

## Sensibilidad a la cicloheximida de hongos del aire del Vedado, La Habana, Cuba

Sensitivity to cycloheximide of air fungi from Vedado, Havana, Cuba

Michel Almaguer Chávez<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0001-5376-4694>

María Fernández-González<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-3775-7192>

Kenia C. Sánchez Espinosa<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-3657-9440>

Mailín Abreu Rodríguez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0009-0005-6161-6700>

<sup>1</sup>Universidad de La Habana, Facultad de Biología, Departamento de Microbiología y Virología. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Universidad de Vigo, Departamento de Biología Vegetal y Ciencias del suelo. Ourense, España.

\*Autor para la correspondencia: [michelalm@fbio.uh.cu](mailto:michelalm@fbio.uh.cu)

### RESUMEN

**Introducción:** La cicloheximida inhibe el crecimiento de hongos miceliares no dermatofitos que suelen crecer más rápido *in vitro*. Sin embargo, pueden existir hongos ambientales con la propiedad de crecer en su presencia.

**Objetivo:** Determinar la propiedad de crecimiento, en presencia de la cicloheximida de hongos filamentosos, recolectados previamente del aire del Vedado en La Habana, Cuba.

**Métodos:** Un total de 175 aislados fúngicos recolectados previamente del aire de una zona urbana de La Habana durante el año 2019 se sembraron en medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa con cicloheximida y sin cicloheximida. Se midieron los diámetros de las colonias a los siete días de incubación a 28°C.

**Resultados:** El 52,6 % de los aislados recolectados creció de forma abundante (> 3mm); el 18,3 % limitadamente (< 3mm) y el resto (29,1 %) no creció. Más del 70 % de los aislados de *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia* y *Penicillium* pudieron crecer en presencia de la cicloheximida. El porcentaje de aislados que crecieron en presencia de la cicloheximida en cada mes fue variable.

**Conclusiones:** Se detectó un elevado porcentaje de hongos ambientales con la propiedad de crecer en presencia de la cicloheximida con una distribución variable durante el año de estudio y con el predominio de aislados de *Aspergillus*.

**Palabras clave:** actidiona; aislados fúngicos; atmósfera; medio de cultivo.

## ABSTRACT

**Introduction:** Cycloheximide inhibits the growth of non-dermatophyte filamentous fungi that usually grow faster *in vitro*. However, some environmental fungi have the property of growing in its presence.

**Objective:** To determine the growth property, in the presence of cycloheximide, of filamentous fungi collected previously from the air of Vedado in Havana, Cuba.

**Methods:** A total of 175 fungal isolates collected previously from the air of an urban area in Havana in 2019 were seeded on Sabouraud Dextrose Agar medium with cycloheximide and without cycloheximide. Colony diameters were measured after seven days of incubation at 28°C.

**Results:** Of the collected isolates, 52.6% grew abundantly (> 3mm); 18.3% grew limitedly (< 3mm), and the rest (29.1%) did not grow. Over 70% of isolates of *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia*, and *Penicillium* were able to grow in the presence of cycloheximide. The percentage of isolates that grew in the presence of cycloheximide each month varied.

**Conclusions:** A high percentage of environmental fungi with the property of growing in the presence of cycloheximide was identified with a variable distribution during the study year. *Aspergillus* isolates prevailed.

**Keywords:** actidiona; fungal isolates; atmosphere; culture medium.

Recibido: 01/11/2022

Aceptado: 03/04/2023

## Introducción

La cicloheximida (CH) o actidiona es un antifúngico originalmente producido por el *Streptomyces griseous*, que puede inhibir el crecimiento de la mayoría de los eucariotas, debido a su actividad antipeptidiltransferasa de la subunidad 60S del ribosoma eucariótico 80S.<sup>(1,2,3)</sup> Entre la amplia gama de hongos que puede afectar se encuentran los saprobios, fitopatógenos, algunas levaduras, así como patógenos humanos oportunistas.<sup>(4)</sup> Varias investigaciones plantean el uso de la CH de 20-200 µg/mL como uno de los antibióticos más efectivos para eliminar algas y hongos eucariotas en cultivos de bacterias y cianobacterias.<sup>(2)</sup> También se utiliza en varios medios de cultivo para favorecer el aislamiento de patógenos fúngicos, a partir de muestras clínicas o ambientales.<sup>(5,6,7,8,9,10)</sup> Por ejemplo, de dermatofitos que suelen crecer más lento *in vitro*.<sup>(11)</sup>

Por otro lado, existen hongos filamentosos que pueden crecer en presencia de este compuesto.<sup>(12,13,14)</sup> Algunos autores plantean que puede existir una correlación estricta entre la tolerancia a la cicloheximida y el potencial patogénico, mientras que otros informan que podría inhibir hongos de crecimiento rápido y así favorecer a patógenos potenciales, que poseen poca capacidad competitiva saprobia. Sin

embargo, los estudios con hongos ambientales aislados del aire son muy escasos.<sup>(15)</sup>

El objetivo de esta investigación fue determinar la propiedad de crecimiento, en presencia de la cicloheximida, en hongos filamentosos, recolectados previamente del aire del Vedado en La Habana, Cuba.

## Métodos

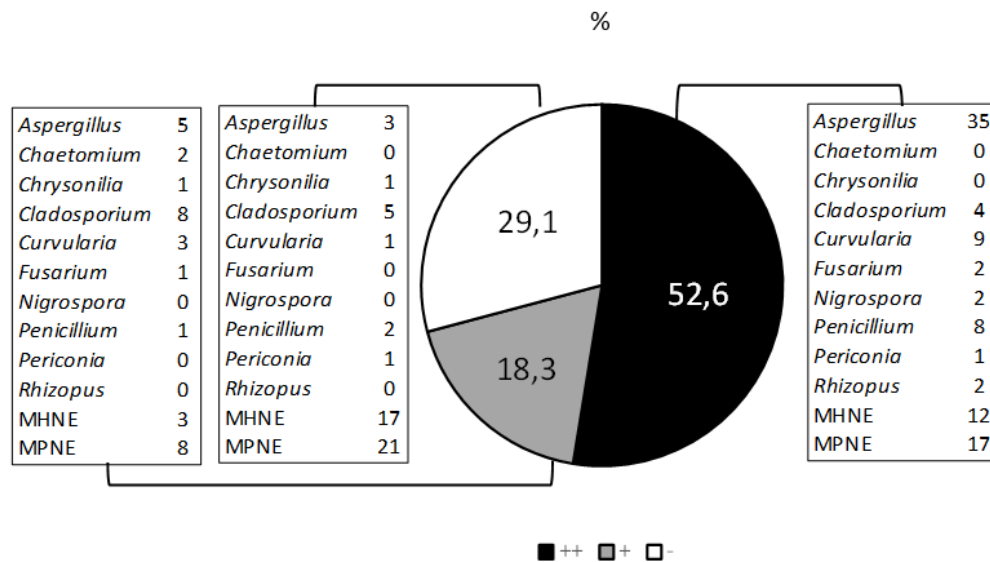
Se trabajó con 175 aislados recolectados del aire del Vedado, Municipio Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba, durante el año 2019, siguiendo la metodología de Almaguer y Rojas.<sup>(16)</sup> Estos se recolectaron con un aeroscopio Chirana (Checoslovaquia) con succión de 29 L/min de aire en agar extracto de malta. Su aislamiento se realizó posteriormente a una incubación de siete días a 28 °C, seguido de una caracterización cultural y micromorfológica inicial hasta nivel de género y como micelio hialino no esporulado (MHNE) o micelio pigmentado no esporulado (MPNE). Los aislados se conservaron a 4 °C hasta la siguiente prueba en un período que se realizó a los 10-15 días posteriores a su fecha de aislamiento.

Cada aislado se sembró por triplicado en agar Sabouraud dextrosa y cicloheximida (hidrolizado pancreático de caseína 5 g; hidrolizado péptico de tejidos animales 5 g; glucosa 40 g; agar 23,5 g; cicloheximida 0,4 g; pH 5,6 +/- 0,2).<sup>(15)</sup> Se utilizó como control el medio agar Sabouraud dextrosa. Se midieron los diámetros de las colonias a los siete días de incubación en medio con la cicloheximida y sin el antifúngico. Para detectar las diferencias significativas entre los valores de crecimiento de cada aislado entre estos dos medios se realizó la prueba U de Mann-Whitney. Los resultados del crecimiento en presencia de CH se expresaron de forma cualitativa (++: diámetro de la colonia mayor a 3mm, +: diámetro de la colonia menos de 3mm, -: no crecimiento).

## Resultados

El 52,6 % de los aislados creció en agar Sabouraud dextrosa y cicloheximida con diámetro mayor a 3 mm (fig. 1). En este grupo de aislados se observó una tendencia a diámetros de crecimiento relativamente menores en el medio sin CH, pero solo fue estadísticamente significativa en el 81,5 %.

El 18,3 % de los aislados creció más limitadamente con diámetros menores a 3 mm y menores en el medio sin CH. Por su parte, el 29,1 % no creció. Más del 70 % de los aislados de los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia* y *Penicillium* crecieron en presencia de CH.



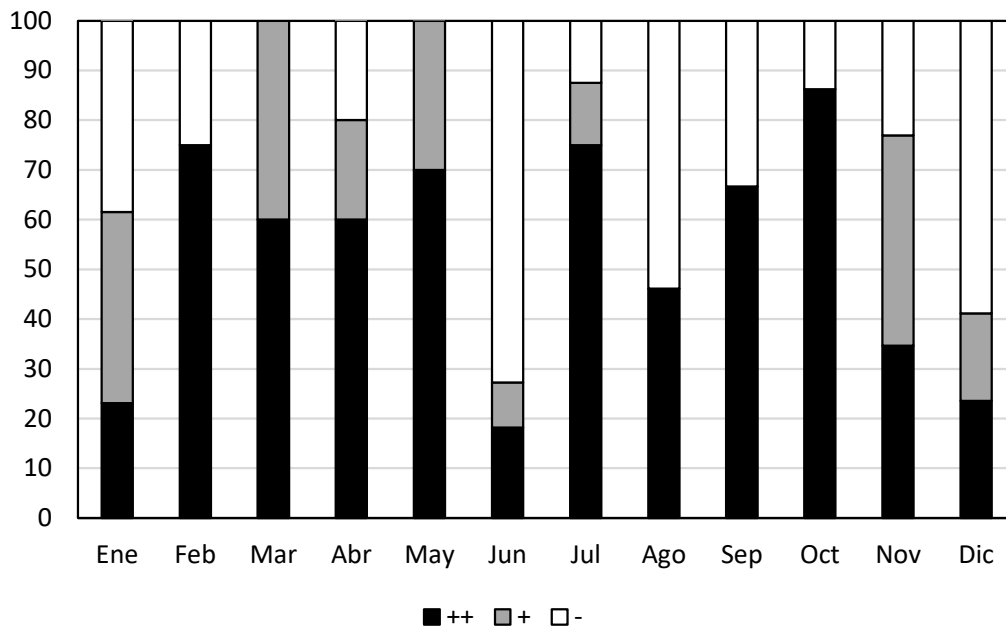
Leyenda: ++ diámetro de crecimiento mayor a 3 mm; + diámetro menor de 3 mm; - no crecimiento; MHNE: micelio hialino no esporulado; NPNE: micelio pigmentado no esporulado.

Fuente: Elaboración propia.

**Fig. 1** – Porcentaje de crecimiento en presencia de CH de los hongos filamentosos recolectados de la atmósfera del Vedado, La Habana, durante el año 2019.

Se evidenció variabilidad en el porcentaje de crecimiento de los hongos aislados cada mes del año 2019 en presencia de la CH (fig. 2). Todos los aislados recolectados en el mes de marzo pudieron crecer en presencia del antifúngico: el

60 % con diámetro de crecimiento mayor a 3 mm y el 40 % con diámetros menores de 3 mm. El 86 % de los aislados de octubre mostraron diámetros mayores a 3 mm; mientras que en junio se evidenció un mayor número de aislados que no crecieron (72,7 %).



Leyenda: ++ diámetro de crecimiento mayor a 3 mm; + diámetro menor de 3 mm; - no crecimiento.

Fuente: Elaboración propia.

**Fig. 2** – Porcentaje de hongos aislados cada mes del año 2019, que crecieron en presencia de CH.

Los aislados que no crecieron en presencia de CH, sí lo hicieron en Agar Sabouraud Dextrosa, por lo que su respuesta se debía la presencia de la CH en el medio y no a la pérdida de viabilidad.

## Discusión

Los resultados de esta investigación evidencian que varios aislados fúngicos ambientales, obtenidos a lo largo de todo un año de estudio, pueden crecer en presencia de la CH. La tolerancia a los agentes antibióticos es un fenómeno antiguo y extendido en el medio natural.<sup>(2,17)</sup> Su evolución está estimulada por la presión de selección, al compartir un hábitat con un organismo productor de estos metabolitos.<sup>(18)</sup> Se considera que un organismo es naturalmente resistente a un agente antibiótico cuando desarrolla un mecanismo para mitigar los efectos tóxicos de ese agente y continúa funcionando en su presencia. Los organismos que originalmente eran susceptibles a un agente también pueden adquirir resistencia posteriormente, a través de diversos mecanismos, como la mutación cromosómica.<sup>(2,19)</sup>

La resistencia natural a la CH se conoce en varias levaduras, tal es el caso del *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*, grupo fúngico que no fue detectado en nuestro estudio.<sup>(19)</sup> También se ha informado para algunos hongos filamentosos saprobios o patógenos de animales, dentro de los que se encuentran algunos géneros identificados en este trabajo.<sup>(21,22)</sup> Se ha planteado que la resistencia natural de muchos hongos patógenos animales a la CH permanece invariable cuando estos crecen en los medios que la contienen, mientras que los fitopatógenos y saprobios de plantas se adaptan con relativa facilidad después de exposiciones sucesivas.<sup>(12)</sup> En este sentido, se ha planteado que dicha resistencia adquirida puede estar relacionada con la conversión de la CH a un compuesto menos tóxico.<sup>(23,24)</sup> Por otro lado, la resistencia natural puede estar inducida genéticamente.<sup>(25,26,27,28)</sup>

Se ha demostrado que los ribosomas citoplasmáticos de cepas naturalmente tolerantes al CH son más resistentes a este antifúngico que los de las cepas sensibles.<sup>(29)</sup> Por ello, algunas investigaciones han utilizado la sensibilidad a la CH como un carácter en la diferenciación de especies potencialmente patógenas.<sup>(15,30)</sup>

De los hongos de este estudio destacó el *Aspergillus* con la mayor cantidad de aislados con la propiedad de crecer en presencia de CH. Este género tiene importancia clínica, ya que agrupa varias especies que se han relacionado con

enfermedades del tracto respiratorio o alergias.<sup>(31)</sup> El resto de los géneros identificados (*Cladosporium*, *Curvularia* y *Penicillium*) también evidenciaron aislados con dicha propiedad. Algunas especies de estos géneros ambientales, ante determinadas condiciones inmunológicas de los humanos pudieran ser considerados como oportunistas.<sup>(31)</sup>

Se informa que un número significativo de hongos patógenos o potencialmente patógenos pueden sobrevivir a altas concentraciones de CH.<sup>(13,32,33,34)</sup> Tal es el caso de algunas especies filogenéticamente cercanas a *Penicillium*. Además, la tolerancia a la cicloheximida se puede utilizar como una herramienta de diagnóstico estable para distinguir taxones filogenéticamente más cercanos en este género. También se ha usado para distinguir *Alternaria infectoria* no toxigénica de tres especies de *Alternaria* toxigénicas estrechamente relacionadas. Sin embargo, este carácter fisiológico, obviamente importante y consistente, no ha sido firmemente establecido en ningún otro estudio taxonómico complejo sobre *Penicillium* y géneros relacionados.<sup>(35)</sup>

Se ha informado que los hongos resistentes a la CH son importantes ecológicamente.<sup>(36,37)</sup> Aunque existen discrepancias entre la existencia de una correlación estricta entre la tolerancia a la CH y el potencial patogénico.<sup>(8)</sup> Según ciertos datos de la literatura, la resistencia a la CH parece considerarse una peculiaridad específica de cada cepa.<sup>(32,35,36)</sup>

En la presente investigación se detecta que la propiedad de crecer en presencia de la cicloheximida se mantiene, aunque de forma variable a lo largo de todo el año 2019, de donde procedían las cepas. Aunque en este ecosistema no se encontraron otros estudios similares, en ambientes acuáticos y en el suelo se han encontrado fluctuaciones a lo largo del tiempo en la comunidad fúngica resistente a la CH.<sup>(37,38)</sup> Por otro lado, hay indicios de que este factor podría estar relacionado con la termotolerancia. Se ha observado que en algunas levaduras la propiedad de hacer frente al estrés celular, como el calor, está determinada, en parte, por el nivel de ubiquitina libre en la célula. En general, el estrés celular requiere niveles elevados de ubiquitina; una deficiencia en el reciclaje de ubiquitina da como resultado fenotipos sensibles a fármacos. De hecho, los genes relacionados con esta función



(como UBI4 y DUB) se identifican con frecuencia como esenciales para la supervivencia en las pruebas de detección de sensibilidad a fármacos en todo el genoma, como es el caso de la Cicloheximida.<sup>(39,40,41)</sup> Esto podría ser un buen punto de investigación, teniendo en cuenta los efectos del cambio climático y el descubrimiento de cepas fúngicas termotolerantes.

En la literatura existen escasos trabajos que incorporan la CH en los medios de cultivo que se usan para los estudios de la microbiota aérea y sus resultados son difíciles de comparar, debido a su utilización directamente en el medio para muestrear, el uso de diferentes métodos y equipos de muestreo. Además, la cantidad de CH añadida a los medios de cultivo en algunas publicaciones no se precisa.<sup>(15,38)</sup> No obstante, en un estudio en la atmósfera de Turín, Italia, se encontró que los hongos resistentes a la CH constituían aproximadamente un tercio del total.<sup>(15)</sup> A pesar de que en la anterior investigación no pudieron establecer si solo una proporción de los aislados de estas especies comunes era resistente al CH o si había menos propágulos de estas especies en el aire en el momento en que se tomaron las muestras con CH.

Por ello la incorporación de la CH a los medios de muestreo podría proporcionar más información sobre los hongos ambientales que puedan crecer en medios con este antifúngico. En este sentido, puede aportar más datos sobre el nivel cualitativo de la contaminación fúngica atmosférica, a menudo difícil de interpretar por la presencia de hongos de rápido crecimiento cuando los propágulos del aire se recolectan en medios de cultivo agarizados.

## Referencias bibliográficas

1. Leach BE, Ford JH, Whiffen AJ. Actidione, an antibiotic from *Streptomyces griseus*. J. Am. Chem. Soc. 1947;69(2):474-5. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja01194a519>
2. Syuhada NH, Merican F, Zaki S, Broady PA, Convey P, Muangmai N. Strong and widespread cycloheximide resistance in *Stichococcus*-like eukaryotic algal taxa. Sci. Rep. 2022;12(1):1. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05116-y>
3. Pereira RS, Dos Santos HD, Moraes OS, Júnior DP, Hahn RC. Children's public health: Danger of exposure to pathogenic fungi in recreational places in the middle-west region of Brazil. Journal of infection and public health. 2020;13(1):51-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2019.06.018>
4. Sutton DA. Specimen collection, transport, and processing: mycology. Manual of clinical microbiology. 2003;2:1659-67. DOI: <https://doi.org/10.1128/9781555817381.ch114>
5. Bhosale NK, Prabha R, Munuswamy R, Pramodhini S, Easow JM. A Comparative Study on the Phenotypic Versus Molecular Identification of Clinical Dermatophytes. J Pure Appl Microbiol. 2022. DOI: <https://doi.org/10.22207/JPAM.16.2.40>
6. Mendek S, Lugović-Mihić L, Ferček I, Japundžić I, Šitum M, Abram M. The Prevalence of Onychomycosis in the Zagreb Area—the Role of Sabouraud Agar without Cycloheximide in Diagnosis and Therapy. Acta Clínica Croática. 2018;57(4.):726-34. DOI: <https://doi.org/10.20471/acc.2018.57.04.15>
7. Saunte DM, Hare RK, Jørgensen KM, Jørgensen R, Deleuran M, Zachariae CO, et al. Emerging terbinafine resistance in *Trichophyton*: clinical characteristics, squalene epoxidase gene mutations, and a reliable EUCAST method for detection. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2019;63(10):e01126-19. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.01126-19>
8. Dal Pizzol M, Freitas EC, Locatelli C, Guareze F, Reginatto P, Machado G, et al. Antifungal efficacy and safety of cycloheximide as a supplement in optisol-GS.

Drug Design, Development and Therapy. 2021:2091-8. DOI: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S298059>

9. Park JH, Oh J, Song JS, Kim J, Sung GH. *Bisifusarium delphinoides*, an emerging opportunistic pathogen in a burn patient with diabetes mellitus. Mycobiology. 2019;47(3):340-5. DOI: <https://doi.org/10.1080/12298093.2019.1628521>

10. Araya S, Tesfaye B, Fente D. Epidemiology of dermatophyte and non-dermatophyte fungi infection in Ethiopia. Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology. 2020:291-7. DOI: <http://doi.org/10.2147/CCID.S246183>

11. Pereira RS, Dos Santos HD, Moraes OS, Júnior DP, Hahn RC. Children's public health: Danger of exposure to pathogenic fungi in recreational places in the middle-west region of Brazil. Journal of infection and public health. 2020;13(1):51-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2019.06.018>

12. Salkin IF. Adaptation to cycloheximide: in vitro studies with filamentous fungi. Can. J. Microbiol. 1975;21(9):1413-9. DOI: <https://doi.org/10.1139/m75-211>

13. Dixon DM, Shadomy HJ, Shadomy S. Dematiaceous fungal pathogens isolated from nature. Mycopathologia. 1980;70(3):153-61. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00443026>

14. Singh RS, Prashar M. Studies on Rhizopus rot of peach and its control. J. Plant Pathol. 1984;14(2):185-7.

15. FilipelloMarchisio V, Cassinelli C, Piscozzi A, Tullio V, Mischiati P. A preliminary survey of cycloheximide resistant airborne fungi in Turin, Italy. Mycopathologia. 1993;123(1):1-8. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01103482>

16. Almaguer Chávez, M, Rojas -Flores, T i. Aeromicota viable de la atmósfera de La Habana, Cuba. NACC. 2013 [acceso 26/03/2023];20. Disponible en: <https://revistas.usc.gal/index.php/nacc/article/view/1404>

17. D'Costa VM, King CE, Kalan L, Morar M, Sung WW, Schwarz C, *et al*. Antibiotic resistance is ancient. Nature. 2011;477(7365):457-61. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10388>

18. Peterson E, Kaur P. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens. *Front. Microbiol.* 2018;30:9:2928. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02928>.
19. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol. Spectr.* 2016;4(2):4-2. DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
20. Wingfield BD, Wingfield MJ, Duong TA. Molecular basis of cycloheximide resistance in the Ophiostomatales revealed. *Curr. Genet.* 2022;1-0. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00294-022-01235-1>
21. Griffin DH, Sullia SB, Salkin IF. Resistance of selected saprobic and zoopathogenic fungi to cycloheximide. *Microbiology.* 1978;105(1):127-34. DOI: <https://doi.org/10.1099/00221287-105-1-127>
22. Crouzet M, Perrot M, Nogueira M, Bégueret J. Genetic and biochemical analysis of cycloheximide resistance in the fungus *Podospora anserina*. *Biochem. Genet.* 1978;16(3):271-86. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00484084>
23. Yamada T, Yaguchi T, Salamin K, Guenova E, Feuermann M, Monod M. Mfs1, a pleiotropic transporter in dermatophytes that plays a key role in their intrinsic resistance to chloramphenicol and fluconazole. *Journal of Fungi.* 2021;7(7):542. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7070542>
24. Sullia SB, Maria R. Acquired cycloheximide resistance in *Neurospora crassa* and *Sclerotium rolfsii*. *Proceedings: Plant Sciences.* 1985;95(6):417-27. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF03053680>
25. Eerdmans MM, Amundson SA, Reinhart TA, Klein KK. Dominance Relationships of Cycloheximide Resistant Mutants of *Schizophyllum commune* Fr. *J. Minn. Acad. Sci.* 1990 [acceso 26/03/2023];55(3):21-4. Disponible en <https://digitalcommons.morris.umn.edu/jmas/vol55/iss3/7>
26. Madhosingh Micales JA, Stipes RJ. Zearalenone production in *Fusarium culmorum* after transformation with DNA of *F. graminearum*. *Plant Pathol.* 1985;34(3):402-7. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1985.tb01379.x>

27. Fennessy D, Grallert A, Krapp A, Cokoja A, Bridge AJ. Extending the *Schizosaccharomyces pombe* Molecular Genetic Toolbox. PLOS ONE. 2014;9(5):e97683. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097683>
28. Moniot M, Lavergne RA, Morel T. *Hormographiella aspergillata*: an emerging basidiomycete in the clinical setting? A case report and literature review. BMC Infect Dis. 2020;20:945. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05679-z>.
29. Traynor JD, Sardharwalla I, North J. Biochemical analysis of the role of cytoplasmic ribosomes of *Coprinus cinereus* in cycloheximide resistance. Microbiology. 1986;132(3):757-63. DOI: <https://doi.org/10.1099/00221287-132-3-757>
30. Weitzman I, Rosenthal SA, Shupack JL. A comparison between *Dacllaria gallopava* and *Scolecobasidium humicola*: First report of an infection in a tortoise caused by *S. humicola*. Sabouraudia. 1985; 23:287-93. DOI: <https://doi.org/10.1080/00362178585380411>
31. Levetin E, Horner WE, Scott JA, Barnes C, Baxi S, Chew GL, et al. Taxonomy of allergenic fungi. J. Allergy Clin. Immunol. Pract. 2016;4(3):375-85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2015.10.012>
32. Kuehn HH, Orr GF. Tolerance of certain fungi to actidione and its use in isolation of Gymnoascaceae. Sabouraudia. 1962;1(4):220-9. DOI: <https://doi.org/10.1080/00362176285190421>
33. Yamada Y. RPD3 and UME6 are involved in the activation of PDR5 transcription and pleiotropic drug resistance in  $\rho$  0 cells of *Saccharomyces cerevisiae*. BMC microbiology. 2021;21:1-9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02373-1>
34. Orr GF. Keratinophilic fungi isolated from soils by a modified hair bait technique. Sabouraudia: J. Med. Vet. Mycol. 1969;7(2):129-34. DOI: <https://doi.org/10.1080/00362177085190231>
35. Labuda R, Bacher M, Rosenau T, Gasparotto E, Gratzl H, Doppler M, et al. Polyphasic Approach Utilized for the Identification of Two New Toxigenic Members

of *Penicillium* Section *Exilicaulis*, *P. krskae* and *P. silybi* spp. nov. Journal of Fungi. 2021;7(7):557. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7070557>

36. Rippon JW. Medical mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. WB Saunders company; 1988. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.1988.03410120140051>

37. Abdel-Hafez AI, El-Sharouny HM. The occurrence of keratinophilic fungi in sewage sludge from Egypt. J. Basic Microbiol. 1990;30(2):73-9. DOI: <https://doi.org/10.1002/jobm.3620300203>

38. Ali-Shtayeh MS, Jamous RM, Abu-Ghdeib SI. Ecology of cycloheximide-resistant fungi in field soils receiving raw city wastewater or normal irrigation water. Mycopathologia. 1998;144(1):39-55. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1006952926293>

39. Calvo MA, Drona MA, Castello R. Fungal spores in house dust. Ann Allergy. 1982;49:213-9.

40. Huseinovic A, van Dijk M, Vermeulen NP, van Leeuwen F, Kooter JM, Vos JC. Drug toxicity profiling of a *Saccharomyces cerevisiae* de ubiquitinase deletion panel shows that acetaminophen mimics tyrosine. Toxicology in Vitro. 2018;47:259-68. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.12.007>

41. Samant RS, Frydman J. Methods for measuring misfolded protein clearance in the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. En: Methods in Enzymology. 2019;619:27-45. Academic Press. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2018.12.039>

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

### Contribuciones de los autores

*Conceptualización:* Michel Almaguer Chávez, Kenia C. Sánchez Espinosa.

*Curación de datos:* Michel Almaguer Chávez, María Fernández-González, Kenia C. Sánchez Espinosa.

*Análisis formal:* Michel Almaguer Chávez, María Fernández-González, Kenia C. Sánchez Espinosa.

*Investigación:* Michel Almaguer Chávez, Kenia C. Sánchez Espinosa, Mailín Abreu Rodríguez.

*Metodología:* Michel Almaguer Chávez, María Fernández-González, Kenia C. Sánchez Espinosa.

*Redacción – borrador original:* Michel Almaguer Chávez, María Fernández-González, Kenia C. Sánchez Espinosa.

*Redacción – revisión y edición:* Michel Almaguer Chávez, María Fernández-González, Kenia C. Sánchez Espinosa.