

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**Evaluación microbiológica de la calidad del aire en tres zonas del Centro  
Cultural-PUCE**

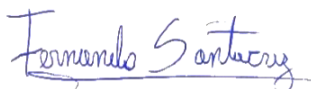
**Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en  
Microbiología**

**EMILIA ALICIA MONTENEGRO ECHANIQUE**

**Quito, 2023**

## CERTIFICACIÓN DE FINALIZACIÓN DE LA DISERTACIÓN

Certifico que el trabajo presentado por la Srta. Emilia Alicia Montenegro Echanique ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.



---

**MSc. Fernando René Santacruz Flores**

Director

Quito, 16 de junio de 2023

## **DEDICATORIA**

A mi familia y amigos. A quienes siempre estuvieron para mí y me apoyaron en todo momento. A mis abuelos Emilio Echanique, Alicia Riofrio, Jorge Montenegro, Judith López, y a mi tío Roque Echanique, que me cuidan desde el cielo.

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios y a mi familia, que son mi pilar y mi fortaleza. A mis padres, Jorge y Alicia, por su amor, su entrega y por ser incondicionales en cada etapa de mi vida. A mi hermano, Alberto, por ser mi mayor impulso para seguir adelante. A mis tíos y primos, por su cariño; en especial a mi tía Mercedes Echanique por cuidarme, estar siempre pendiente de mí, alentarme y darme consejos.

Agradezco a Melanie Luna, una gran persona y amiga, que me ayudó en muchos aspectos y durante la carrera; de igual manera, a Alexis Quintana, Amanda Estrada, Santiago Carrera, Emily López, y a los chicos del Laboratorio de fitopatología y control biológico por su amistad, ayuda y por esas tardes de café, risas y buenos momentos.

También a mis profesores que me acompañaron y me aportaron conocimientos muy valiosos. Al Centro Cultural, el Museo Jacinto Jijón y Caamaño, y específicamente, a la Mgtr. Elena Granda por su iniciativa y por tomarme en cuenta para el trabajo. Al MsC. Fernando Santacruz por su guía, sus consejos y su dirección. Al PhD. Martín Marcial por siempre apoyarme, escucharme, por su constante ayuda y por tener fe en mí. A la Mgtr. Jeniffer Yáñez por su generosidad y asesoría. A la Dra. Iliana Alcocer y a la Mgtr. María Fernanda Yauri por permitirme trabajar con ellas y ganar conocimientos. Por último, agradezco a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

## TABLA DE CONTENIDOS

Resumen .....	1
Abstract.....	1
Introducción.....	2
Materiales y Métodos .....	4
Resultados.....	6
Cuantificación de la carga microbiana.....	6
<i>Screening</i> enzimático y determinación de índice de degradación .....	7
Caracterización macroscópica, microscópica y molecular .....	7
Discusión .....	8
Conclusiones.....	12
Agradecimientos .....	13
Declaraciones de conflictos de intereses .....	13
Contribución: .....	13
Referencias bibliográficas: .....	13
Tablas: .....	18
Figuras .....	23
Firmas .....	26
Anexos:.....	27

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Carga microbiana en los distintos puntos muestreados .....	23
<b>Figura 2.</b> Características macroscópicas y microscópicas.....	24
<b>Figura 3.</b> Electroforesis de resultados positivos .....	25

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Valores de la media y la desviación estándar obtenidos a partir del recuento de microorganismos .....	18
<b>Tabla 2.</b> Probable estadístico de los microorganismos en los puntos muestreados y cálculo de concentración en UFC/m <sup>3</sup> .....	19
<b>Tabla 3.</b> Resultados de índice enzimático.....	19
<b>Tabla 4.</b> Microorganismos con mayor índice de degradación y su caracterización .....	20
<b>Anexos</b>	
<b>Anexo 1</b> Tabla de registro de temperatura y humedad y concentración microbiana .....	27
<b>Anexo 2</b> Tabla de estadísticas de la regresión de los factores de temperatura y humedad frente a la concentración de mesófilos aerobios .....	28
<b>Anexo 3</b> Tabla de estadísticas de regresión del factor porcentaje de humedad y concentración de mesófilos aerobios .....	28

El siguiente trabajo de investigación se presenta en el formato de la Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas a partir de la siguiente página

**Evaluación microbiológica de la calidad del aire en tres zonas del Centro Cultural-  
PUCE**  
**Microbiological assessment of indoor air quality at three areas from PUCE-Cultural  
Center**

Montenegro Echanique Emilia Alicia<sup>1</sup>

1. Pontificia Universidad Católica del Ecuador , Facultad de Ciencias Exactas y Naturales,  
Quito, Ecuador

**Resumen**

El Centro Cultural-PUCE es una institución que exhibe y mantiene una gran colección de bienes históricos como las momias de Maranga, documentos, textiles, entre otros, que han presentado signos de deterioro. Por eso, el presente estudio tiene como objetivo determinar la calidad microbiológica del aire del lugar y estudiar a los microorganismos que puedan influir en el biodeterioro en base a su capacidad enzimática. Se realizó un muestreo en tres zonas mediante método volumétrico en agares *Plate Count*, Papa Dextrosa, Carboximetilcelulosa, Almidón y Gelatina. Se determinó la concentración microbiana en cada área y la capacidad de degradación enzimática de los aislados. Posteriormente, los microorganismos con índice enzimático mayor a 1,5, fueron caracterizados macroscópicamente y microscópicamente e identificados mediante técnicas moleculares. Se registró una mayor carga microbiana en la oficina de los curadores entre las áreas evaluadas. Se encontraron 38 microorganismos con capacidad de degradación amilolítica, celulolítica y proteolítica en todas las zonas analizadas, 17 de ellos con un alto índice de degradación. Los géneros *Penicillium*, *Priestia*, *Streptomyces* y *Pseudarthrobacter* presentaron un índice enzimático más elevado, de 2,78, 4, 5,67 y 2,17, respectivamente. Por lo que, se confirma la presencia de microorganismos con alto potencial de degradación que puede aportar en gran medida al biodeterioro.

**Palabras clave:** bienes históricos, biodeterioro, calidad microbiológica de aire, capacidad enzimática

**Abstract**

PUCE-Cultural Center is an institution that exhibits and owns a vast collection of heritage assets such as Maranga mummies, documents, textiles, among others, which have shown deterioration signs. Therefore, this study aims to determine the establishment's microbiological indoor air quality and to study microorganisms that may cause biodeterioration based on their enzymatic

activity. Volumetric air sampling was performed in three areas using Plate Count, Potato Dextrose, Carboxymethylcellulose, Starch and Gelatin culture media. Microbial concentration of each area and isolates' enzymatic activity were determined. Subsequently, macroscopic and microscopic characterization, as well as, molecular identification was performed on microorganisms with an enzymatic index above 1,5. The curators' office contained the largest numbers of microbial load out of the three analyzed areas. A total of 38 microorganisms with cellulolytic, proteolytic and amylolytic capacity were isolated from the three areas, 17 of them with a high degradation index. *Penicillium*, *Priestia*, *Streptomyces* y *Pseudarthrobacter* presented the highest enzymatic index of 2,78, 4, 5,67 and 2,17, respectively. Hence, the presence of elevated degradation potential microorganisms that can contribute greatly to biodeterioration was confirmed.

**Key words:** heritage assets, biodeterioration, microbiological indoor air quality, enzymatic activity

## Introducción

El Centro Cultural-PUCE es un establecimiento de educación no formal integrado a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Organiza actividades, exposiciones y eventos varios, abiertos al público y a los estudiantes, sobre todo relacionados con el arte y la historia. Se compone de los siguientes establecimientos: Museo Jacinto Jijón y Caamaño, Museo Weilbauer, Reserva de artes, salas de exposición temporal, Archivo Juan José Flores y Memorial José María Velasco Ibarra (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, 2023). Es custodio de aproximadamente 80 000 bienes que representan un patrimonio con alto valor histórico y cultural. Entre los más importantes se encuentran, textiles, trajes, elementos de cerámica, documentos, pinturas, bienes orgánicos, y una colección de 46 restos momificados del complejo arqueológico Maranga, pertenecientes a la Cultura Lima (S VI-VII d. C.); a pesar de su antigüedad, no se ha realizado ningún monitoreo para determinar el estado de sus colecciones ni de sus ambientes. Además, debido al paso de distintas administraciones, no se garantiza que las colecciones se hayan mantenido en condiciones óptimas de preservación. Es así que, en el año 2019 se empiezan a evidenciar signos de daño en la apariencia de las piezas. De igual manera, se conoce que los curadores y encargados de las colecciones, no hacen uso de equipos de protección individual al entrar a las reservas, lo que, puede ser un factor predisponente a la contaminación cruzada y afección a los bienes.

Es importante mencionar que el deterioro aparente y la carga microbiana guardan una gran relación con el aire interior de un establecimiento. El aire posee un microbiota denominada alóctona, pues se suspende en él a partir de distintas matrices como agua, tierra y seres vivos. Es un medio óptimo para el transporte de microorganismos desde una zona a otra, y contribuye a la calidad microbiológica del aire. Este último, es un concepto que hace referencia a la carga microbiana presente en un área. Las condiciones del ambiente, como humedad, ventilación, tránsito de personas y temperatura pueden contribuir con la proliferación de microorganismos dentro de un área (Caorsi et. al., 2011). Gracias a la diseminación microbiana de una zona hacia a otra, y su proliferación, los microorganismos pueden depositarse sobre los bienes y producir biodeterioro. Debido a esto, se dice que la calidad del aire es inversamente proporcional al biodeterioro (Espinoza Tomayquispe, 2020).

El factor microbiológico puede influir en gran manera en la alteración de los bienes. Esto se conoce como biodeterioro, que resulta en el cambio de la apariencia estética de los bienes causado por la actividad de los organismos biológicos. Se pueden observar cambios de color, manchas y apareamiento de biopelículas. Este fenómeno está mediado por metabolitos y enzimas de origen microbiano (Cepeda et. al., 2019), relacionados a la diversidad y versatilidad metabólica de los microorganismos. Debido a la variedad de componentes de las piezas de los museos, estos pueden representar sustratos que permiten el crecimiento de distintos microbios. Es por esto que, se considera que los elementos exhibidos en los museos son susceptibles al biodeterioro al estar expuestos a la contaminación microbiana (Scarlat et. al., 2017). La mayoría de estudios reportan que las actividades de degradación con mayor incidencia en la alteración de los bienes son celulolítica, proteolítica y amilolítica (Espinoza-Tomayquispe, 2020).

Varios estudios señalan que los microorganismos más influyentes en el biodeterioro de bienes patrimoniales son hongos filamentosos y bacterias (Scarlat et. Al, 2017), debido a la capacidad de producción de enzimas que degradan los materiales que los componen. Entre los géneros fúngicos más reportados, se puede mencionar a *Aspergillus*, *Penicillium* (Link, 1809), *Cladosporium* (Link, 1816), *Rhizopus* (Ehrenb., 1820), *Rhodotorula* (Harrison, 1927) y *Alternaria* (Nees, 1817), (Scarlat et. al., 2017; Valentín et. al., 2011). Por otro lado, los géneros bacterianos que más se relacionan al deterioro de colecciones son *Bacillus* (Cohn, 1872), *Streptomyces* (Waksman y Henrici, 1943), *Clostridium* (Prazmowski, 1880), *Micrococcus* (Cohn 1872) y *Staphylococcus* (Rosenbach, 1884) (Borrego et. al., 2011; Valentín et. al., 2011; Scarlat et. al., 2017). Es así que, la presente investigación involucra un estudio en el que se

evalúe el aire de tres zonas del Centro Cultural-PUCE, para determinar la presencia de microorganismos degradadores y su incidencia en el biodeterioro de los bienes.

## **Materiales y Métodos**

En primer lugar, se hizo una revisión del establecimiento para determinar las zonas de muestro, en base a aquellas que podrían estar relacionadas con la contaminación cruzada y el número de muestras. Se seleccionó a la oficina de los curadores, la zona de cuarentena y la vitrina de la exposición “Recreación de Maranga” de la zona del Museo Jacinto Jijón y Caamaño. Posteriormente, el número de muestras para cada espacio se determinó en función del área (m<sup>2</sup>) según el protocolo establecido por Rivadeneira Calvache (2012). Se establecieron un total de cinco puntos para las oficinas (O), uno para la vitrina (V) y seis para la zona de cuarentena (ZC). Sin embargo, aunque el metraje de la zona de cuarentena establecía 5 puntos, se agregó el muestreo del área interior de la cámara de nitrógeno en donde se guardan bienes orgánicos. El código establecido para cada muestra se determinó con la inicial del lugar, el nombre del medio, el número de réplica y el número de aislado.

El análisis se llevó a cabo mediante el método volumétrico con el equipo MAS-100NT® de 300 orificios, previamente calibrado. Se programó una absorción de 250 litros de aire en un tiempo de dos minutos y treinta segundos y se registraron condiciones de porcentaje de humedad (%H) y temperatura de cada punto con el uso de un termohigrómetro. El muestreo se realizó por duplicado en cada punto con cinco medios de cultivo sólidos: Agar *Plate Count* (PC), Agar Papa dextrosa (PDA), Agar Almidón (AA), Agar Gelatina (AG) y Agar Carboximetilcelulosa (CMC) en cajas Petri de 90x15mm. Los dos primeros medios se emplearon para el conteo de mesófilos aerobios y mohos y levaduras, respectivamente. Los tres restantes se usaron para evaluar el índice enzimático de los microorganismos por medio de la producción de halos de degradación. Cabe destacar que, para el medio de cultivo AA se empleó lugol como revelador y para CMC rojo Congo al 1%. Los medios para mesófilos aerobios se incubaron a 30°C durante 24 a 48 horas. Por otro lado, los cultivos de mohos y levaduras se incubaron a 28°C de 72 a 120 horas.

Los conteos de mesófilos aerobios y de mohos y levaduras se efectuaron durante el mismo tiempo de incubación para cada caso. Para su cuantificación se utilizaron los valores del probable estadístico ligados a la tabla de conversión brindada por el manual del equipo para establecer un factor de corrección que otorgue un valor más real de las posibles partículas que pudieron haber entrado por un orificio. Posteriormente, se aplicó la fórmula propuesta por la NTP 299 (Instituto Nacional de Higiene Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST), 1995) de

manera que se expresó la concentración de microorganismos en unidades formadoras de colonias (UFC) en cada área por metro cúbico (UFC/m<sup>3</sup>). Con estos datos se realizaron análisis con estadística descriptiva en representaciones gráficas. De igual manera, se determinó la relación entre la carga microbiana y los promedios de temperatura y humedad de las distintas zonas. El resultado de la concentración se contrastó con la escala de Omeliansky presentada en el trabajo de Rodríguez García (2016).

Debido al crecimiento masivo en los agares para evaluación enzimática, se aisló por punción a los microorganismos en cajas Petri de 60x15mm en el mismo medio del que fueron recuperados para efectuar el *screening* enzimático. Gracias a esto, se pudo medir el diámetro de la colonia y el halo generado. Para el cálculo del índice enzimático se utilizó la fórmula planteada por Florencio et. al. (2012). Se seleccionaron los microorganismos de mayor índice enzimático, aquellos con un valor mayor o igual a 1,5, para el posterior análisis microscópico y molecular. Por otro lado, también se escogieron aquellos microorganismos encontrados en varios puntos.

Para la caracterización microscópica, se utilizaron técnicas de tinción Gram y montaje en placa con azul de lactofenol, para bacterias y mohos, respectivamente. Posteriormente, se extrajo ADN de los aislados seleccionados de los de mayor índice enzimático, con el *Promega Wizard Genomic DNA Purification Kit* mediante el protocolo indicado por el fabricante. Se realizó la amplificación de la región 16S para bacterias e ITS para hongos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El *primer forward* que se utilizó para la región 16S fue 27F 5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3' y el *primer reverse* 1492R 5' TACGGTTACCTTGTTACGACTT 3'. Para la amplificación de la región ITS se empleó el *primer forward* ITS1 5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3' y *primer reverse* ITS4 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'. Se siguió el protocolo de amplificación establecido por el Laboratorio de fitopatología y control biológico de la PUCE.

A partir de esto, se realizó electroforesis en gel de agarosa al 1,5% y TAE buffer 1X, a 95 voltios durante una hora. Se utilizó un control positivo, un control negativo, y una escalera molecular de 100 pb para ITS y 1 Kb para 16S, se utilizó SYBR<sup>TM</sup> Safe para el revelado de los controles y las muestras. Una vez obtenidos los perfiles de bandas, se envió a secuenciar las regiones amplificadas, por el método Sanger. Aquellos en los que no se obtuvo amplificación, se realizó una reacción con betaína a 0,5 M y 1 M. Las secuencias generadas se analizaron por medios de *softwares* bioinformáticos. Se usó el programa MEGA11: *Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11* (Tamura, Stecher y Kumar, 2021) para la eliminación de ruido de las secuencias. Para la identificación de las secuencias se utilizó la base de datos de *National*

*Center for Biotechnology Information* (NCBI) con la herramienta *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Para establecer la identidad de los microorganismos, se consideró un porcentaje de similitud mayor o igual a 97%. Por último, se comparó la presencia de los microorganismos encontrados en las distintas zonas, en búsqueda de la evidencia de contaminación cruzada.

## **Resultados**

### **Cuantificación de la carga microbiana**

La cuantificación de la carga microbiana se realizó en los distintos puntos establecidos por cada área como se observa en la Tabla 1. Para cada punto se calculó el promedio de entre las dos muestras tomadas y su desviación estándar, cabe destacar que, los decimales se redondearon al tratarse de UFC. En la gráfica de barras generada se observa que los sitios con mayor presencia de partículas microbianas registradas son los puntos 4 y 5 de la oficina de los curadores del Museo Jacinto Jijón y Caamaño, con valores que oscilan entre las 200 a 300 UFC (ver Figura 1).

Se realizaron las conversiones al probable estadístico (P. r.) y se estableció la concentración microbiana por punto muestreado de cada zona. Se determinaron los parámetros estipulados por la fórmula de la NTP 299. Se estimó un flujo de aire de 33,33 y 7,5 unidades de tiempo y se reemplazó en la ecuación según cada caso (Ver Tabla 2). Se registraron concentraciones por sobre las 100 UFC/m<sup>3</sup> e inclusive, que sobrepasan las 500 UFC/m<sup>3</sup> en algunos casos.

Las condiciones registradas de temperatura para la oficina oscilaron entre los 20,7 °C hasta los 21,3 °C y porcentajes de humedad entre 48 % a 49 %. En la vitrina se obtuvo una temperatura de 21,3 °C y humedad de 47 %. Por último, la zona de cuarentena la temperatura oscila entre 19,6 °C y 20,5 °C, y la humedad entre 47-51 % (ver Anexo 1). Mediante el análisis de regresión y correlación múltiple entre las condiciones de humedad y temperatura con respecto a la concentración microbiana, se estableció un coeficiente de correlación de 0,26 para mesófilos aerobios y de 0,28 para mohos y levaduras (ver Anexos 2 y 3). Por otro lado, para el valor de coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) se determinó un 7 % para mesófilos aerobios y un 8 % para mohos y levaduras (ver Anexos 2 y 3).

### **Screening enzimático y determinación de índice de degradación**

Se encontraron en total 38 microorganismos, tanto hongos como bacterias, con actividad enzimática. Se registraron 22 con actividad amilolítica, 16 con actividad proteolítica y uno con degradación celulolítica. Se reportaron en total 17 aislados microbianos con un índice mayor a 1.5, específicamente, siete hongos y diez bacterias (Ver Tabla 4).

La capacidad amilolítica, presentada en 22 de los aislados, fue la actividad enzimática más observada ente los microorganismos estudiados. Por otro lado, se obtuvo 15 aislados positivos para degradación proteolítica. La actividad celulolítica fue registrada en un solo aislado fúngico. Según las proporciones por área, la zona de cuarentena presentó un total de 26 microorganismos enzimáticos, seguida por la oficina, con siete y por último la vitrina con cuatro.

### **Caracterización macroscópica, microscópica y molecular**

La descripción macroscópica y microscópica se desglosa en la Tabla 4. Cabe destacar que, se incluyó un hongo no enzimático (*Asp. Of.*) que se presentó en varios puntos muestreados en el área de la oficina y en la zona de cuarentena. Este aislado presentó características similares a las relacionadas con el género *Rhizopus* spp.

Los resultados de las tinciones Gram no revelaron microorganismos esporulados, pero sí una predominancia de bacilos Gram positivos. Aunque, también se detectó la presencia de actinomicetos, por las características de colonias secas y la observación de filamentos largos Gram positivos. En base a las características observadas, se establece que gran parte de los aislados fúngicos comparte características macroscópicas y microscópicas. En estas se pueden incluir, colonias planas, aspectos aterciopelados del micelio, colores verdes de las colonias y presencia de un filo de color blanco. En el caso de las características microscópicas se establece una prevalencia de hifas hialinas, con septo y fiálides alargadas o elipsoidales y esporas redondas en cadena.

Posteriormente, se hizo una selección de microorganismos de los de mayor actividad enzimática en conjunto con el aislado registrado como *Asp. Of.* Para esto, se codificaron los hongos y las bacterias como se muestra en la Tabla 4. Se generaron perfiles de bandas de la región ITS para únicamente para los aislados fúngicos ZC-P6-Ag1 H1, ZC-P2-AA1 H7, O-P2-CMC2 2 y O-P2-Ag1 H2. Es decir, que no se obtuvo una amplificación de *Asp. Of.*, ZC-P2-AA2 2 y ZC-P5-AA2-3. De la región 16S se logró observar bandas para los todos los aislados bacterianos seleccionados, O-P3-AA1 B2, ZC-P2-Ag1 7, ZC-P5-Ag1 B1, V-Ag1 B1 y V-Ag1 4B (ver Figura 3).

Las identidades encontradas de las secuencias reflejaron especímenes fúngicos como *Penicillium granatum* (Bainier, 1905) (ZC-P6-Ag1 H1), *Talaromyces reverso-olivaceus* (Chen, Frisvad y Samson, 2016) (ZC-P2-AA1 H7), *Cladosporium coursii* (Sandoval-Denis, Cano y Guarro, 2016) (O-P2-CMC2 2), y *Penicillium brevicopactum* (Dierckx, 1901) (O-P2-Ag1 H2). Por otro lado, en los resultados de géneros bacterianos se encontró a *Streptomyces coelicolor* (Muller 1908) (O-P3-AA1 B2), *Streptomyces thermocarboxydus* (Kim et. al., 1998) (ZC-P2-Ag1 7), *Priestia megaterium* (de Bary, 1884) (ZC-P5-Ag1 B1), *Pseudarthrobacter chlorophenolicus* (Westerberg et al., 2000) (V-Ag1 B1) y *Peribacillus simplex* (Priest et al. 1989) (V-Ag1 4B) (Ver Tabla 4). Todas las coincidencias entregadas por la herramienta BLAST presentaron un porcentaje de identidad mayor al 97% y *Expect value* de 0.

Como se puede observar, se encontraron microorganismos del género *Penicillium* tanto en la oficina como en la zona de cuarentena, sin embargo, son de especies diferentes. Lo mismo ocurre con el género de *Streptomyces* hallado en ambas zonas. No se registraron coincidencias de las mismas especies.

## Discusión

La calidad microbiológica del aire resulta un aspecto relevante a determinar en instituciones que custodian grandes colecciones de alto valor histórico y cultural. Debido a los evidentes signos de deterioro en los distintos bienes se puede establecer un historial del estado de ambientes e identidades de los microorganismos que, por sus actividades enzimáticas, se encuentran involucrados directamente con el biodeterioro.

En primer lugar, debido a la variación encontrada entre las distintas concentraciones de microorganismos, resulta más representativo manejar la información según los puntos de toma de muestra, que extrapolarlo al área en su totalidad. En contraste con la escala de Omeliansky, la carga microbiana hallada en la mayoría de los puntos de las distintas zonas no representa el estado de ambientes contaminados. Esto debido a que, están por debajo de las 500 UFC/m<sup>3</sup>. Sin embargo, los puntos 4 y 5 de la oficina representan zonas con alta carga microbiana y de ambiente altamente contaminados, con concentraciones por encima de las 1501 UFC/m<sup>3</sup>. En sí, la oficina es un área que no posee ventilación y en la que existe un constante tránsito de personas. Por lo que, los microorganismos no solo tienden a concentrarse con facilidad, sino que pueden diseminarse hacia distintos puntos. Cabe destacar que, el punto 4 corresponde al área de trabajo de los curadores del museo, que es un área más reducida y sin ventanas. Por lo tanto, no solo existe una exposición a posibles patógenos que puedan generar alergias o afecciones a la salud sino que también, hay una alta probabilidad de que la carga microbiana se

difunda a lugares que albergan los bienes y el patrimonio cultural. Se menciona que, en condiciones de humedad y temperatura inadecuadas, los microorganismos depositados sobre superficies pueden proliferar y representar un elevado riesgo de contaminación (Rodríguez, 2016). Esto representaría un peligro, sobre todo para la zona de cuarentena, en la que se encuentran bienes aislados, es decir, que han sido exhibidos en exposiciones durante largos periodos de tiempo y podrían tener una carga microbiana alta. De igual manera, el tránsito de los curadores sin equipos de protección personal hacia los distintos lugares, podría aumentar la incidencia de diseminación microbiana y contaminación de los bienes.

En cuanto al modelo de correlación múltiple generado a partir de las condiciones de temperatura y humedad sobre la carga microbiana, se indica una relación bastante baja. Aunque, se establece una correlación positiva y directa, debido a que, los coeficientes obtenidos indican valores mayores a cero, sin embargo, se encuentran muy cercanos a este. Además, se obtuvo que el modelo tan solo explica un 7 % y 8 % de la variabilidad de la carga microbiana de mesófilos aerobios y hongos, respectivamente. Lo que puede indicar que existen otros factores no contemplados por el estudio que podrían tener un mayor peso e influencia sobre la concentración de microorganismos en una determinada área. Entre estos, se pueden incluir parámetros mencionados anteriormente como el tránsito de personas y la ventilación. Se establece que, un área con humedad relativa entre 55-60 % y sin ventilación puede generar una proliferación de microorganismos en presencia de polvo (Valentín, 2018). Aunque, las condiciones registradas del porcentaje de humedad en todas las zonas son menores a 55 %, lo que podría resultar positivo para evitar una proliferación microbiana más acelerada.

Se puede mencionar que, en la zona de cuarentena las condiciones de temperatura y humedad se encuentran más controladas, debido a un equipo especializado asociado al área de la reserva. Aunque, se registran las condiciones de humedad más altas de las zonas analizadas, hasta de un 51 %. En el caso de la vitrina se habla de un espacio aislado que no se encuentra herméticamente cerrado, que está expuesto constantemente a exhibición y no recibe ventilación. La importancia de la ventilación controlada radica en que se considera un método no tóxico de control de la contaminación microbiana, puesto que, reduce la oscilación de humedad y temperatura. (Valentín, 2018).

La actividad enzimática de los microorganismos estudiados representa un hallazgo importante porque se confirma la presencia de agentes biológicos que pueden tener alta incidencia del biodeterioro. Se detectaron microorganismos tanto bacterianos como fúngicos con actividad enzimática de distintos tipos, distribuidos en las tres zonas analizadas. Se obtuvo una mayor proporción de microorganismos con actividad amilolítica. En segundo lugar, se

registró la actividad proteolítica, y tan solo un microorganismo presentó actividad celulolítica. Lo que resulta crítico es que la mayor cantidad de microorganismos con capacidad enzimática se encuentra en la zona de cuarentena. Aunque, se descarta su presencia en los interiores de la cámara de nitrógeno no funcional, en donde se encuentran almacenados bienes de composición orgánica, una persona adulta momificada en fardo de fibras vegetales, y un baúl de madera. Por otro lado, se puede destacar la presencia de otros bienes como cuadros y canoas de madera. La degradación del almidón puede afectar a fibras del fardo, madera y a los lienzos de las pinturas. Se describe que los fardos están elaborados a partir de telas de algodón, hojas y paja (Jacinto Jijón y Caamaño, 1949), lo que resulta susceptible para el metabolismo de microorganismos amilolíticos y celulolíticos. Esta actividad enzimática podría ser la causante de la fragilidad del textil, pues reportan que, al tacto, el fardo funerario de la persona momificada adulta desprende fibras. Además, se establece que el metabolismo de los hongos capaces de degradar madera se limita según la cantidad disponible de nitrógeno que logran obtener de este sustrato (Wainwright et. al., 1993). Por otro lado, los microorganismos proteolíticos pueden contribuir a la degradación de textiles de fibras animales, huesos y piel (Piñar et. al., 2013).

En base a las características microscópicas, se pudo determinar una predominancia de bacilos Gram positivos, que naturalmente se encuentran en proporciones altas en el aire (de la Rosa et. al., 2002). Por otro lado, la mayoría de organismos fúngicos comparten características del género *Penicillium*. También, los análisis bioinformáticos realizados tanto de hongos como bacterias presentan resultados concluyentes, con porcentajes de identidad entre 97,92 % y 100 %.

Los índices enzimáticos reportados mayores a 1,5 representan a microorganismos con alta producción de enzimas (Florencio et. al., 2012). Por ende, mayor capacidad de degradación de los sustratos. Algunos de los aislados microbianos que corresponden a los géneros de microorganismos reportados en el biodeterioro como *Cladosporium* con un índice de degradación de 1,7 y *Penicillium*, con índices enzimáticos de 2,78 y 1,5. Se establece que estos dos géneros son muy comunes en ambientes interiores y se encuentran relacionados al biodeterioro (Rojas et al., 2012). De igual manera, se identifica a *Penicillium brevicompactum* como contaminante frecuente en el aire (Piñar et. al., 2013). Por otro lado, se menciona que *Penicillium* posee actividad proteolítica y celulolítica. La actividad proteolítica de este género fúngico es capaz de generar deterioro en la seda, lana, textiles y pintura (Savković et. al., 2019). Por otro lado, el género fúngico *Cladosporium* se ha reportado con actividad enzimática celulolítica sobre textiles y papel (Rojas et. al, 2012).

En el caso de *Talaromyces reverso-olivaceus*, se determina que ha sido previamente reportado en estudios de calidad microbiológica del aire, y tiene la característica de ser teleomorfo de *Penicillium*. Estudios taxonómicos establecen que *Penicillium* es un grupo polifilético, y a partir de este se vinculaba a *Talaromyces* al subgénero *Biverticillium* y a un clado distinto (Chen et. al., 2016). En un estudio realizado sobre restos momificados, se halló una gran proporción de hongos del género *Penicillium*, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen, 1850) y *Talaromyces helicus* (Benj, 1955) (Guillen Cerna, 2022). En este caso, se reportó un índice de degradación de 1,67 para la actividad amilolítica, lo que puede resultar en degradación de los textiles o fibras asociados a los restos humanos momificados.

Un género bacteriano previamente reportado es *Streptomyces*, que se establece su capacidad para degradar lignina y causar pigmentaciones de color amarillo en los bienes (Suarez Valencia, 2016). Además, en general los signos de los actinomicetos en textiles pueden evidenciarse en la pérdida de resistencia del material y producción de manchas o cambio de color, mientras que producen cambio de características mecánicas en la madera, como su firmeza (Sarmeño Puerto, 2018). En este caso, se encontró dos microorganismos del género con capacidad proteolítica y amilolítica. Uno de los aislados de microorganismo presentó el índice más alto de todos los resultados reportados, 5,67, lo que indica su alto potencial de producción enzimática para la degradación del almidón.

Los microorganismos del género *Peribacillus* (Patel y Gupta, 2020) poseen una relación estrecha con el género *Bacillus*, debido a que, resulta ser un clado derivado de este grupo polifilético y se caracterizan por formar parte de distintos ambientes, como el suelo y el tracto gastrointestinal de humanos y animales (Patel et. al., 2020). Además, Han sido encontrados en estudios de análisis de aire en museos (Jurado et. al., 2021). En este estudio, *Peribacillus simplex* presenta actividad proteolítica con un índice de 1,71 lo que lo indica una actividad enzimática representativa.

Por su parte, *Priestia. megaterium* es una bacteria asociada a una variedad de ambientes como, miel, carne cruda, la boca humana y el suelo. Tiene la capacidad de degradación de varios sustratos de carbono como la xilosa, celobiosa, glicerol y melaza de caña de azúcar (Biedendieck et al., 2021). Se reportó un índice de degradación proteolítica de 4 lo que indica una alta producción de enzimas capaces de hidrolizar proteínas. Su presencia ha sido registrada en las superficies de pinturas y lienzos (Poyatos-Jiménez, 2021).

Además, el género *Pseudarthrobacter* (Busse, 2016) se encuentra en suelos y en la filósfera de plantas, se caracteriza por ser un organismo mesófilo Gram positivo y no formador de esporas. Se ha registrado como microorganismo asociado al aire de cuevas turísticas y agente

potencial de biodeterioro (Domínguez-Moñino et. al., 2021). Específicamente, *P. chlorophenolicus* se ha reportado como un microorganismo capaz de hidrolizar gelatina, maltosa, ribosa, alanina y de DNA (Busse et. al., 2016). Se detectó un alto potencial de degradación proteolítica con un índice enzimático de 2,17.

Los resultados de identificación molecular permitieron revelar la presencia diferentes géneros y especies microbianas en las distintas áreas. Si bien se encontraron aislados fúngicos y bacterianos del mismo género, estos difieren en la especie. Por este motivo, no se puede establecer con certeza la existencia de contaminación cruzada por tránsito de personas. Aunque, de acuerdo con la abundancia del hongo caracterizado como *Rhizopus* en varios puntos de la oficina, no se puede tener una resolución debido a que no se llegó a determinación molecular a nivel de especie. Se establece que este género es común en contaminación de aire y superficies (Valentín, 2007). Aunque en el estudio, este aislado no demostró tener capacidad de degradación, se ha reportado que ejemplares del mismo género son capaces de producir celulasas y proteasas (Awad et. al., 2020).

## **Conclusiones**

El aire es un medio óptimo para la diseminación de microorganismos, como se pudo observar, muchos de los aislados microbianos encontrados en las instalaciones del Centro Cultural-PUCE han sido aislados inicialmente del suelo e inclusive de parte de la microbiota de algunos organismos. Además, la calidad microbiológica de las áreas en donde se encuentran almacenados los bienes, corresponde a la de un ambiente no contaminado según la escala de Omeliansky. Por el contrario, la zona de la oficina presenta altos valores de microorganismos, lo que se vincula a un ambiente contaminado. Si bien, se determinó que no se tiene suficiente evidencia de contaminación cruzada, no se descarta como un potencial peligro para la diseminación de microorganismos con alto índice enzimático a zonas críticas. Esto relacionado a que, en vista de que la humedad y la temperatura no resultan parámetros con mucha influencia en la variación de la carga microbiana, el tránsito humano de una zona a otra, puede aportar en gran medida al transporte de microorganismos.

Por otro lado, se confirma la existencia de microorganismos con altos índices enzimáticos en todas las áreas analizadas, lo que significa una mayor capacidad de degradación e incidencia del biodeterioro en los bienes. Además, la zona de cuarentena alberga una gran proporción del total de microorganismos con capacidades enzimáticas, es decir, 26 de los 38 aislados, lo que representa un riesgo alto para los bienes. Aunque esta presenta condiciones controladas de humedad y temperatura, se recomienda el uso de una atmósfera modificada, en

este caso, el funcionamiento de la cámara de nitrógeno para un mejor control de la carga microbiana. De esta manera se podría evitar su proliferación y posterior acción metabólica sobre los bienes.

Los sustratos de los bienes patrimoniales, son susceptibles al daño por microorganismos. El fardo funerario del adulto modificado presenta materiales como cuerdas, madera y telas elaboradas a partir de fibras vegetales. Por lo que, puede ser el blanco de microorganismos amilolíticos y celulolíticos en mayor proporción. Como se pudo observar, los géneros reportados poseen alta relación con el biodeterioro. Específicamente, se detectó una alta producción enzimática de los géneros *Priestia*, *Pseudoarthrobacter*, *Streptomyces* y *Penicillium*. Además, muchos de los géneros reportados en el presente estudio, se han caracterizado en los estudios de deterioro por su capacidad para degradar madera, textiles, fibras vegetales, fibras animales y pinturas.

### **Agradecimientos**

Se agradece al MsC. Fernando Santacruz, director de la disertación, a la Mgtr. Jeniffer Yánez y al Dr. Martín Marcial por los materiales e indicaciones en los procesos analíticos. A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Al Centro Cultural, al Museo Jacinto Jijón y Caamaño y a sus curadores Mikel Villaverde y Byron Lucero. Finalmente, a la Mgtr. Elena Granda por la iniciativa de este trabajo.

### **Declaraciones de conflictos de intereses**

No existen conflictos de intereses en publicar el artículo.

### **Contribución:**

Establecimiento de metodología para el estudio. Contribución a un estudio preliminar e inicial del estado del ambiente del Centro Cultural-PUCE. Análisis de e interpretación de los datos. Redacción de la versión inicial del manuscrito, revisión y edición.

### **Referencias bibliográficas:**

Awad A, Saeed Y, Shakour A A, Abdellatif N M, Ibrahim Y H, Elghanam M, Elwakeel F. 2020. Indoor air fungal pollution of a historical museum, Egypt: a case study. *Aerobiología*, 36: 197-209. <https://doi.org/10.1007/s10453-019-09623-w>

Borrego S, Perdomo I, De La Paz J, Gómez De Saravia S, Guiamet P. 2011. Relevamiento microbiológico del aire y de materiales almacenados en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, Argentina y en el Archivo Nacional de la República de Cuba. *Rev. del Museo de La Plata* 18 (119): 1-18. <https://core.ac.uk/download/pdf/301082631.pdf>.

Biedendieck R, Knnuti T, Moore S J, Jahn D. 2021. The “beauty in the beast”—the multiple uses of *Priestia megaterium* in biotechnology. *Appl. Microbiol. and Biotechnol.*, 105:5719–5737. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11424-6>

Busse H, Wieser M. 2018 Jun 14. *Pseudarthrobacter*. *Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria.*:1–13. doi: <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01438>.

Caorsi B, Sakuarada A, Ulloa F, Pezzani V M, y Latorre O P. 2011. Calidad microbiológica del aire de una unidad de preparados farmacéuticos estériles. *Rev. chil. de infectol.* 28(1):14–18. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182011000100003>.

Centro Cultural. 2023. Pontificia Universidad Católica del Ecuador; [Acceso en 2023 27 de marzo]. Recuperado de <https://www.puce.edu.ec/centro-cultural>

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

Chen B D, Sun B D, Houbraken J, Frisvad J C, Yilmaz N, Zhou Y G, Samson R A. 2016. New *Talaromyces* species from indoor environments in China. *Studies in Mycology*. doi: 10.1016/j.simyco.2016.11.003

De la Rosa MC, Mosso MA, Ullán C. 2002. El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio Medioambiental*, 5: 375-402. <https://cmapspublic2.ihmc.us/rid=1RP556TPB-1RYV6NH-3N0N/Aire-microorganismos.pdf>

Dominguez-Moñino I, Jurado V, Rogerio-Candelera M A, Hermosin B, Saiz-Jimenez C. 2021. Airborne bacteria in show caves from Southern Spain. *Microbial Cell* 8 (10): 247-255. doi: 10.15698/mic2021.10.762

Espinoza Tomayquispe, P. A. 2020. Calidad Microbiológica del aire en interiores del Museo de Lima y su efecto en el biodeterioro de sus bienes [Tesis de Grado]. [Lima, Perú]: Universidad Nacional Agraria La Molina

Florencio, C, Couri, S, Sánchez, C. 2012. Correlation between Agar Plate Screening and Solid-State Fermentation for the Prediction of Cellulase Production by *Trichoderma* Strains. *Enzyme Research*. 1 (1): 1-7. <https://downloads.hindawi.com/archive/2012/793708.pdf>

Guillen Cerna R V. 2022. Evaluación de la calidad micológica del aire en las catacumbas de la iglesia San Francisco de Asís en la ciudad de Lima [Tesis de Grado]. [Lima, Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Instituto Nacional de Higiene Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST). 1995. NTP 299: Método para el recuento de bacterias y hongos en aire. Recuperado de [https://www.insst.es/documents/94886/327166/ntp\\_299.pdf/c33a7078-3608-4c56-914e-12946c3c660c](https://www.insst.es/documents/94886/327166/ntp_299.pdf/c33a7078-3608-4c56-914e-12946c3c660c)

Jijón y Caamaño J. 1949. Maranga: contribución al conocimiento de los aborígenes del Valle del Rimac, Perú. La Prensa Católica, [Acceso en 2023 15 de mayo]. [https://books.google.com.ec/books?id=tDplAAAAMAAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gb\\_s\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=tDplAAAAMAAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gb_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

Patel S, Gupta R S. 2020. A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: Proposal for six new genera of *Bacillus* species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen. nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 70: 406-438. doi:10.1099/ijsem.0.003775

Piñar G, Piombino-Mascali D, Maixner F, Zink A, Sterflinger K. 2013. Microbial survey of the mummies from the Capuchin Catacombs of Palermo, Italy: biodeterioration risk and contamination of the indoor air. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 86: 341-356. doi: 10.1111/1574-6941.12165

Poyatos-Jiménez F, Morales F, Morales-Carrera R, Boffo S, Giordano A, Romero-Noguera J. 2021. Fungal and Bacterial Biodeterioration of Outdoor Canvas Paintings: The Case of the Cloisters of Quito, Ecuador. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.*, 31 (3): 45-63. doi: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2021038254

Rivadeneira-Calvache, D. 2012: Evaluación microbiológica de la presencia de hongos en ambientes de la Escuela de Bioanálisis de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador mediante la aspiración de volumen de aire en tiempo definido como una de las causas del Síndrome del Edificio Enfermo durante el 2011. [Tesis de Grado]. [Quito, Ecuador]: Pontificia Universidad Católica del Ecuador

Rodríguez García, J. C. 2016. Microbiología aplicada: una herramienta para la conservación del Patrimonio Cultural. *Conservar Património*, 24 (1): 23-36. <https://www.redalyc.org/pdf/5136/513654153003.pdf>

Rojas, TI, Aira MJ, Batista A, Cruz IL, González S. 2012. Fungal deterioration in historic buildings in La Habana (Cuba). *Grana*, 51: 44-51. <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/00173134.2011.643920?needAccess=true&role=button>

Scarlat P, Lazăr V, Stepa R, Chifiriuc M, Diru L, Haiducu, M. 2017. Seasonal monitoring of microbiological air contamination from a museum - a case study. *MATEC Web Conf.*, 121 (11017): 1-8. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201712111017>

Sarmeño Puerto M. 2018. El biodeterioro en edificios del patrimonio cultural. Metodología de evaluación para tratamientos biocidas [Tesis Doctoral]. [Sevilla, España]: Escuela Técnica Superior de Ingeniería

Savković Z, Stupar M, Unković N, Ivanović Ž, Blagojević J, Vukojević J, Ljaljević Grbić M. 2019. In vitro biodegradation potential of airborne Aspergilli and Penicillia. *Sci. Nat.* 106 (8). <https://doi.org/10.1007/s00114-019-1603-3>

Suarez Valencia J E. 2016. Identificación microbiológica básica de las bacterias presentes en el ambiente y en los bienes documentales del archivo y biblioteca del conjunto conventual de la

orden Franciscana, Quito [Tesis de Grado]. [Quito, Ecuador]: Universidad Tecnológica Equinoccial

Tamura K, Stecher G, Kumar. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38:3022-3027

Valentín N. 2018. Biodeterioro de los materiales de archivo y museos. Conservación y prevención. Instituto de Patrimonio Histórico Español. <http://www.aecidcf.org.co/documentos/MI%2018.283%20Valentin,%20Nieves.%20Biodeterioro.pdf>

Valentín N, Muro C, Montero J. 2011. Métodos y técnicas para evaluar la calidad del aire en museos: Museo Nacional Centro de Arte Reina Sofía. *Jornadas de Conservación de Arte Contemporáneo*, 11: 63-81. [https://www.museoreinasofia.es/sites/default/files/actividades/programas/metodos\\_y\\_tecnicas\\_restauracion.pdf](https://www.museoreinasofia.es/sites/default/files/actividades/programas/metodos_y_tecnicas_restauracion.pdf)

Valentín N. 2007. Microbial Contamination in Archives and Museums: Health Hazards and Preventive Strategies Using Air Ventilation Systems. The Getty Conservation Institute. [https://www.getty.edu/conservation/our\\_projects/science/climate/paper\\_valentin.pdf](https://www.getty.edu/conservation/our_projects/science/climate/paper_valentin.pdf)

Wainwright M, Ali TA, Barakah F. 1993. A review of the role of oligotrophic micro-organisms in biodeterioration. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 31(1):1–13. doi: [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(93\)90010-y](https://doi.org/10.1016/0964-8305(93)90010-y).

**TABLAS:**

**Tabla 1.** Valores de la media y la desviación estándar obtenidos a partir del recuento de microorganismos

Área	Mo.	P1		P2		P3		P4		P5		P6													
		M1	M2	$\bar{X}$	Desv. Est.	M1	M2	$\bar{X}$	Desv. Est.	M1	M2	$\bar{X}$	Desv. Est.	M1	M2	$\bar{X}$	Desv. Est.								
ZC.	M.A.	14	8	11	4	9	2	6	5	19	29	24	7	15	7	11	6	16	16	0	9	11	10	1	
	M.y Lev.	20	23	22	2	13	10	12	2	49	22	36	19	16	13	15	2	32	32	0	22	24	23	1	
O.	M.A.	8	8	8	0	5	5	5	0	7	20	14	9	277	293	285	11	246	212	229	24	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
	M.y Lev.	33	54	44	15	34	36	35	1	36	36	36	0	300	300	300	0	300	300	300	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
V.	M.A.	11	13	12	1	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
	M.y Lev.	27	37	32	7	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

P1, P2, P3, P4, P5 y P6: Puntos de muestreo; Mo: Tipo de microorganismo; Z.C: Zona de cuarentena; O: Oficina; V: Vitrina; V; M.A: Mesófilos aerobios; M. L: Mohos y Levaduras; M1: Muestra 1; M2: Muestra 2;  $\bar{X}$ : Promedio; D. Est: Desviación Estándar; N.A: No aplica

**Tabla 2.** Probable estadístico de los microorganismos en los puntos muestreados y cálculo de concentración en UFC/m<sup>3</sup>

Área	Mo.	P1		P2		P3		P4		P5		P6	
		$\bar{X}$	P.r.	$\bar{X}$	P.r.	$\bar{X}$	P.r.	$\bar{X}$	P.r.	$\bar{X}$	P.r.	$\bar{X}$	P.r.
Z. C.	M. A.	11	11	6	6	24	25	11	11	16	16	10	10
	M. L.	22	23	12	12	36	38	15	15	32	34	23	24
O.	M. A.	8	8	5	5	14	64	<b>285</b>	<b>889</b>	<b>229</b>	<b>431</b>	N.A.	N.A.
	M. L.	44	47	35	35	35	36	<b>300</b>	<b>1885</b>	<b>300</b>	<b>1885</b>	N.A.	N.A.
V.	M. A.	12	12	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
	M. L.	32	34	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

Mo: Tipo de Microorganismo; Puntos de muestreo: P1, P2, P3, P4, P5 y P6; Z.C: Zona de cuarentena; O: Oficina; V: Vitrina; M.A: Mesófilos aerobios; M.L: Mohos y Levaduras;  $\bar{X}$ : Promedio; P.r: Probable estadístico; N. A: No aplica

**Tabla 3.** Resultados de índice enzimático

Código	Degradación	D. C.	D. H.	I. D.
O-P1-AA2 3	Amilolítica	1.3	1.4	1.08
<b>O-P1-AA2 4</b>	<b>Amilolítica</b>	<b>0.7</b>	<b>2.2</b>	<b>3.14</b>
O-P1-AA1 H1	Amilolítica	1.3	1.5	1.15
O-P2-AA1 H13	Amilolítica	1.9	2.2	1.16
O-P2-AA1 H16	Amilolítica	2.9	3.3	1.14
<b>O-P3-AA1 B2</b>	<b>Amilolítica</b>	<b>0.3</b>	<b>1.7</b>	<b>5.67</b>
ZC-P1-AA1 2	Amilolítica	1	1.2	1.2
<b>ZC-P2-AA2 2</b>	<b>Amilolítica</b>	<b>1.6</b>	<b>2.5</b>	<b>1.56</b>
ZC-P2-AA2 8	Amilolítica	1.7	1.8	1.06
<b>ZC-P2-AA1 H7</b>	<b>Amilolítica</b>	<b>0.9</b>	<b>1.5</b>	<b>1.67</b>
ZC-P2-AA1 H11	Amilolítica	1.6	1.7	1.06
ZC-P2-AA1 H13	Amilolítica	1.3	1.5	1.15
ZC-P2-AA1 H10	Amilolítica	1.7	1.8	1.06
ZC-P2-AA2 7	Amilolítica	1.5	1.7	1.13
ZC-P4-AA1 AB1	Amilolítica	1.7	0.9	0.53
ZC-P5-AA2 1	Amilolítica	1.1	1.3	1.18
<b>ZC-P5-AA2 3</b>	<b>Amilolítica</b>	<b>2</b>	<b>3.3</b>	<b>1.65</b>
ZC-P5-AA2 2	Amilolítica	1.8	2.2	1.22
<b>ZC-P6-AA1 B5</b>	<b>Amilolítica</b>	<b>0.6</b>	<b>1.2</b>	<b>2</b>
ZC-P6-AA1 H6	Amilolítica	1.7	1.9	1.12
<b>ZC-P6-AA1 H13</b>	<b>Amilolítica</b>	<b>0.4</b>	<b>0.9</b>	<b>2.25</b>
V-AA1 AB1	Amilolítica	1	1.1	1.1
<b>O-P2-Ag1 H2</b>	<b>Proteolítica</b>	<b>0.9</b>	<b>2.5</b>	<b>2.78</b>
ZC-P1-Ag1 H1	Proteolítica	1.8	2.3	1.28
<b>ZC-P2-Ag1 7</b>	<b>Proteolítica</b>	<b>0.9</b>	<b>1.9</b>	<b>2.11</b>
ZC-P2-Ag1 8	Proteolítica	1.3	1.7	1.31

ZC-P2-Ag1 H12	Proteolítica	1	1.3	1.3
ZC-P2-Ag1 H13	Proteolítica	1.1	1.3	1.18
<b>ZC-P4-Ag1 L1</b>	<b>Proteolítica</b>	<b>0.7</b>	<b>1.8</b>	<b>2.57</b>
ZC-P4-Ag1 H1	Proteolítica	1.4	1.7	1.21
<b>ZC-P5-Ag1 B1</b>	<b>Proteolítica</b>	<b>0.3</b>	<b>1.2</b>	<b>4</b>
<b>ZC-P6-Ag1 H1</b>	<b>Proteolítica</b>	<b>1.6</b>	<b>2.4</b>	<b>1.5</b>
<b>ZC-P6-Ag2 H1</b>	<b>Proteolítica</b>	<b>0.9</b>	<b>1.4</b>	<b>1.56</b>
ZC-P6-Ag2 H2	Proteolítica	1.9	2.3	1.21
<b>V-Ag1 B1</b>	<b>Proteolítica</b>	<b>0.6</b>	<b>1.3</b>	<b>2.17</b>
<b>V-Ag1 B3</b>	<b>Proteolítica</b>	<b>1.2</b>	<b>1.9</b>	<b>1.58</b>
<b>V-Ag1 4B</b>	<b>Proteolítica</b>	<b>0.7</b>	<b>1.2</b>	<b>1.71</b>
<b>O-P2-CMC2 2</b>	<b>Celulolítica</b>	<b>1</b>	<b>1.7</b>	<b>1.7</b>

D.C: Diámetro de colonia; D. H: Diámetro de halo; I. D: Índice de degradación

**Tabla 4.** Microorganismos con mayor índice de degradación y su caracterización

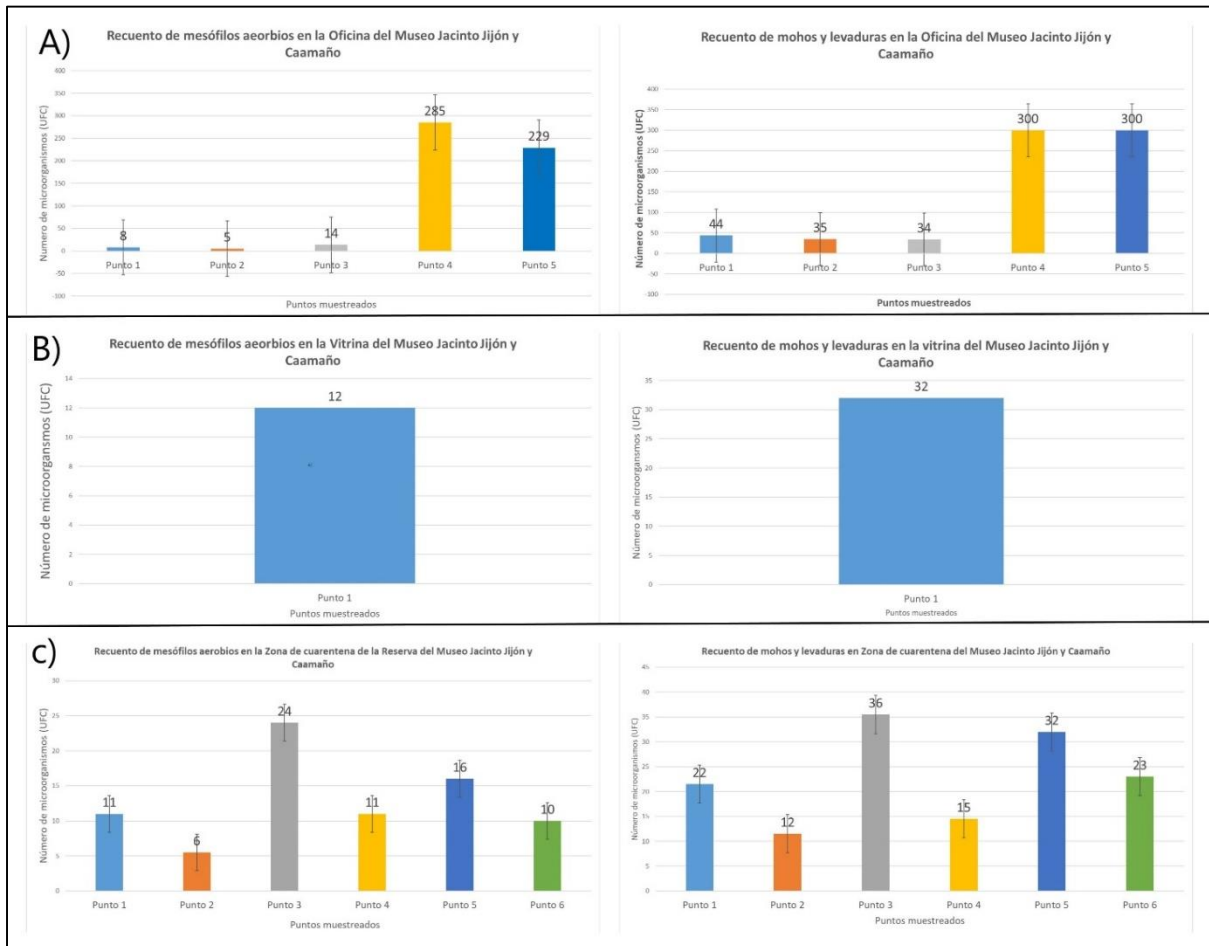
Tipo	Código	Caracterización Macroscópica	Caracterización Microscópica	Análisis molecular (código asignado)
B	O-P1-AA2 4	Colonias redondas de borde regular, cremosas, de color amarillento de borde regular, elevadas, brillosas.	Bacilos cortos Gram positivos, no esporulados. Agrupación individual.	No.
H	O-P2-Ag1 H2	Hongo de textura aterciopelada, filo blanco y verde en el centro. Producción de exudados dorados/amarillos. Reverso de color amarillo, rugoso, con estrías.	Hifas hialinas con septo, terverticilado, con fialides elipsoidales. Presenta ramificaciones y esporas redondas.	Sí. (5) <i>Penicillium brevicompactum</i> <a href="#">NR_121299.1</a>
H	O-P2-CMC2 2	Hongo de color verde oliva y aspecto aterciopelado, con crecimiento irregular, elevado y apariencia rugosa.	Hifas septadas, hialinas, conidios elipsoidales en cadena (formación basípeta), ramificados.	Sí (3) <i>Cladosporium crousii</i> <a href="#">NR_148192.1</a>
B	O-P3-AA1 B2	Colonias blancas medianas de bordes regulares, redondas, secas, elevadas, con filos marcados.	Filamentos Gram positivos largos y ramificados.	Sí. (1B) <i>Streptomyces coelicolor</i> <a href="#">NR_116633.1</a>
H	ZC-P2-AA2 2	Hongo con crecimiento irregular, de aspecto aterciopelado, color verde y filo blanco. Producción de exudado color amarillo/dorado. Reverso con estrías.	Hifas hialinas con septo y conidioforos ramificados. Terverticilado con fialides elipsoidales. Posee esporas redondas y en cadena.	Sí. (6)

H	ZC-P2-AA1 H7	Hongo con micelio verde azulado, amarillo y filo blanco. De aspecto aterciopelado y plano. Reverso de color amarillo.	Hifas hialinas septadas, formación de conidios ramificados. Se observan algunas ramificaciones de las hifas. ramificado, biverticilado, fialides alargadas.	Sí. (2) <i>Talaromyces reverso-olivaceus</i> <a href="#">NR 171594.1</a>
H	ZC-P5-AA2-3	Hongo de aspecto aterciopelado con micelio de color verde oscuro y un filo blanco, plano con reverso liso.	Hifas hialinas con septo, fialides alargadas, monoverticilado. Se observan ramificaciones en la hifa, pero posee conidioforos no ramificados. Esporas circulares en cadena.	Sí. (7)
B	ZC-P6-AA1 B5	Colonias medianas a grandes, de color blanco, elevadas, bordes regulares.	Filamentos Gram positivos.	No.
B	ZC-P6-AA1 H13	Colonias medianas a grandes de aspecto rugoso o mucilaginoso, bordes regulares y elevadas.	Filamentos Gram positivos.	No.
B	ZC-P2-Ag1 7	Colonias secas, elevadas, redondas de color blanco, con borde regular.	Filamentos largos Gram positivos	Sí. (2B) <i>Streptomyces thermocarboxydus</i> <a href="#">NR 112585.1</a>
B	ZC-P4-Ag1 L1	Colonias pequeñas, elevadas, de aspecto brillante, redondas, de color blanco con borde regular.	Bacilos cortos Gram positivos, no esporulados. Agrupados en parejas.	No.
B	ZC-P5-Ag1 B1	Colonias blancas, de pequeñas a medianas, con bordes irregulares.	Bacilos cortos Gram positivos no esporulados. Agrupación individual.	Sí. (B3) <i>Priestia megaterium</i> <a href="#">MG705569.1</a>
H	ZC-P6-Ag1 H1	Hongo con micelio de aspecto aterciopelado, color verde oscuro y con un filo de color blanco. Reverso con estrías. Producción de exudados dorados o amarillos.	Se observan hifas hialinas con septo, ramificadas y conidioforos simples. Fialides alargadas, biverticilados y con esporas en cadena.	Sí. (1) <i>Penicillium granatum</i> <a href="#">MK224837.1</a>
H	ZC-P6-Ag2 H1	Hongo de color verde oscuro, el filo es delgado y de color blanco. De aspecto aterciopelado con crecimiento irregular, elevado y apariencia rugosa.	Hifas hialinas septadas, conidioforos simples, fialides elipsoidales y es biverticilado. Posee esporas circulares en cadena.	No.
B	V-Ag1 B1	Colonias medianas, redondas, de color blanco, con bordes regulares, elevadas.	Bacilos Gram positivos no esporulados, en parejas.	Sí (B4) <i>Pseudarthrobacter chlorophenolicus</i> <a href="#">NR 074518.1</a>

B	V-Ag1 B3	Colonias pequeñas de color amarillento, elevadas, de borde regular.	Bacilos cortos Gram positivos no esporulados, agrupación individual	No.
B	V-Ag1 4B	Colonias elevadas, redondas de color blanco a amarillento, borde regular.	Bacilos largos, Gram positivos. Agrupación en cadenas.	Sí (B5) <i>Peribacillus simplex</i> <a href="#">NR_112726.1</a>
H	Asp. Of.	Hongo con micelio blanco y tonalidades grises, de aspecto veloso.	Esporangióforos rectos, hifas hialinas sin septo, esporangios redondos. Esporas redondas. Presencia de estructuras rizoides en la base de las hifas.	Sí. (4)

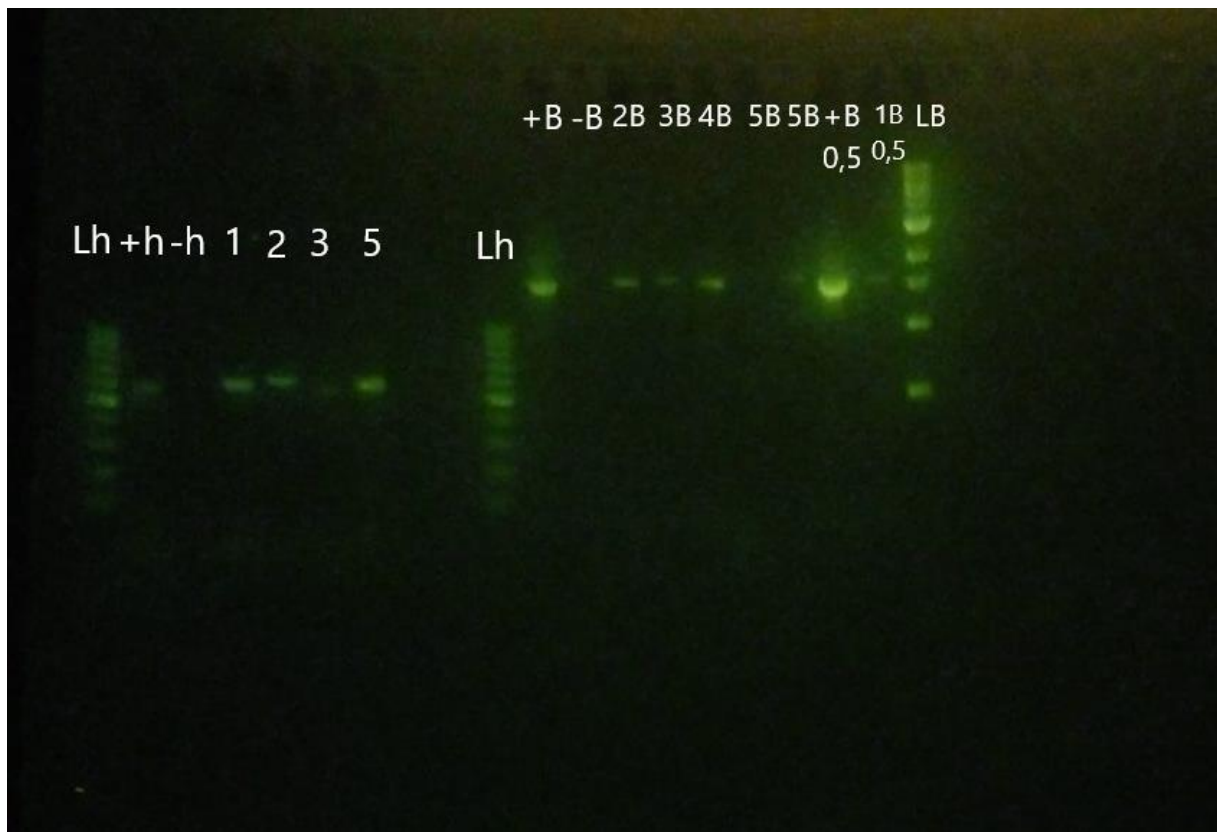
---

## FIGURAS



**Figura 1.** Carga microbiana en los distintos puntos muestreados. A) Oficina; B) Vitrina; C) Zona de cuarentena





**Figura 3.** Electroforesis de resultados positivos. En el lado izquierdo se encuentra el *ladder* de 100 pb para hongos (Lh), y las regiones ITS amplificadas de hongos. Donde ZC-P6-Ag1 H1 (1), ZC-P2-AA1 H7 (2), O-P2-CMC2 2 (3) y O-P2-Ag1 H2 (5). En los dos primeros pocillos se encuentra el control positivo (+h) y el negativo (-h). En el lado derecho, las bandas de 16S amplificadas. Cabe destacar que, los tres últimos pocillos pertenecen al control positivo de bacterias con betaína al 0,5M (+B 0,5), la muestra 1B con betaína al 0,5M y la escalera molecular de 1 kb (LB). Donde O-P3-AA1 B2 (1B), ZC-P2-Ag1 7 (2B), ZC-P5-Ag1 B1 (3B), V-Ag1 B1 (4B) y V-Ag1 4B (5B).

## **Firmas**

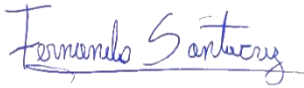
### **Firma del (la) estudiante y fecha:**



Emilia Alicia Montenegro Echanique

Quito, 16 de junio de 2023

### **Firma del director(a) de disertación y fecha:**



MSc. Fernando René Santacruz Flores

Quito, 16 de junio de 2023

### **Firma de coordinación de carrera y fecha**

Mgrt. Sonia Margarita Estrella Vázquez

Quito, 16 de junio de 2023

**Anexos:**

**Anexo 1**

Tabla de registro de Temperatura y humedad y concentración microbiana

Zona	Área (m <sup>2</sup> )	Punto muestreado	temperatura (°C) (X1)	Humedad (%) (X2)	concentración M. A	Concentración M. L.
Oficina		Punto 1	21,1	48	32	188
Oficina		Punto 2	21,1	49	20	144
Oficina	113,67	Punto 3	21,3	49	256	144
Oficina		Punto 4	20,7	48	3556	7541
Oficina		Punto 5	20,9	48	1724	7541
Vitrina	4,89	Punto 1	21,3	47	48	136
Zona de cuarentena		Punto 1	20,6	48	44	92
Zona de cuarentena		Punto2	19,5	50	24	48
Zona de cuarentena		Punto 3	20,5	47	100	154
Zona de cuarentena	70,23	Punto 4	19,8	50	44	60
Zona de cuarentena		Punto 5	19,4	51	64	136
Zona de cuarentena		Punto 6	19,6	51	40	96

M. A: Mesófilos aerobios; M. L: Mohos y levaduras

## Anexo 2

Tabla de estadísticas de la regresión de los factores de temperatura y humedad frente a la concentración de mesófilos aerobios

<i>Estadísticas de la regresión T° y %H y M. A.</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	<b>0,264808151</b>
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	<b>0,070123357</b>
R <sup>2</sup> ajustado	-0,136515897
Error típico	1147,951687
Observaciones	12

T°: temperatura; %H: porcentaje de humedad; M. A: Mesófilos aerobios

## Anexo 3

Tabla de estadísticas de regresión del factor porcentaje de humedad y concentración de mesófilos aerobios

<i>Estadísticas de la regresión de T° y %H y M. L.</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	<b>0,283948125</b>
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	<b>0,080626538</b>
R <sup>2</sup> ajustado	-0,123678676
Error típico	3062,420622
Observaciones	12

T°: temperatura; %H: porcentaje de humedad; M. L: Mohos y levaduras