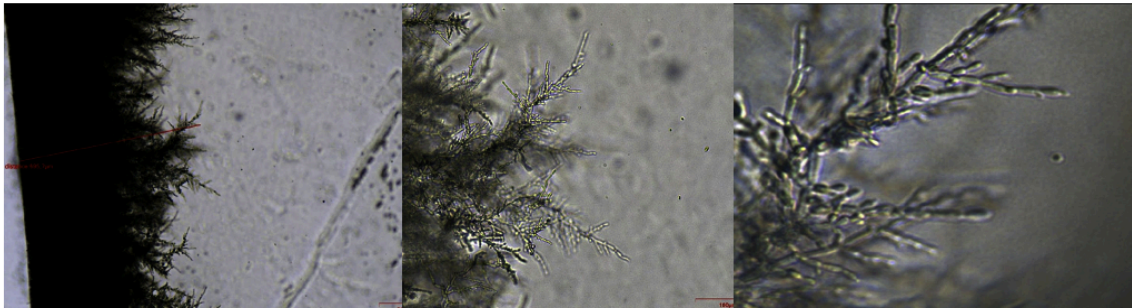
Aislado M3-2



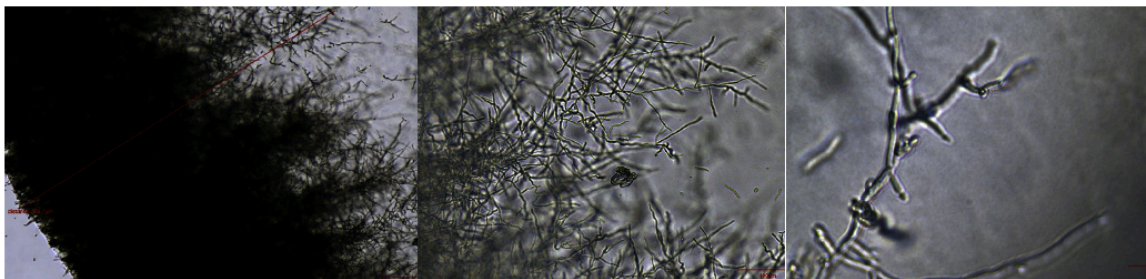
Aislado M4-1



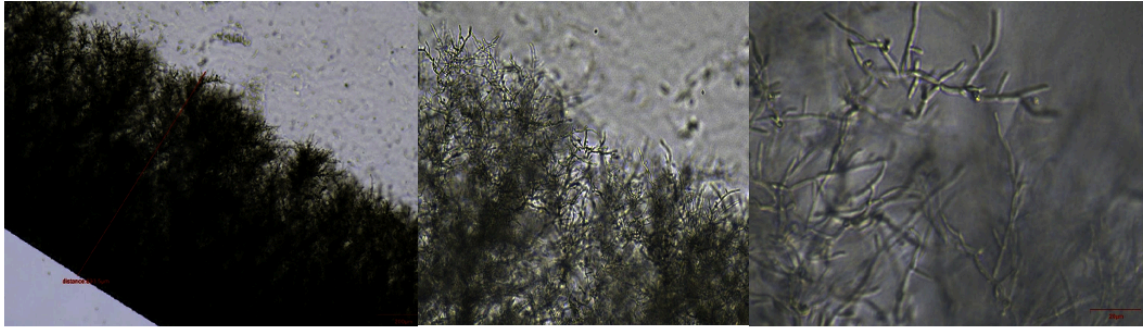
Aislado M5-1



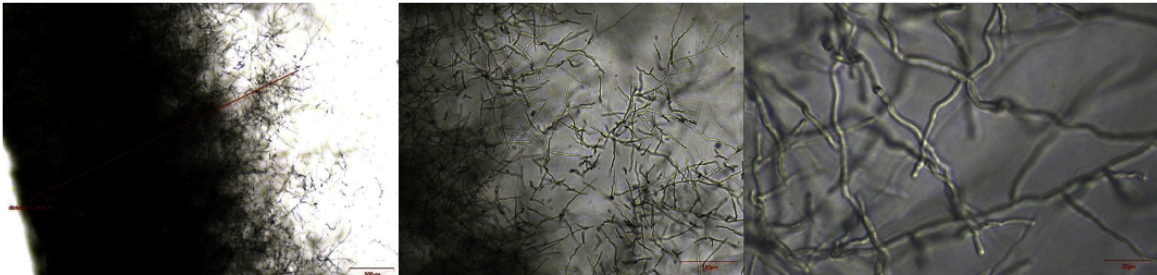
Aislado M9-1



Aislado M10-1



Aislado M10-2



Lavado de aislados para determinar su capacidad de penetración.



Anexo 5: Análisis de secuenciación.

M2-1.

12 ITS1.txt

```
1 >H240625-003_023_12 ITS1.ab1 1409
2 GGACGGCGATTTCGAGAAGTTGCTCCCTGCATACTAAATCCATACCATGTG
3 TCCCCATCCCCCGAAAACCTGCTCGGTGGCCACGGCTGCCAGAGT
4 TCAAACCTAACCAAACTACTATTCATCGTCAACTTGATTAATAATAGTCA
5 AAACCTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGCATCGATGAAGAACGCAGC
6 GAAATGCGATAAGTAATATGAATCGCAGATATTCGTGAATCATCGAATCT
7 TTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCAAAGGGCATGCCTGTTTGAG
8 CGTCATTTCCCTCAAACCTTCGGGTTTGGTGTGAGCGATACGCTGGG
9 TTTGCTGAAAGAAAGGGGAGTATAAACTAATGGATAGGTTTTTTTTTC
10 CACTCATTGGTACAACTCAAACATTCTCAAATTCGACCTCAAATCA
11 GGTAGGACTACCCGCTGAACCTAAGCATATAAAACCGGGGGGAAAAACA
12 GGTGTGGCTTTTTCTTTAGTACTGGAAAAACGGACTATCTCTGGAAAT
13 AACCGGATTTTGACCGAGTTGAAAAAGTCATGATCAGAGATCGGTCTTAT
14 GTCGGTGTAGCGCCACTAGTGGTTTGATAATCGCCTTTGGCGATTTTTT
15 AAAGTTATAGCAGCTGTTATGCCTGTGCGTCTAAACCTCGAGGTAATAC
16 TCGCACCATATAGTTTTAGGGGACGCGACACCCGGCACTGATGTCGGCG
17 CTATGTGAGTAACTGCCTGTACCTGTGGACTTCCAGGGAGCAGCAGTA
18 GTCCAGTTAATTTGAATCTGTCAACCGCTATTGGTGACGCGCTGCCAT
19 CAAACAGGGCTGTGGCCTCGCCTCAAATATTAGCTAGATCCATCCTA
20 TCCTTGATACATGTTATGACGTAGGCGTATCGCCTCGAATACACTGGCAGG
21 AAGTGTGCGAGTGGTTAGATTTGTGATGAAAGCCACGACGGCTTACATT
22 ACCGAAGCAGTGGCAGTGTATGAGTGCAGCGAGTGCAGGCAATACCG
23 AGCCATTAGATCCTTCACTCAATGTCCAAGATCTATAAAGTGGCATGTG
24 TTTGACGTGATGATGCTGATACAGTGTCTGCTGGTGGCTCTGAGATTCT
25 GGTGATGCGTGTGATCAGGATAATGATGTCGTCGACCTCTAAGGG
26 GCGTCGACTGTATATCTAGGCACTCAGTTCGTGCGCATCAGCATCATAT
27 CTGTTACTCGTGTCTGTGATATCATTGTTGCTCTAGCAGACCG
28 CTCGAGCGTACCATTTGGCGGTGTCTCGTCCAGTGTCTGCACACTCGTA
29 CATCGATCAAAGATGTGGCTGATCTGCGACTCATTGAACAACTCAGTCGA
30 CGAGACGAC
```

M2-2 .

18 ITS1.txt

```
1 >H240625-003_I02_18 ITS1.ab1 585
2 CTAAGGGTGAATTCGGTCGATCAGCTTACCTTGGAGTGCACAACCTCTCTC
3 TTTCTAACCCGTGTACACTTGTGTGCATATTAACCTCTCGAAGGAGATCTG
4 ACTCCTATTGAATTGTTAAGCAAAGGCTTTAAATGTGTTAGATTTTATA
5 ACTAAATTTTACTTTCAACTTCGGATCGCTTGGCTCTGGCATCCATGAAG
6 AACCCCCGAAGGGCCTGTGATTAGTGTGAATTGCCGAATTCAGTGACTC
7 GGCAAATCTTTGAACACTGCTTGCCTCCGTGGAATTCGTGGACCATGC
8 CAGCACGAGTGTGTTTGGCGACTTCAATCCTCAGCTTTCTTAGGATTGACG
9 AGGAACTGGGCTTGAAGAATTTGGTGGCTTTACGGTCTAGCTCGTTCGT
10 AATGCAAGTAAACCCCGAATGGAACCTTCCGATTGACTTACTAGAC
11 TATTCGCTGAAGACTTCTGGTCATCCGACTATAGCCGAGTTGCGTTGCGG
12 AAATCTAATCGAATGCCTACGTTAAATGATTAGATCTCAACTCAGGTA
13 GGACTACCCGCTGACCTTTGACGTTGAGAATACAC
```

M2-3

19 ITS1.txt

```
1 >H240625-003_K02_19_ITS1.ab1 1675
2 GTGGCTTGGTGATTGCCTTTATAGGCTTATAACTATATCCACTTACACCT
3 GTGAACGTGTTCTACTACTTGCACGCAAGTCGAGTATTTTACAAAACAATGT
4 GTAATGAACGTCGTTTTATTATAACAAAAATAAACTTCAACAACGGATC
5 TCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGACGGAATTGCGATAAGTAATGT
6 GAATTGCAGAAATTCAGTGAATCATCGAATCTTGAACGACGCTTGCCTC
7 TCTGGTATTCGGGAGAGCATGCTGTTTCAGTGTGATGAAATCTCAACCA
8 CTAGGGTTTCTAATGGATTGGATTGGGGCTGTCGATCTCTGATCGCT
9 CGCCTTAAAAGAGTTAGCAAGTTTGACATTAATGTCTGGTGAATAAGTT
10 TCACTGGGTCATTGTGTGAAGCGTGCTTCAATCGTCCGCAAGGACAA
11 TTACTTTGACTCTGGCTGAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAG
12 CATATCAATAAGCCGGGAGGAAAAGTTTTAAGATTAGATCACAATCAGA
13 TACGACTACGAGCAGACCCAGGCTATTAATTCAGGAAGGAATAAGAGATT
14 GGGGGGAGCGGCGAGAGGGATCTACTAGCGTAGCGAGGACTCGGTGGAGC
15 CAGCGGGCCAGTTTTGCGGTCGACAGCGAGGGGGAAGAAATTTGCTGAGAA
16 CAAGACGCTGTGTGGGTAAAGAGAAAGGGATAAAAGGGGCCGAAAGG
17 CTGAAAGGCAAGTTCAAGTGGTCCCCTGCGAGTTCTGAGAGAATGGTTGAG
18 AGATCGCCGGACCCAATGTAGAGTGAATCGTAGGCCCTGGAGCGGGATAG
19 CAATAGAAATGGGGGCGGGGAAGTCTGCGGGTTGGTGGGAGCCGTGA
20 TGGCTTGTCTGGGGGCGAAGTTGAGGACAAAGCCACTAAAGAAGGGGG
21 TGGGATGCAATGGTGGTGAAGGAGGGCGTGGGGAAGGGTCAAGGTACG
22 AGAACCTCTGGATAGGTTATTCGGGGGCGATGGGGAAGAGTGGGGGG
23 CTGATGAAAGAGTCGGGGGGGGCTGATGTCGTCGAACACCTGGGTTATC
24 TCGGCGGACTATCTAGCATTACGCGATCTCGACGGGAACCAATGGAGAG
25 AGATCATATCGATGGCATCAATGACACGGTCTCAGTGGCGCGAATTG
26 ACGTCAATCGTCTCGAGACTCGACGATTGGGGTGGGCGGACGAACTGGC
27 GCGCGCATCGCATATCGCGCCGAGTCGACGCTCGTCTGATCGAGACGG
28 AATCGACACACACTCGCAACCGGCGATCGGTGAACCTACTGTCTGCTCT
29 TGCAGGAATATGACGTGGGGCAAGGTGGGGTAGTGAACGGTCCATCGGAT
30 CATGAGGGAACAGGAATCGAATGGCGTAGGTTTACGATAAATGGCGTG
31 AGATGGTGTACGCTCAGCATGGACGACGCGGATGACGGGAGTTGACCG
32 GTGTGGAACCCCGTGCATTTCCGACGTCGAGGTGACGTATCGCTGTCGA
33 TTCGGCGAATTCGTGGGGGCGTGGGGGGTGTGAATGTGGCCGATGCGT
34 GGAATGGCGAGGGCGGAAAATTTGGGAGAGCTGTGTATCAAAAGAGAGAA
35 TCGGGAATTGCTGCTGTTGAAAAAC
```

M2-4

20 ITS1.txt

```
1 >H240625-003_M02_20_ITS1.ab1 588
2 GGGATTTATTATTGTATTCAGTGTGTTTGAAGCAACACAATTAACATTTA
3 ATATTTCAATAACCTAAAAAAAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTG
4 GTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAATTGCGATACGTATCATGACT
5 TGCAGACGTGAATCATCAATCTTTGAACGCACATTGCGCCTTGAGGTATT
6 CCTCAAGGCATGCCTGTTTGAAGCGTCCGCTCCCTCAAACCCCGGGTTT
7 GGTGTTGCCTTCGAAATATCACAGTTGTGCGCAATACGTTACTTCAACTT
8 TATCTTTCCGCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATA
9 TCAAAAACCCGGAAGGAAAAGTCCGCGTGTCTGTGTTCTGCTTAGATC
10 GTTCGTAGAACATATTAATCAGCGACCGAATTCAGATTGACTTTGGTCT
11 ATAGTCTATTCGCTGATGATTCTACTTTACAAGATTCGAGTTGCGTTAAA
12 TGATGCTCCTAATCCTATAGTCTATTATTTGATTAGATCTCGGTGAGTAG
13 GACTACCCGCTGAACTTCAACTATACGCTGGACCCATG
```

M3-1.

21 ITS1.txt

```
1 >H240625-003_002_21_ITS1.ab1 380
2 GAAGGGGAAATCGTATTTTAACTGCCGTTCTTGAAACCTCACTCTCTCT
3 TTCTAAACATGTCTTTATGTAAAATTCCTAACACTTTCTTCACAGAGCTT
4 CTGGTTCCTCGCATCGAAAATGAACGCATCTAATTGCTTTCCTAACTTCCA
5 ATCGCAACTCTTGAATCATCGAATCTTTGACCGCACTTTGGACCATTGG
6 GTATTCCAATGGTATGCTTGTGTTGAGAGAATACTTCCCTATTCCTCAG
7 GATTGTATTGTGTTTCCCGAAAACAATGACGACAGTACTCTCCTGAACG
8 GTTCCGTCACTACTCTCTTTTATTTCTCAAATCAAGTAGGACTACCCG
9 CTGAACTTAATCATATCAATAACCGGAGGA
```

M3- 2

22 ITS1.txt

```
1 >H240625-003_A04_22_ITS1.ab1 1400
2 GGGATTTATTATGTTTACTTTGTTTGGAGCAACTAATAACCATTAATA
3 TTTCAATAACTTAGAAAAATCAAACCTTCAACAACGGATCTCTGGTTC
4 TCGCATCGATGAAGAAGCAGCGAATGCGATACGTATGACTTGCAG
5 ACGTGAATCATCAATCTTTGAACGCACATTGCGCCTTGAGGTATTCTCA
6 AGGCATGCCTGTTGAGCGTCGGCTCCCTTCAAACCCCGGGTTGGTGT
7 TGCCTTCCGAAATACACAGTTGTTGCAATACGTTACTTCACTTTATTC
8 TTTGCCCCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTAAGCATATCAAA
9 ACCGGGGAAGAAACGCTTGTGCGGAAC TAGGTTGCTACTTAGGACCACA
10 GAAACGCATCAGAAGGCAGGTCGAATCTGACGCGCGGCTCGATCTACGAA
11 GTGCTACCGAGAAGACTTCGATATCTCTAGGTTTCATTAGCGGTAAGTAC
12 GCTAGGGTCTGCAGTACCCATATGACCCCTACAACCAGCGTTTGGAGG
13 CCTGCCCTTGTGCTACTGCTAAAATCAGGCCCGGGCAGCACAAATGACT
14 ATATCTACCTTCGTTTGGCAACGAAGAGGTCACGCTAGCTAGTTACATGT
15 TAGGAGGACGATAGACAACGGGCGGACGTGCATGGTTAACTAAGACAG
16 TCCTGCTCTGAGACTACTGTGCTGCGCCACGGACTGGCAGCCTCGTTGCC
17 TGGGTCTATCGCTTTCTGTGTAAGGATAATAGGCTTCGAACATTCCT
18 AAAACGTGCGTGCCTGGCCAGCTGCCGGCTGAGATCTGATGGCCCCG
19 AACTCCCTAATCGTCCAAATCCAAGATCAGTCTTTGGACGTCACGTCAT
20 GTTATCGTAGACTCACTCTGATTACAGTCTACCGCTCAGACTTAGAATC
21 TGATTGTTGTAGGGTCTGCCACTCGTGCTCCGACGACATGCTCAGG
22 TCATATAGCTTTATCACCCTGACTACTGTTGGCTCGGGGCGGCCACGG
23 GGCAGATATGTAAACATCTGTGGTTTAGCCCTCCCTGAGGCCACGGA
24 TGCTTGTGTCGGTGTACGGCATCAATGAACTTCAACGCGACACCCG
25 TTACCCTGCCCCTGAATGTCACGCTGAATCGAGGGTGAGTCGAGTTGGTC
26 TCTGAGGGAGGCTTCTCGCGGCTTAATCGGCCGAGGATCTTCACTGAT
27 CTGGGTCGCGTCACTCTCAGGTCATGTGGGATTGCGGTCGACGCACTG
28 GGTTCGCGATCAATCTCAGCCTCGTGAAGTGAGGTTGGACGAATCCTC
29 CGCTTTCTCCTTCAACGCCACAGCTGTACGTTGGTCGAGTCTCACAC
30
```

M4-1

23 ITS1.txt

```
1 >H240625-003_C04_23_ITS1.ab1 480
2 GGTAAATTTATTTTTCTTACCCACTGTTTTTCTACAACAAAACAAAT
3 TCTATTTTAAAAACAATTTCTTTCCAAGTAAATTTCTTCAAACCTCCTCA
4 ACAACCGGATTCTCTCTGTTTTCTACGCATTGATTGTAAGTAACGTCAAG
5 TCGTAAATGCGTATCTCGTCAATCACGTAATACGTCAAGCCTACTACGG
6 GTGATTCATACGAATACTTTTGAACGCACATTCGCACATTCGGGTATTTC
7 CCAATTGGTATGCTTTGTTTTCGAGCGAATACTTCCCTAATCCTCACGGAT
8 TGTATTGTGTTGCACGAAAATAATGACGACAGTACTTACAAAACGGTA
9 CCGTCAGTACACTATTTTTTTTCTCAAATCAAGTAGGACTACCCGCTG
10 AACTTAAGCTATCTAACCCCGGGAAAAAAGACGCCTTGTCCTTTTTCT
11 TCACATAATGCACCTCGAAAGAGGGGGGTG
```

M5-1

24 ITS1.txt

```
1 >H240625-003_E04_24_ITS1.ab1 2510
2 GGGGATAAATCTTTTCAAACCTTGTGTTGATTAAGCAACACCGTTAA
3 GTTCAAAAATCTAAAACAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGC
4 ATCGATGAAGAAGCAGCGAATTGCGATACGTAGTATGACTTGCAGACGT
5 GAATCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCCTTGGGGCATTCCCAAGG
6 CATGCCGTGTTGAGCGTGATATCTTCTCACCGTTGGTGGATTGTTTCTA
7 AATATCATGCCACAGTGAAGTCTACGCTTTCACTGCTTTTTCCCTCAA
8 TCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAGCCCGGAAGGAA
9 ACTGAACTTAAGCATATCAAAGAACCAGAAAAAAGCGGAGACATATC
10 GTATATTCGCGACATATAATGACCGCCAGAGAGCGAAAGTGCCTCGGATT
11 CGACCATCGAGCAGGTAGTACGTGCGTAAAGTAAACGTAAGTAAAGCCTT
12 ACTAGAAATGACTTTCCGGAACCATACAGCCTAAGGGCTACAGCAGTA
13 ACGACTGGGTACAAAACGGGTAATGGGCTCCCGGGGAGATTCCCTTTAT
14 GCCCCCGTGTTCATAAATCCTTTAGTTATTTTGCAAATCCCGGCCTAA
15 ACATACCTTTCCGCGGGTTGATCAAAAAGGGAAGCGTTTCGTTCTTGG
16 AAGGGGACTTCGTGAAACACACACTCTCCTTTCCGCGAGCTGGCAGCGT
17 TACAAAGCGAAAGCGCTGAGGTCCAGCCGAGAGGGCGGAGAAGTCGGGA
18 AATCACACAGTCTGGTCATATTAACGACGCTCGGCTTTTCTCTCAAC
19 TCTTTTCCAGACAGGGTGGGACGGAAAATTAAGATCTCTTTATACG
20 AATGAGGGTCTGTTTACATGGTGGGAGCATCACGGTCAATAGGTCTG
21 CGGCGGTTCTGCCTCGAGGCTCGTCGACGGTCCCTGGGGCTCGCCTCC
22 TTGGTCCAAAACCTCTTCGACGGGAACGTCGTCGGTATCGAAAAACAAC
23 AATCCTTCGAGTCGTCGGGCGAAAAGTGGGAGGTAGGAAGAGCCCTCT
24 AAACGCCCATCGGGGAAGGGTCTTATCCACCACCCCAAAAATCGATCGC
25 CTTTAGAGTCACTTCGTGCGCTCTCTCGCGCGATAGCTCAACGGAGAA
26 CCAAATTTTTGTTGAATGGACGACGCCAACGCATCACAAATGGGGCGCA
27 CGTGGTACAATCAGGAACCCCTCGTCTCGTCCGGTCCACATGGGGGGG
28 CAGAAGGATGGCGCCGACCTCTCTCTCATACGTTTTAACGTTGGCCG
29 CGCGGGTGACAAAATCGATCCTTTTTCTGTCCAGACGGCAGAGGTTTC
30 GTTTCGCGTCTGACGCTCTTTGCATCTGTTACTTTTCGCCGCATCAGAA
31 TACACATCGTTTATGGTCCATCAGAAGGCACACATGGGTAATGTTTAC
32 AATCCTTTCTCTCGGCCGCGCGCTGACCTCTGCAATCGCAGCGGAGGA
33 GAGTCATCTCGTTCAGGAGTCTCGAGGAACATCCATCGAGAGGTCGG
34 TGCTTAGTCTCAGAAATGGTCTAAGCACATCTCTATTGGTCTTGGG
35 GCAGTCTGTTGGCGACGGCTCAACCATCCTCGAAGGGCGCGCCTATCT
36 GTTCCCATCGCCTTCGTGCTCAAGGAAGGTATGTATCGCTGTTACCA
```

M9-1

25 ITS1.txt

```
1 >H240625-003_G04_25_ITS1.ab1 605
2 GGTAAATCTATTTTTTACCCAACCTGGTTTTTCCCTAAACAAAACAAAT
3 TCTATTCTAAAACAAATTTCTTTACAAGTAAATTTCTTCAAACCTTCTCA
4 ACAACGGATTCTTTGGTTACTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG
5 CGATACGTAATACGAATCGCAGCTACTCGGAATCATCGAATCTTGAACG
6 CACATCGCACCATCGGGTATTCCTAATGGTATGCTTGTGTTGAGCGAATAC
7 TTCCCTAATCCTCACGGATTGTATTGTGTTGCACGAAAATATGACGAC
8 AGTACTCTACAAAACGGTACCGTCAGTACACTCATTTTTTTTCCCTCAAAT
9 CAAGTAGGACTACCCGCTGAACCTAAGCATATCTAAACCCGGGAAGAAAA
10 ATTCGGTTGGTCTTTAACTATGCCTTAAGGCACAAGAACACTTATCTTGA
11 CGTGAGAAATGATTTGTCTTGTCTTGTGTTTTGATATTCTACTTAATAA
12 GTTTCGAGTTGCGTTAAACGCTGCTCCTAATCTTCTGGTCTATTTTTTCA
13 TTCTATCTCGACTCAGTATGAGTACCGCTCAGGTTAGAATATTCGCTGA
14 CCTTA
```

M9-2

3 ITS1.txt

```
1 >H240625-003_M21_3_ITS1.ab1 1970
2 GGGAAAAAATGGAAAAGTTGCTCAACTGCAATCCTTTCTTTAAAT
3 ACACATGTTGTTTTTTTTTTTTGAAAACCTTTGCTTTTGGTGGGCC
4 ACGGCCTGCCAGAGATTAAACTCAACCAATTTTTTCATTCAATCTGTCAA
5 CTTTGTAACTAATAGTCAAACCTCTCAACACGGATCTCTCGTACT
6 CGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGAATCGCAGA
7 TATTCGTGAATCGAATCTTTGAACGCACATGCGCCCTTGGTATTC
8 CAAAAGGCGATGCTGTTTGGCGCTATTTCTCCCTCAAACCTTGGGTTT
9 GGTGTTGAGCGATACGCTGGGTTTGTGAAAAGAAAGCGGAGATAAAC
10 TAATGGATAGGGTTTTTTTTTCCACTCATTGGTACAACTCAAACATT
11 CTTCAAATCAACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTAAGCA
12 TATCAAACCGGGGAAAAAATAATGCTGCTAACCTTTTAAATTTCT
13 ACTAATAAGGTCTGAGAAAAAATTTCCGACATGATACGGCTGACGG
14 TATGTGGCATATCACATAGTGTGTTGGTCAAGGATGATACTTCCATGTT
15 CAAATAGCACGACGGTATGGTTGGTGGCCAGTAGGAGGAGCTGCGGT
16 GACGAGGATTGAACGTGTAAGACTCTCCCTGAAGTCACTGTGCAAGTA
17 CCGTAAGCAACTATTAATGCGACGCTGCGCTAGCAGAGTGAATGCAAG
18 CGCGAAAAGGACTGAAATGTGCATCTCGCAGTGGTTATCATCAATCA
19 AGGTTCTACTCAGTCTGCATTGGGTATCTAACTAGTTATGACCGTCGAA
20 GCAGATTCTGTCAGTACGCACACAATCACATGCATACTGTACTAAGTTGT
21 GTCTAGTACTCACCCTCCAGCGCAGTTGTGTAGACGTCGCTCGTG
22 ATGCACAATCAGGTATGGATCAGACACGCGAGGCTACACGAGGAGTCAG
23 CTATACTCGTTTCACTGATGTCGCTGACGCGCAGGCTCAGAATTAAGC
24 GTGGTCTACGATCGGTTTCTACGCTGCTGTGAGATACAGTGTCTTAC
25 GTAGACGATAGTGCAGTACGATTGTAACATGAACGGTCTGATTGAGT
26 GTGGTTACGTTCCAGAAGATGCACTGTGCGACAATCGAGTCTGACTTG
27 GCTGACATGCACATACATAGGGCAATAGTGCCTGATTGGCGGCACGCTC
28 GCGTGTGACGTACGTATAGAGGACGCGATCAATAGTACATCTTGGGAC
29 TATATCGTCCATACTATGTAGATTGCGCTGTACTACGCTGATGCCACG
30 CCGCATAGGTTAGTGGCTGGATGATGGCGTTGACGAGATAGCTCTGAT
31 GGTCTCGAGCAAGTATTTCGACCTGACTCAGTAGCGGATCGCGAAGTG
32 ATGACGTACGGTATCGCAGAGACGGTTACGTCATCGTGTGTTGTCGCG
33 TCGTGTGCTATCTCTATCAGCATCGACGGCTCAGAGCTGAACTCAC
34 ACACCTGATATGAATGCCGGATGCGATAATGTCGCGCTCTACTTGGAT
35 GACGAGCTCTCGCATCTGTGCTGAGTGTTCGGATATGAGTCCGGGTG
36 AGATGTGTAGTACCTGACAGTAGGACGATAAGCGAATGTACACGAGACG
37 CACAGGCTCGTTGGCTTTTACGACTTCTGAGCTATGACGACGCTGACTG
38 ACGACAAGATACATCGTAATGATCATCTTGAATCCGTGCGTGTGAGTGA
39 TCGACAAGTACATACGTAATGATCATCTGATACGACTACATAGAGTCAGC
40 AAGCGAAAGTATGTGAAGACTTTACGCGAGTATTAGATCAATAGCACG
41 CGCTATACGACATACATC
```

M10-1

6_ITS1.txt

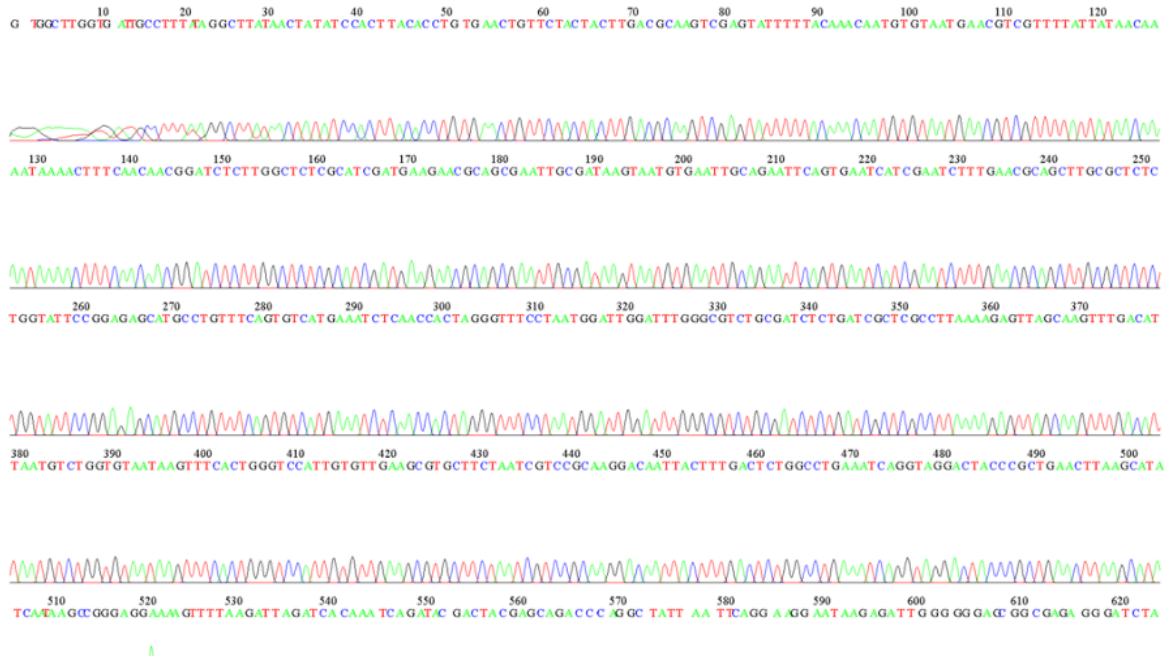
```
1 >H240625-003_C23_6_ITS1.ab1 1094
2 GGAAAAATGAAGCCTTAAATGGCTAAAACTAATATCCACTTCACACCTG
3 TTGAACTGTTATACTACTCTGACGCAAGTACGAGTCTTTTTACAACAAT
4 GTGTAAACGAACGTACGTTTTTCATATAACAAAATCAAACCTTTCAACAAT
5 CGGATACTACTTTGGCTTCACGCATACGATTGAAGAACGCAGCGAATCGC
6 GATAAGTAATGTCGAATTCGCAGAATTCAGTCGAATCATCGAATCTCTT
7 GAACGCAGCTCTGCGCTACTCTGGTATACCGGAGTAGCATCGCCTTGTTT
8 TCAGTCGTCATTGAAATCCTCAACCACTAGGGTTTTCTAATGGGATTTG
9 GATTTTGGGGCGTCTGCGATCTCTGATCGGCTCGCCTTAAAAGAGTTAAG
10 CAAGTTTTGACATTAATGTCTTGTGGTAATAAGTTTCACTGGGTCCATTG
11 TGTTGAAGCGTGCTTCTAATCGTCCGCAAGGACAATTACTTTGACTCTGG
12 CCTGAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAAACCGG
13 GAAAAAAAAAATATCGTTTTAAAGATTATAATCTCTGTTAAAGGGTAGC
14 GACGAAAAAAAACTGAACTGTAAGCATACATAACAACTCTGAAAAAAAA
15 CTCTATGTGTGGGGAGAGAGAAAAGGATAGTGGTCGGGGGTGCCCTGCGG
16 GTAGCAGCAGGTATCCCTAGATTGTCAGGGAGTTCGACTCGATTGCCGAG
17 GTTGTACAGAGATTGATCACCCGCCACCGAAGACCAGTGGTCCCCTAT
18 CATGGGACGCCATACCGAAGTTAGTCATATTGCGCGGGCGTAACGTAGCC
19 TCGGTATGAGGTAACGAACCGGGGATAGACGAACTCTGGGGAGTGTGCG
20 TCATAGTGTAGTATGAGACACAATATTGTGGATGTCGCGAATCACGAAGT
21 GCGATGAGAGACAGGACAGGGCAAAGAAAGTCTTACACCTTAGCACTC
22 ATAGCGTAAGTGACAGTTCAGGAAGGGAGGTGTGACGTTGATGCAGGCGC
23 GCGTAGGCTTTGAGAAAGCGTGAGTCACATATTTCACTATATGG
```

M10-2

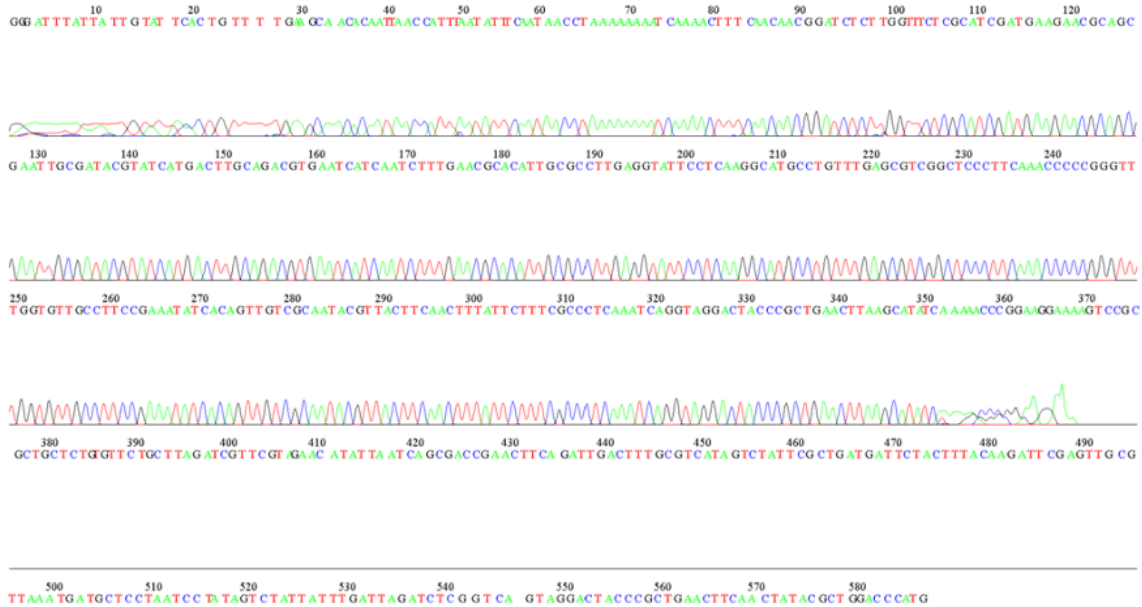
7_ITS1.txt

```
1 >H240625-003_E23_7_ITS1.ab1 1020
2 GGACGGATATATCGAGAAGTCGCTCCCTTGCATACACAATACATACCATG
3 TGTAAATCAAAAACGAAAATATGCACGGTGGGCCACGGCCTGCCAGA
4 GACCAACAAACCAAAAACTTTAATTGTCAACACGATTAATAATAGTC
5 AAAACCAAAACACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGC
6 GAAATGCGATAAGTAATATGAATCGCAGATATTCGTGAATCATCGAATCT
7 TTGAACGCACATTGCGCCCTTGGTATTCCAAGGGCATGCCTGTTTGAG
8 CGTCAATTTCTCCCTCAAACCTTCGGGTTTGGTGTGAGCGATACGCTGGG
9 TTTGCTTGAAGAAAGGCGGAGTATAAACTAATGGATAGGTTTTTTTTT
10 CCACTATTGGTACAACTCCAAACATTCTTCAAATTCGACCTCAAATC
11 AGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAGGGGGGAAAAAAAA
12 CATGTAGATATAGCGAGCTTACACCTAAGATAGAGAGAAAACTCGTGAC
13 TTCATCTAACATAACTATGCACTGGATTTTGGTAATGCGGTGCGCCAGACC
14 GTGATCGGTTCCCTGGCGAATTCGGTACCCCTGATCAAGATGACGTAGTG
15 AGGTACGCGATGCCAGCGCACAGTCTGTTGATGGGATAATACTCACTG
16 GCATCCGGCATAGAGCAATTCTGGGCGATTCGAACATAGTGTAACAATC
17 GCCCAGTGCACAGTAGTCTGCGGTTTGGATGATGAAGCATGTAGTCA
18 GATAGTAGCTTAAGCGCTTCTCTGCGGGCGGGTACTTCTGTATGATGCA
19 GTTGAGAGTAGTCAATTAAGTAGTAGACCGAGTGAGCCAGAATAGTGGGT
20 ACTAGATTCTGCGAGGCTGTGGAGCGGTAGATCACCTTGATTCAGTGT
21 GTTTAATAGACTCCACACCACAGGCACAGGCTATGCGGCATAGATGCAC
22 ATATTGTTGCGGGTGACATG
```

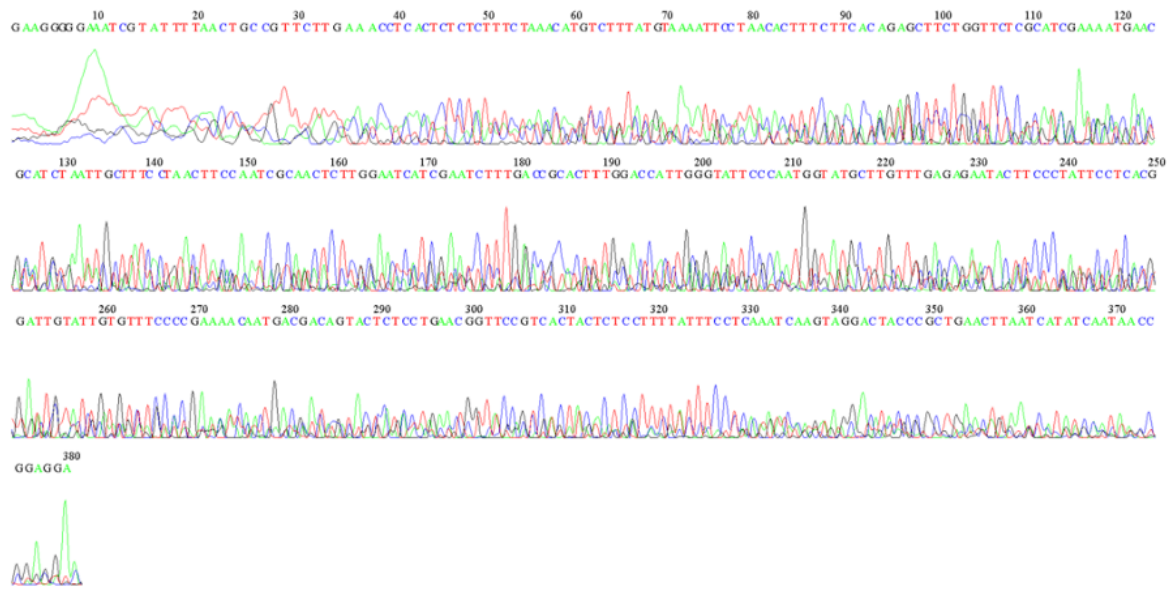

Genoma M2-3



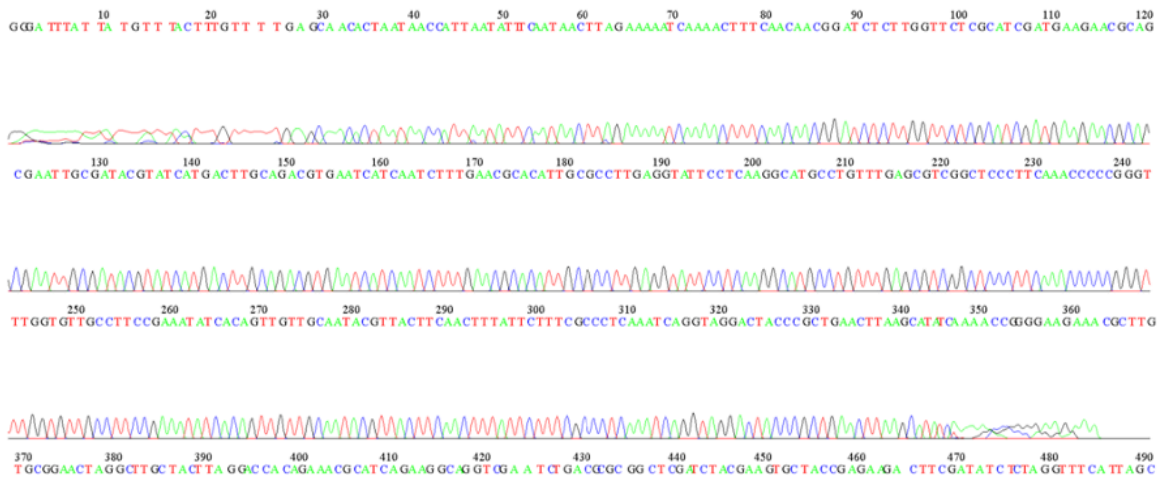
Genoma M2-4



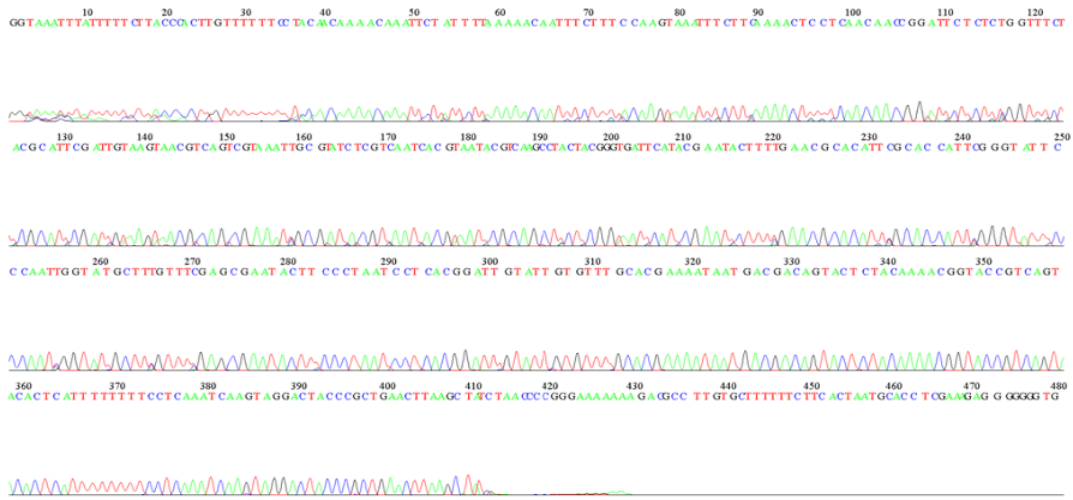
Genoma M3-1



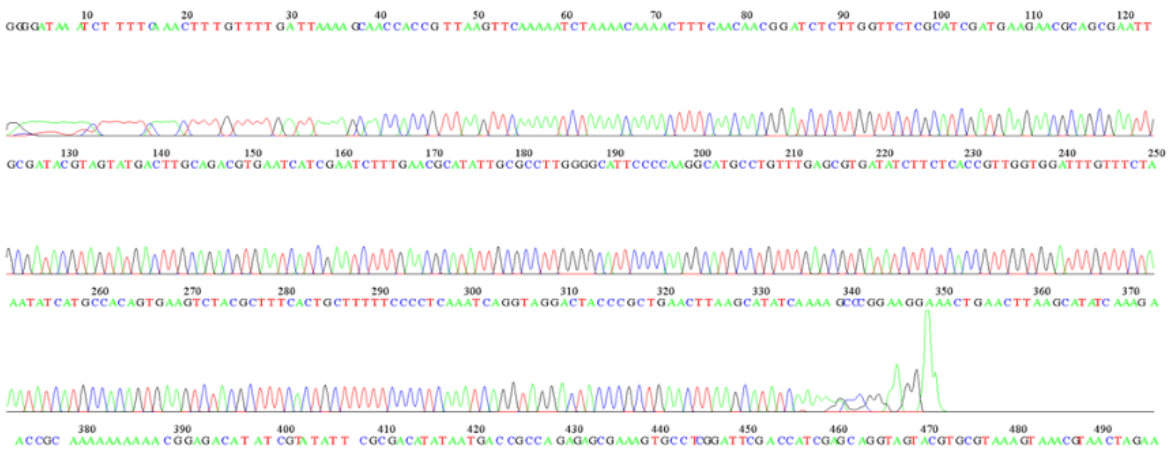
Genoma M3-2



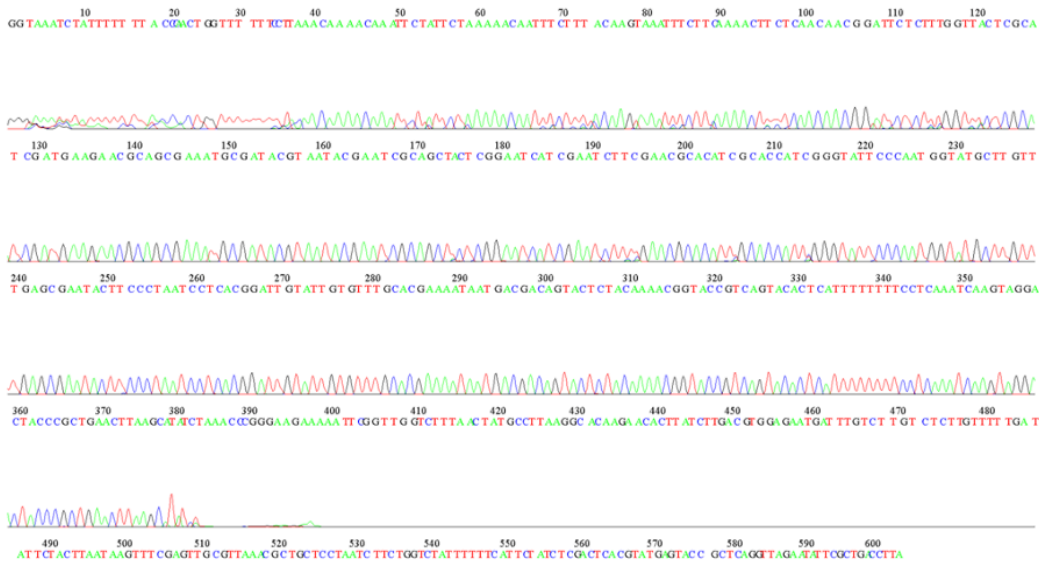
Genoma M4-1



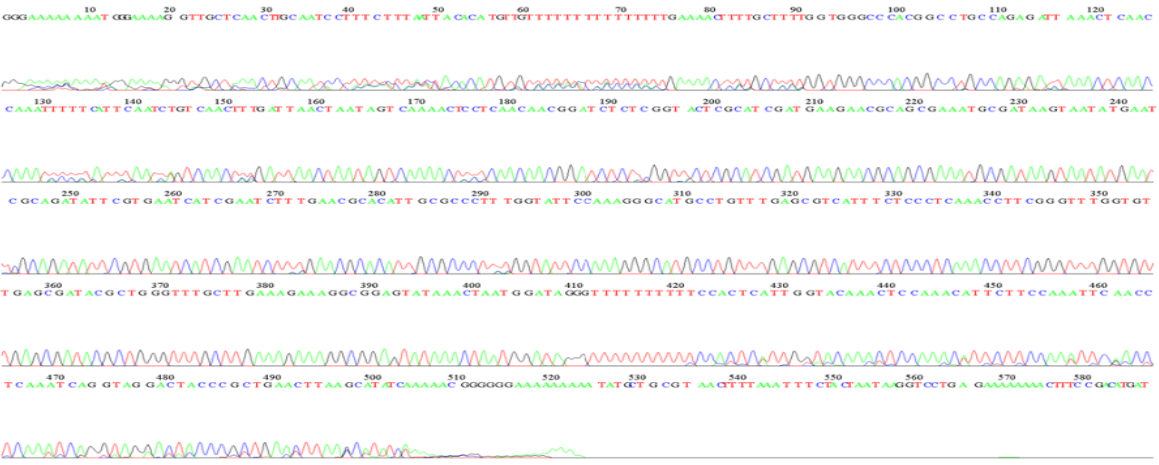
Genoma M5-1



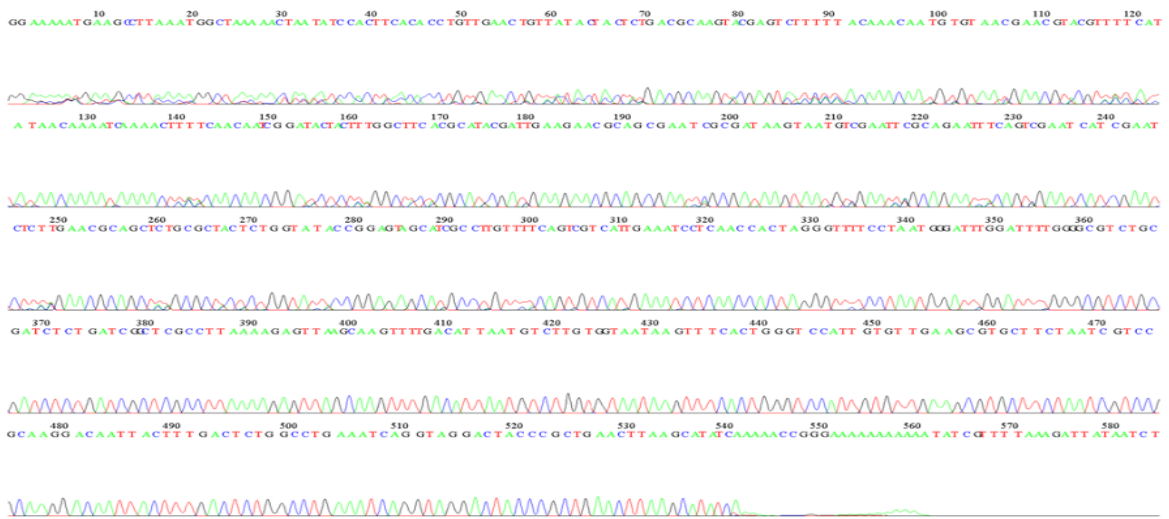
Genoma M9-1



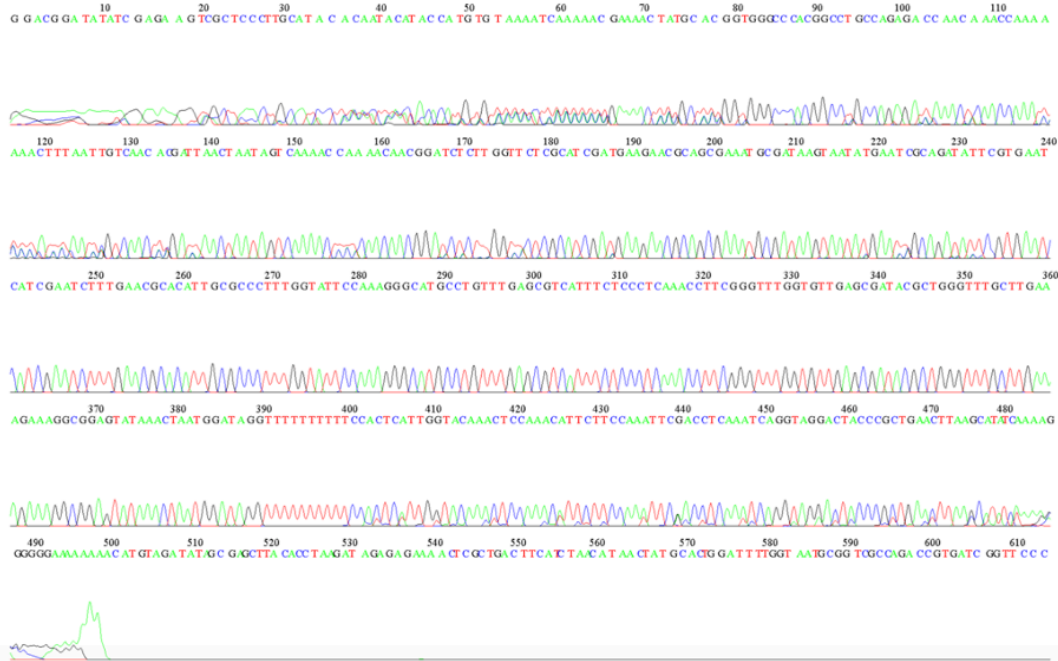
Genoma M9-2



Genoma M10-1



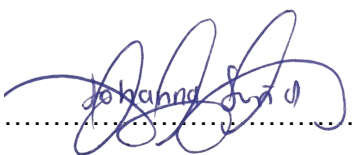
Genoma M10-2



Autorización de publicación en el repositorio institucional


Evelyn Johanna Suña Solano portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0350274965**. **Bryan Fabricio Vega Lema** portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0302323936**. En calidad de autores y titulares de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación **“Ambientes domésticos de la costa ecuatoriana como reservorios de levaduras potencialmente patógenas”** de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconocemos a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizamos además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **16 de octubre de 2024**

F: 

Evelyn Johanna Suña Solano

C.I. **0350274965**

F: 

Bryan Fabricio Vega Lema

C.I. **0302323936**