



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS EXTRACTOS DE *Rosmarinus officinalis*  
(Romero) y *Syzygium aromaticum* (Clavo de olor) CONTRA ESPECIES DE  
HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS EN EL ÁREA DE ONCOLOGÍA DEL  
SERVICIO AUTÓNOMO HOSPITAL UNIVERSITARIO “ANTONIO PATRICIO  
DE ALCALÁ”, CUMANÁ, ESTADO SUCRE  
(Modalidad: Tesis de Grado)

EMILY ANTONIETA FARIÑAS ROJAS

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2020.

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS EXTRACTOS DE *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Syzygium aromaticum* (Clavo de olor) CONTRA ESPECIES DE HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS EN EL ÁREA DE ONCOLOGÍA DEL SERVICIO AUTÓNOMO HOSPITAL UNIVERSITARIO "ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ", CUMANÁ, ESTADO SUCRE

APROBADO POR:



Prof. Luz Salazar MSc  
Asesora



## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	<b>III</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>IV</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>V</b>
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	<b>VI</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>VII</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>IX</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>6</b>
Muestra poblacional .....	6
Obtención de la muestra .....	6
Siembra .....	7
Aislamiento de los hongos filamentosos.....	7
Identificación de los hongos aislados .....	7
Características macroscópicas .....	7
Características microscópicas .....	7
Material vegetal .....	8
Extracción etanólica .....	9
Cepas fúngicas.....	10
Suspensión de conidios.....	10
Evaluación de la actividad antifúngica por el método de difusión en agar.....	10
Determinación de la concentración mínima inhibitoria .....	11
Evaluación de la actividad antifúngica por volatilización de componentes del extracto etanólico de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Syzygium aromaticum</i> .....	11
Presentación y análisis de datos .....	12
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>13</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>28</b>
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>29</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>30</b>
<b>HOJAS DE METADATOS</b> .....	<b>37</b>

## DEDICATORIA

A

Dios por haberme dado la salud, fortaleza, bendecirme y guiarme en cada paso dado durante toda la carrera, por no abandonarme nunca y darme la fuerza que me hacía falta cuando sentía todo perdido y así afrontar cada difícil situación presentada, haciéndome una persona más perseverante.

Mi padre Antonio Fariñas quien siempre estará orgulloso de sus hijas, mi madre Emilia Rojas y mis hermanas Isbely, Mileicy y Emilianny por brindarme todo el amor, paciencia y apoyo que necesité durante este camino. A mi familia en general porque sé que puedo contar con ellos en cualquier momento.

A mis primeros amigos de vida: Anselmo, Francis, Laury, Dayluiber, Ángel y Leonel y mis amigas de lucha universitaria: Virginia, Patricia, Luzdeilys, Lourdes, Zoilimar, María de los Ángeles y Meyling, quienes siempre estuvieron pendiente de mí, apoyándome en lo que fuere necesario.

A mi novio, Jehovarl Olivo, porque desde el inicio de la carrera estuvo siempre conmigo, dándome aliento y motivándome a ser cada día mejor.

## **AGRADECIMIENTO**

A

Mi asesora, Profesora Luz Salazar por aceptar asesorarme y siempre confiar en mí para la realización de este trabajo de investigación, por su tiempo y dedicación.

Todo el personal del área de Oncología del SAHUAPA, por haberme permitido muestrear en sus instalaciones y así alcanzar los objetivos planteados en este trabajo. Al laboratorio de micología del SAHUAPA, en especial a la Sra Mary, quien siempre demostró apoyo y disposición. Al personal del INIA, quienes en oportunidades nos facilitaron sus instalaciones, y asimismo a las Licenciadas Rosmy Mendoza y Paola Díaz, del Laboratorio Clínico Bacteriológico Rafael Abreu, donde fui pasante, y quienes me ayudaron en muchas oportunidades.

Todos los profesores del Departamento de Bioanálisis, que sin duda me ayudaron a llegar hasta acá. Gracias infinitas a ellos.

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Géneros fúngicos aislados durante el mes de septiembre 2018 en el área de oncología del SAHUAPA, Cumaná, estado Sucre. ....	13
<b>Tabla 2.</b> Actividad antifúngica de los extractos etanólicos de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Syzygium aromaticum</i> sobre las diferentes especies aisladas. ....	14
<b>Tabla 3.</b> Concentración mínima inhibitoria de los extractos etanólicos de <i>Rosmarinus officinalis</i> sobre <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> y <i>Rhizopus oryzae</i> . ....	19
<b>Tabla 4.</b> Concentración mínima inhibitoria de los extractos etanólicos de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> y <i>Rhizopus oryzae</i> . ....	19
<b>Tabla 5.</b> Actividad antifúngica de los componentes volátiles de los extractos etanólicos de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Syzygium aromaticum</i> . ....	20

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.** Actividad antifúngica del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus niger*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. niger*, B: PDA inoculado con *A. niger* disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*..... 15
- Figura 3.** Actividad antifúngica del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus flavus*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. flavus*, B: PDA inoculado con *A. flavus* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*..... 15
- Figura 4.** Actividad antifúngica del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Rhizopus oryzae*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *R. oryzae*, B: PDA inoculado con *R. oryzae* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*..... 16
- Figura 5.** Actividad antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Aspergillus niger*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. niger*, B: PDA inoculado con *A. niger* disco impregnado con el extracto de *Syzygium aromaticum*..... 16
- Figura 6.** Actividad antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Aspergillus flavus*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. flavus*, B: PDA inoculado con *A. flavus* + disco impregnado con el extracto de *Syzygium aromaticum*..... 17
- Figura 7.** Actividad antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Rhizopus oryzae*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *R. oryzae*, B: PDA inoculado con *R. oryzae* + disco impregnado con el extracto de *Syzygium aromaticum*..... 17
- Figura 8:** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus niger*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. niger*, B: PDA inoculado con *A. niger* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*..... 21
- Figura 9:** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus flavus*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. flavus*, B: PDA inoculado con *A. flavus* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*..... 21
- ..... 22
- Figura 10:** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Rhizopus oryzae*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *R. oryzae*, B: PDA inoculado con *R. oryzae* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*..... 22
- Figura 11:** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Aspergillus niger*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. niger*, B: PDA inoculado con *A. niger* + disco impregnado con el extracto de *Syzygium aromaticum*..... 22
- Figura 12:** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Aspergillus flavus*. A: control de crecimiento: Agar

papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. flavus*, B: PDA inoculado con *A. flavus* + disco impregnado con el extracto de *Syzygium aromaticum*..... 23

**Figura 13:** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Rhizopus oryzae*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *R. oryzae*, B: PDA inoculado con *R. oryzae* + disco impregnado con el extracto de *Syzygium aromaticum*. ..... 23



## RESUMEN

La creciente resistencia a antimicrobianos ha propiciado la búsqueda y el desarrollo de nuevas alternativas naturales contra las infecciones de origen fúngico que puedan afectar primeramente a pacientes inmunosuprimidos, por lo que el presente estudio, tuvo como objetivo, evaluar la actividad antifúngica de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum* contra géneros de hongos filamentosos aislados en el área de oncología del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Se tomaron 70 muestras ambientales, las cuales fueron sembradas a profundidad en placas con PDA para su posterior aislamiento e identificación. Se prepararon suspensiones de conidios de los microorganismos aislados, se obtuvieron extractos de romero y clavo de olor para los ensayos, y a partir de éstos, se determinó: la actividad antifúngica por el método de difusión en agar, concentración mínima inhibitoria (CMI), y por último la actividad antifúngica por volatilización de los componentes. La especie fúngica mayormente aislada fue *Aspergillus niger*, seguido de *Aspergillus flavus* y por último *Rhizopus oryzae*, con un porcentaje de aislamiento de 21,43%, 7,14% y 2,86%, respectivamente. Los resultados obtenidos de la actividad antifúngica de los extractos de romero y clavo de olor se establecieron al observar cualquier halo de inhibición en el crecimiento fúngico, donde *A. niger* obtuvo un halo de inhibición promedio de 9,60 mm y 28,00 mm, respectivamente. En el caso de *A. flavus*, presentó un halo de inhibición de 11,00 mm para romero y 22,60 mm para clavo, por su parte *R. oryzae* presentó inhibición solo con clavo de olor. La CMI del extracto de romero fue de 173 mg/ml y de 184 mg/ml para clavo. Al evaluar la actividad antifúngica por volatilización de los componentes de los extractos, solo se presenció sensibilidad de los hongos hacia el extracto de clavo. Se concluyó, que las especies aisladas presentan sensibilidad a estos aceites, pero se pudo determinar que el extracto de clavo presenta mayor actividad antifúngica sobre ambos géneros.

## INTRODUCCIÓN

Los hongos son un grupo de microorganismos que pueden encontrarse en la naturaleza de forma abundante y ampliamente distribuidos; participando en la descomposición de la materia orgánica, jugando un papel de gran importancia en los ciclos biológicos, y como patógenos de interés en animales, plantas y humanos. Estos microorganismos pueden presentar dos tipos de morfologías: multicelular o filamentosa y unicelular o levaduriforme; sin embargo, existen casos de un reducido número de hongos, pero de gran importancia clínica, que tienen la capacidad de presentar dimorfismo (Arenas, 1993).

Los hongos presentan un gran valor económico y un importante aporte científico. Se pueden encontrar en el medio de forma saprofitica o como parásitos facultativos u obligados (Arenas, 1993), son organismos heterotróficos, es decir, que no cuentan con la capacidad de utilizar el dióxido de carbono como única fuente de energía, por lo que absorben sus nutrientes para poder sobrevivir (Cortés-Sánchez y Mosqueda-Olivares, 2013).

El uso de nuevas tecnologías, terapias, trasplantes, y la realización de procedimientos quimioterapéuticos ha generado un enorme avance en las tasas de supervivencia de pacientes; sin embargo, ha habido un incremento de las infecciones intrahospitalarias, haciéndose éstas cada vez más frecuentes en el área (Samonis y Bafaloukos, 1992; Rivas *et al.*, 2006).

Se ha determinado que los pacientes recluidos en los servicios de oncología, trasplantes y cirugía, corresponden a las tasas más altas de incidencia de infecciones fúngicas adquiridas en los centros de salud, por ser pacientes inmunocomprometidos que pueden presentar neutropenia prolongada, con recuento de neutrófilos inferior a  $0,5 \times 10^9$  cel/l por más de 7 días, por lo que estos pacientes, presentan susceptibilidad elevada a dichas infecciones, facilitando así, que microorganismos como los hongos, los cuales se consideran

de baja virulencia, tengan la capacidad de causar un cuadro clínico en el paciente, el cual se caracteriza por ser grave, de difícil diagnóstico y tratamiento y de rápido progreso (Anaissie, 1992; Fridkin y Jarvis, 1996; Zupanic-Krmek y Nemet, 2004).

En estudios realizados, se ha demostrado que las infecciones intrahospitalarias de origen fúngico en los humanos, han adquirido importancia, debido a la elevada tasa de morbilidad. Estas infecciones son ocasionadas, principalmente, por hongos que pertenecen a los géneros de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Mucor* y otros, y en el caso de los hongos levaduriformes, predominan *Candida*, *Rhodotorula* y *Geotrichum* (Centeno y Machado, 2004; Perlroth *et al.*, 2007).

Dentro de los distintos géneros de hongos filamentosos mayormente aislados como agente causal de infecciones fúngicas, se encuentra el género *Aspergillus*, subdivisión *Deuteromycotina*. Es un hongo saprofítico, ubicuo, cuyas colonias son de rápido crecimiento y variadas tonalidades, que van desde blanquecinas hasta verdosas, siendo causante de aspergilosis invasiva. *Aspergillus fumigatus* es la especie principal (85,00% de los casos), seguido de *A. flavus* (5,00-10,00%), *A. terreus* (2,00-3,00%) y *A. niger* (2,00-3,00%) (Samson *et al.*, 2014; Lezcano *et al.*, 2015; Suganthini, 2016).

El género *Fusarium* incluye más de 100 especies y se encuentra presente en zonas tropicales y subtropicales, a nivel de suelo y de plantas. En aquellos pacientes que presentan inmunosupresión, van a causar infecciones sistémicas, debido a su capacidad de crecer a 37°C, por lo que son considerados hongos oportunistas (Lezcano *et al.*, 2012; Tapia y Amaro, 2014).

En cuanto al género *Cladosporium*, este hongo es capaz de crecer en un amplio rango de temperaturas (18-28°C y tan bajo como -6°C, aproximadamente). Se considera un alérgeno importante, puesto que los conidios y fragmentos de

hifas son capaces de provocar asma y fiebre, así como neumonía por hipersensibilidad, por lo que se estima que, aproximadamente, el 10,00% de la población es sensible a este género fúngico (Borrego, 2012).

Las plantas son una fuente invaluable de moléculas biológicamente activas; estudios realizados han demostrado que los aceites esenciales producidos por algunas plantas y sus compuestos, tienen un efecto fungicida y que presentan inocuidad al medio ambiente (Rivero *et al.*, 1997; Davicino *et al.*, 2007; Barrera y García, 2008; Coy y Acosta, 2013).

Entre 1987-2001, se llevaron a cabo investigaciones sobre las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales, contra una variedad de hongos y bacterias (Kalemba y Kunicka, 2003). Surgiendo así, un gran interés en la utilización de sustancias o compuestos naturales, los cuales se caracterizan por poseer un fuerte olor, ser volátiles, complejos y naturales, constituidos, principalmente, por terpenos, hidrocarburos lineales, derivados del benceno, ésteres, alcoholes, ácidos grasos, fenoles, cetonas, aldehídos, glicósidos (terpenos unidos químicamente a azúcares), alcaloides, esteroides y compuestos heterocíclicos. Los aceites esenciales son productos del metabolismo secundario de las plantas aromáticas, y pueden extraerse a partir de material vegetal como flores, hojas, tallo, ramas, semillas, frutos, raíces, madera o corteza. Su aplicación es amplia, y va desde su utilización en medicina popular, hasta la conservación de ciertos alimentos (Davicino *et al.*, 2007; Bakkali *et al.*, 2008; Rosas-Gallo y López-Malo, 2011).

Aproximadamente, 1 400 plantas son fuente de compuestos antimicrobianos y su composición es variable. Los aceites esenciales pueden contener alrededor de 20 a 60 componentes a concentraciones muy diferentes, por lo que la actividad antimicrobiana no es exclusiva de un solo componente. Sin embargo, se ha reportado que los aceites esenciales pueden causar en las células eucariotas, como los hongos, la despolarización de las membranas

mitocondriales por disminución del potencial de membrana, afectando el ciclo iónico del calcio, además de causar alteración en la membrana citoplasmática, degradación de pared celular, alteración de las proteínas, filtración de contenido celular, coagulación del citoplasma y disminución de la fuerza motriz (Bakkali *et al.*, 2008; Rosas-Gallo y López-Malo, 2011; Velásquez *et al.*, 2014).

El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) ha sido objeto de estudios de actividad antioxidante, antibacteriana, insecticida y, en los últimos años, se ha llegado a comercializar como producto antiparasitario (Derwich *et al.*, 2011). *R. officinalis*, es una planta frecuente en muchas partes del mundo; utilizada de manera casera en la población, debido a sus múltiples propiedades medicinales. El romero pertenece a la familia Lamiaceae, planta arbustiva con tallos prismáticos, cuyas hojas finas, estrechas, agudas y pequeñas contienen aceites esenciales con diversos principios activos (Dentone y Morales, 2017). Las hojas de esta planta se utilizan como aderezo y, también, se han usado en la medicina popular por sus efectos antiespasmódico, analgésico, antirreumático, diurético y expectorante (Takaki *et al.*, 2008). Además, se ha reportado que los aceites extraídos de esta planta han sido utilizados para combatir varios patógenos fúngicos de interés médico (Waller *et al.*, 2016).

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum* o *Eugenia caryophyllata*), es una especie que pertenece a la familia *Myrtaceae*, caracterizada por habitar en ambientes tropicales, principalmente. Es un árbol perenne, llegando a crecer hasta una altura de 10 a 20 metros; sus hojas son lanceoladas e inflorescencias racimosas (tirso). Inicialmente, el clavo presenta un color pálido, que gradualmente cambia a verde, hasta que finalmente adquiere un color rojizo brillante, característico y suele cosecharse cuando alcanza una longitud de 1,5 a 2 cm (Valdés-Pérez *et al.*, 2016). Debido a su popularidad, disponibilidad y alto rendimiento, el aceite de clavo de olor ha sido considerado como un compuesto medicinal, con efectos variados, que van desde antiséptico en el área de odontología, hasta diurético. Sus constituyentes son variables,

predominando eugenol, acetato de eugenilo y cariofileno; sin embargo, dichos compuestos pueden variar (Aguilar-González y López-Malo, 2013).

El estudio de la actividad antifúngica de las plantas ha cobrado un importante valor científico, debido al desarrollo de resistencia a los diferentes fungicidas, comercialmente utilizados, al alto valor económico y a los efectos a la salud (Centeno y Carrera, 2013; Ayatollahi y Kazemi, 2015). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), aproximadamente, el 25,00% de las muertes en todo el mundo se deben a enfermedades causadas por microorganismos. De este total, el 45,00% ocurre en países en vía de desarrollo, donde la resistencia de los microorganismos a los fármacos es cada vez mayor (Tintino *et al.*, 2015). Por tal motivo, se pretende evaluar la actividad antifúngica de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum* en hongos filamentosos aislados en el área de oncología del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” en Cumaná, estado Sucre, puesto que al considerarse los aceites esenciales mezclas naturales y complejas, disminuyen la probabilidad de resistencia fúngica, permitiendo desarrollar otras alternativas para el control, disminución o eliminación de las enfermedades micóticas adquiridas en los centros de salud.

## METODOLOGÍA

### **Muestra poblacional**

La recolección se realizó una vez a la semana, cada 15 días, por un mes y medio, para un total de tres evaluaciones, antes y después de la limpieza diaria del área, en horas con la mayor afluencia de pacientes (Sutton, 2010). Para la consecución de este estudio, se recolectaron 70 muestras ambientales, en el área de oncología del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, ubicado en Cumaná, estado Sucre, en zonas que presentaban humedad, sugestivas de contaminación por mohos, como lo fueron: la ventanilla del aire acondicionado, el filtro de agua potable, lavamanos, además del mobiliario de trabajo, los cuales estaban en mayor contacto con el personal y paciente (escritorios, sillas, camillas, manillas de puerta, archiveros).

### **Obtención de la muestra**

Para la toma de muestras, se fraccionó cada área en partes, aproximadamente iguales según sus dimensiones. Se establecieron los puntos de muestreo, según Sutton (2010). Se aplicó la técnica de frotación, según la metodología descrita por *American Public Health Association* (APHA, 2002), con hisopo de algodón humedecido en una solución diluyente de cloruro de sodio (NaCl al 0,90%) estéril. Con el hisopo inclinado en un ángulo de 30°, se procedió a frotar 4 veces la superficie del área de muestreo (sillas, escritorios, aire acondicionado, lavamanos, filtro de agua potable), cada una en dirección opuesta a la anterior. De forma aséptica, se colocó el hisopo en un tubo que contenía el diluyente y se enjuagó, brevemente, en la solución. Posteriormente, se repitieron 3 veces más los pasos descritos, utilizando un hisopo diferente. Una vez que finalizó la última toma de muestra de la superficie, se colocó el hisopo en el tubo con diluyente, quemando y descartando la parte del hisopo que estuvo en contacto con el operador.

## **Siembra**

Para la siembra, primeramente, se homogenizó, en un *vórtex*, el tubo con el diluyente al que, previamente, se le colocó el hisopo. Seguidamente, se tomó con la pipeta estéril y de forma aséptica, 1 ml de la solución contenida en el tubo de diluyente y se colocó en una placa de Petri estéril. Posteriormente, se cubrió la base de la placa de Petri con 15 ml del agar Sabouraud dextrosa (ASD) antes fundido. Se homogenizó el inóculo con el medio, haciendo rotar la placa sobre la mesa en sentido horario, anti horario, hacia arriba y hacia abajo. Posteriormente, se dejó solidificar el medio. Finalmente, se llevó a la estufa de incubación a 35-37°C por un período de 24 a 48 horas (Arenas, 2011)

## **Aislamiento de los hongos filamentosos**

Se escogieron a partir de las placas, previamente, sembradas, colonias con características morfológicas diferentes y se sembraron en tubos que contenían 3 ml de agar papa dextrosa (PDA) (Himedia Laboratories Limited, India) dispuestos en bisel; posteriormente, se incubaron durante 5 a 7 días a una temperatura de 28 a 30°C (Arenas, 2011).

## **Identificación de los hongos aislados**

### **Características macroscópicas**

Se evaluaron las características macroscópicas de los hongos filamentosos, como: aspecto, color, difusión de pigmentos, superficie, color de superficie y del reverso, consistencia y textura (Arenas, 2011).

### **Características microscópicas**

Se apreciaron las características microscópicas de los hongos filamentosos tales como: tipo de micelio, conidióforos, esterigma, conidios (forma, tabicamiento, color, paredes y agrupación de dichos conidios), esporangióforos, esporangios, esporangiosporos, columelas, rizoides, mediante la técnica de



microcultivo de Ridell (1950), que consistió en colocar en el fondo de una placa de Petri un trozo de papel absorbente y sobre éste, se colocó una varilla de vidrio en forma de "U". Se colocó sobre la varilla de vidrio una lámina portaobjeto y una laminilla cubreobjeto, para su esterilización en el autoclave durante 15 minutos, a una temperatura de 121°C a 15 libras de presión, posteriormente, se secó en la estufa.

Se procedió a preparar una placa de Petri con el medio de cultivo PDA, el cual contenía 5 mm de espesor; luego se cortó con un bisturí estéril el medio de cultivo en cuadros de 10 mm por 10 mm y se colocó en el centro de la lámina portaobjeto. A continuación, se inoculó con una aguja bacteriológica la colonia en estudio en los cuatro puntos de los bordes del agar y se colocó una laminilla cubreobjeto sobre el medio inoculado. Se añadió agua destilada estéril en el papel absorbente, cuidando de no mojar el medio de cultivo y se incubaron las placas de Petri durante 7 a 10 días, a una temperatura de 28°C. Una vez que se alcanzó el crecimiento fúngico, se procedió a realizar la coloración, que consistió en retirar con una pinza la lámina cubreobjeto y se colocó sobre una lámina portaobjeto que contenía una o dos gotas de azul de lactofenol para, finalmente, ser observado en el microscopio con el objetivo de bajo aumento (10X) y luego con el objetivo de mayor aumento (40X).

### **Material vegetal**

Los extractos naturales se obtuvieron de las plantas de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Syzygium aromaticum* (clavo de olor), las cuales fueron adquiridos en el mercado municipal de la ciudad de Cumaná, estado Sucre; éstas fueron llevadas al herbario Isidro Ramón Bermúdez Romero (IRBR) del Departamento de Biología de la Universidad de Oriente para su correcta identificación. Para el caso del romero se emplearon únicamente las hojas y tallos de la planta, y para el clavo de olor, los botones (flores que aún no abren), que fueron secados en

estufa (marca Felisa, México) a 45°C, hasta que estuvieron completamente secos, lo que se comprobó determinando el peso seco de las mismas.



Figura 1. Plantas utilizadas para la obtención de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum*. A: Hojas y tallos frescos de *Rosmarinus officinalis*. B: Botones de *Syzygium aromaticum*

### Extracción etanólica

Se trituraron por separado, en un mortero de cerámica, las hojas y tallos secos de romero y los botones secos del clavo de olor, para así obtener un fino polvo, con el cual se procedió a preparar los extractos, usando como solvente etanol al 80,00% (marca Riedel de Haen). Los extractos se obtuvieron siguiendo la metodología de Bluma *et al.* (2008). Se mezcló, por separado, 3 g de polvo de las hojas y tallos secos de romero, y los botones secos de clavo de olor, con 20 ml de etanol al 80,00%, cada una de estas mezclas se dejaron en reposo durante 48 horas a temperatura ambiente y en oscuridad. Seguidamente, cada extracto obtenido se filtró con papel de filtro Whatman N°1 y fue vertido en placas de Petri, que fueron previamente pesadas; posteriormente, las placas que contenían los extractos fueron guardadas en oscuridad y a temperatura ambiente hasta que se evaporó completamente el etanol.

Se determinó el peso seco de cada extracto, para lo cual se restó el peso de la placa de Petri con el extracto, menos el peso de la placa de Petri sin el mismo. Por último, para la determinación de la concentración del extracto obtenido, se tomó en cuenta el peso del extracto seco, resuspendido en 1 ml de agua

destilada estéril y, se expresó la concentración en mg/ml. Cada extracto fue colocado en viales y guardado en refrigeración. Cada vial se mezcló profusamente al momento de usarlo. La concentración del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* fue de 174 mg/ml y de *Syzygium aromaticum* 183 mg/ml.

### **Cepas fúngicas**

Se emplearon diferentes tipos de cepas de hongos filamentosos que fueron aislados del área de oncología del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre.

### **Suspensión de conidios**

La suspensión de conidios se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Rasooli *et al.* (2008), con algunas modificaciones; para ello, los hongos filamentosos aislados fueron cultivados cada uno en tubos de ensayo con agar papa dextrosa (PDA) marca Dibico, a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 10 días. Posteriormente, se preparó la suspensión de conidios, para lo cual a cada tubo de ensayo se le agregaron 10 ml de solución salina estéril (SSF) y se agitó vigorosamente, con la finalidad de facilitar el desprendimiento de los conidios. La suspensión que se obtuvo en cada tubo se filtró por separado a través de una doble gasa estéril, para así eliminar otras estructuras fúngicas y obtener solo conidios en la suspensión. Finalmente, utilizando una cámara de Neubauer, se ajustó la concentración de conidios a  $10^6$  conidios/ml.

### **Evaluación de la actividad antifúngica por el método de difusión en agar**

La actividad antifúngica de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum* se determinó de acuerdo a la metodología descrita por De Souza *et al.* (2005). Se utilizaron placas de Petri que contenían PDA; en éstas fueron diseminados, uniformemente, 100  $\mu\text{l}$  de la suspensión de conidios de cada cepa por separado, utilizando un asa de Digrafski. Seguidamente, se impregnaron, por separado, discos de papel filtro estériles de seis milímetros (mm) de diámetro con los extractos y se colocaron en el medio de las placas de Petri con

PDA, previamente inoculadas. Se contó con un control de crecimiento con placas inoculadas con 100 µl de cada una de las suspensiones de conidios sin los extractos. Las placas fueron incubadas por tres días a una temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  y evaluadas cada 24 horas. La actividad antifúngica se estableció al observar cualquier halo de inhibición en el crecimiento fúngico, y se determinó comparándolo con las placas de control de crecimiento de cada una de las cepas. Finalmente, fueron medidos con una regla, el diámetro de los halos de inhibición. El procedimiento se realizó por triplicado.

### **Determinación de la concentración mínima inhibitoria**

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se realizó siguiendo la metodología descrita por Rasooli y Mirmostafa (2003) y Rasooli *et al.* (2008), con ligeras modificaciones, para ello, a partir de la concentración que se obtuvo de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum*, se tomaron 100 µl de los mismos y se realizaron por separado, diluciones seriadas (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 y 1:64). De estas diluciones, se tomaron 100 µl y se colocaron en los micropozos de una placa que contenía 100 µl de caldo Sabouraud dextrosa (CSD) y 50 µl de cada una de las suspensiones de conidios. Se realizaron pozos controles que contenían solo la mezcla de caldo y suspensiones de conidios y solo el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum*, por separado. Las placas se incubaron a  $28^\circ\text{C}$  durante 48 horas. Las lecturas se realizaron visualmente y se consideró la CMI como la mayor concentración que no mostró crecimiento fúngico.

### **Evaluación de la actividad antifúngica por volatilización de componentes del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum*.**

La actividad antifúngica por volatilización de los componentes de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum*, se determinó de acuerdo a Ross *et al.* (2001). En placas de Petri que contenían agar PDA, se diseminaron de manera uniforme, por separado, 100 µl de cada una de las

suspensiones de conidios. Seguidamente, se impregnaron discos de papel de filtro estériles Whatman N° 1 (Whatman, EEUU) con 10 µl de cada extracto y se colocaron en la cara posterior de la tapa de las placas de Petri; las mismas fueron selladas con cinta *parafilm*. Se contó con un control de crecimiento con placas inoculadas con 100 µl de cada una de las suspensiones de conidios. Las placas se incubaron durante un lapso de 3 a 5 días a una temperatura de 28°C y observadas cada 24 horas. La actividad antifúngica se estableció al observarse cualquier grado de inhibición del crecimiento fúngico y se determinó comparándolo con las placas de control de crecimiento. El procedimiento se realizó por triplicado.

### **Presentación y análisis de datos**

Los resultados obtenidos en la investigación se analizaron mediante estadística descriptiva (Triola, 2009), y se presentaron mediante tablas y figuras, para demostrar la actividad antifúngica de los extractos de *Rosmarinus Officinalis* y *Syzygium aromaticum* sobre las cepas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los géneros fúngicos aislados del área de oncología del SAHUAPA, se muestran en la tabla 1, donde, de un total de 70 muestras, solo 22 mostraron crecimiento fúngico, siendo *Aspergillus niger*, el hongo con mayor aislamiento, seguido de *Aspergillus flavus* y finalmente *Rhizopus oryzae*, con un porcentaje de 21,43%, 7,14% y 2,86%, respectivamente.

**Tabla 1.** Géneros fúngicos aislados durante el mes de septiembre 2018 en el área de oncología del SAHUAPA, Cumaná, estado Sucre.

Género	n	Porcentaje
<i>Aspergillus niger</i>	15	21,43%
<i>Aspergillus flavus</i>	5	7,14%
<i>Rhizopus oryzae</i>	2	2,86%
Total	22	31,43%

n: número de muestras

Centeno y Machado (2004), quienes evaluaron las áreas críticas del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre, determinaron la presencia de géneros como *Aspergillus* (46,80%), *Penicillium* (19,19%) y *Fusarium* (11,06%), siendo la especie mayormente aislada *A. niger*, con un 13,31% y 8,54% en el área de retén de niños y la UCI, respectivamente. Por su parte, Izzeddin *et al.* (2017), evaluaron el aire y superficies de un quirófano en un centro de salud público, donde se recolectaron un total de 46 muestras, en dos lugares específicos: junto a la puerta del quirófano y frente a la salida del aire acondicionado, es decir, aquellos lugares donde hay presencia de corriente de aire, humedad y temperatura favorable para el crecimiento de hongos ambientales. Las especies mayormente aisladas fueron, *A. niger* con un 35,00% en el área del quirófano y en sus superficies, representó el 28,00%, seguido de *A. terreus* con un 28,00%, coincidiendo esto, con los resultados de Centeno y Machado.

Al evaluar los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum* sobre las diferentes especies aisladas en el área de oncología del SAHUAPA, con el método de difusión en agar, se observó que hubo inhibición, por la aparición de halos alrededor de los discos impregnados con los extractos.

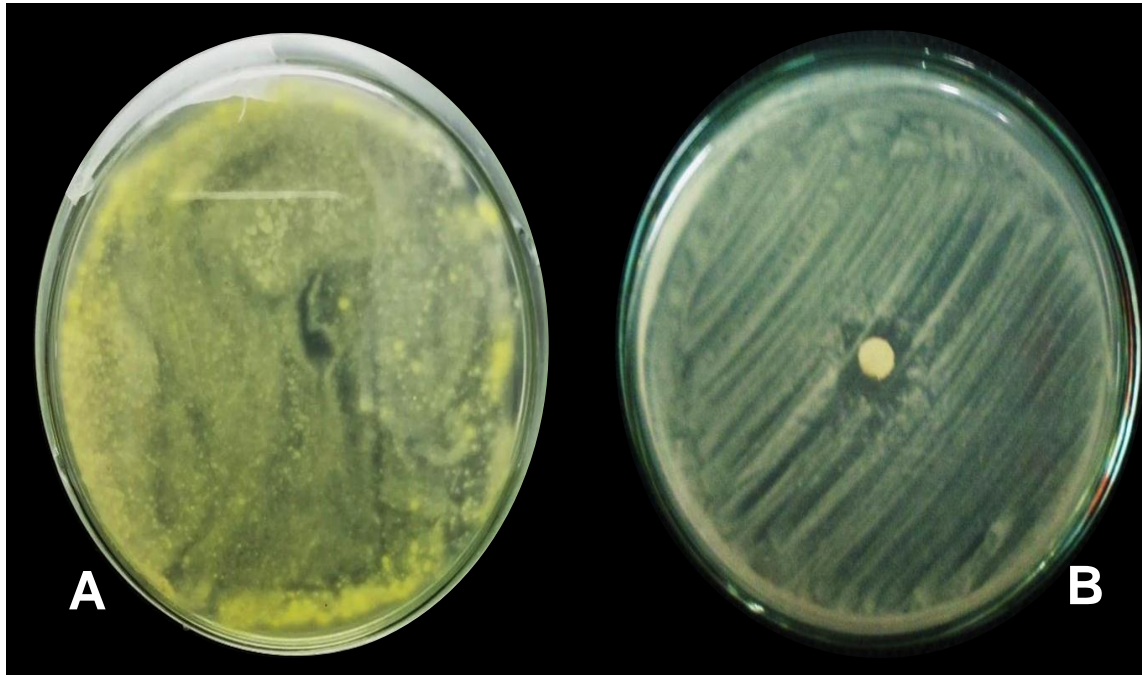
La tabla 2 muestra los halos promedios de inhibición obtenidos por ambos extractos, de concentraciones 174 mg/ml para romero y 183 mg/ml para clavo de olor, donde se puede observar que *A. flavus* fue la especie con mayor sensibilidad para el extracto de *R. officinalis*, con un halo promedio de 11,00 mm, mientras que *S. aromaticum* presentó mayor actividad contra *A. niger* con un halo promedio de 28,00 mm.

**Tabla 2.** Actividad antifúngica de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum* sobre las diferentes especies aisladas.

Extracto	Especies	Halos promedio de inhibición (mm)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	9,60 mm
	<i>Aspergillus flavus</i>	11,00 mm
	<i>Rhizopus oryzae</i>	No hubo inhibición
<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	28,00 mm
	<i>Aspergillus flavus</i>	22,60 mm
	<i>Rhizopus oryzae</i>	26,60 mm

mm: milímetro

En las figuras 2, 3 y 4, se ilustran los halos de inhibición producidos por el extracto crudo de *Rosmarinus officinalis* sobre *A. niger*, *A. flavus* y *R. oryzae*, pudiéndose observar que el extracto crudo de *R. officinalis* actuó como antifúngico sobre el crecimiento de *A. niger* y *A. flavus*, pero no sobre *R. oryzae*.

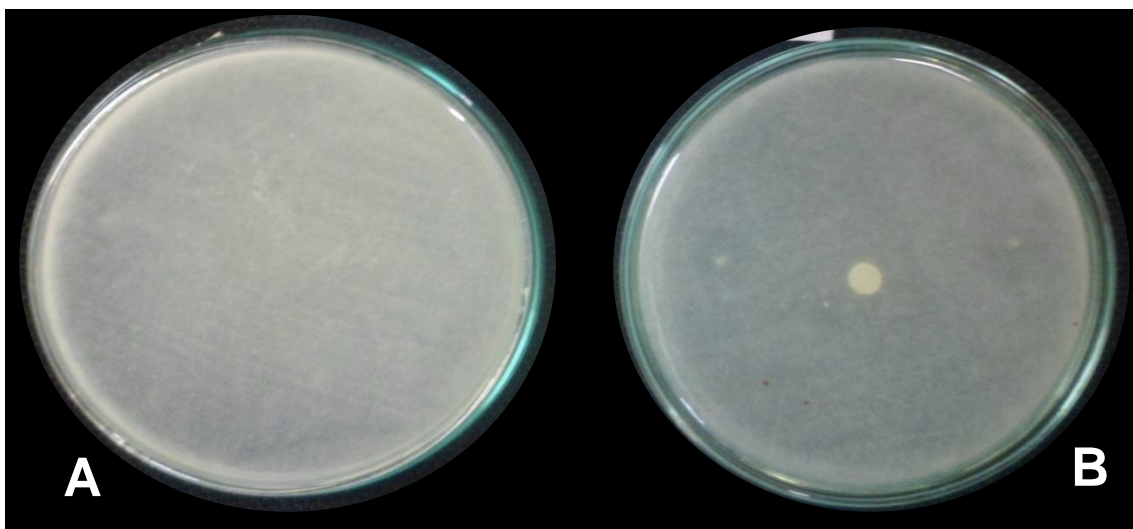


**Figura 2.** Actividad antifúngica del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus niger*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. niger*, B: PDA inoculado con *A. niger* disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.



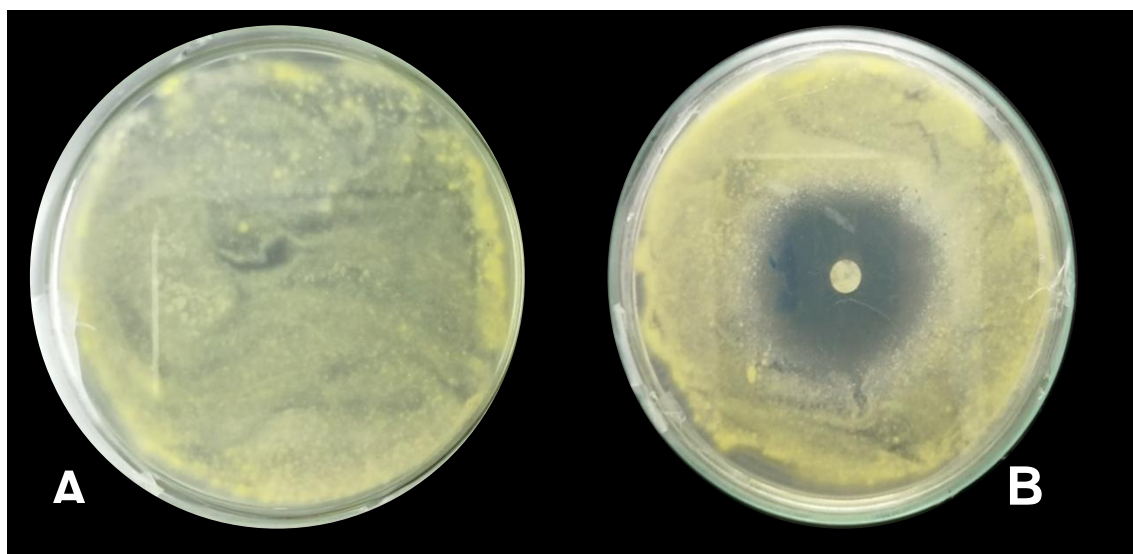
**Figura 3.** Actividad antifúngica del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus flavus*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. flavus*, B: PDA inoculado con *A. flavus* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.



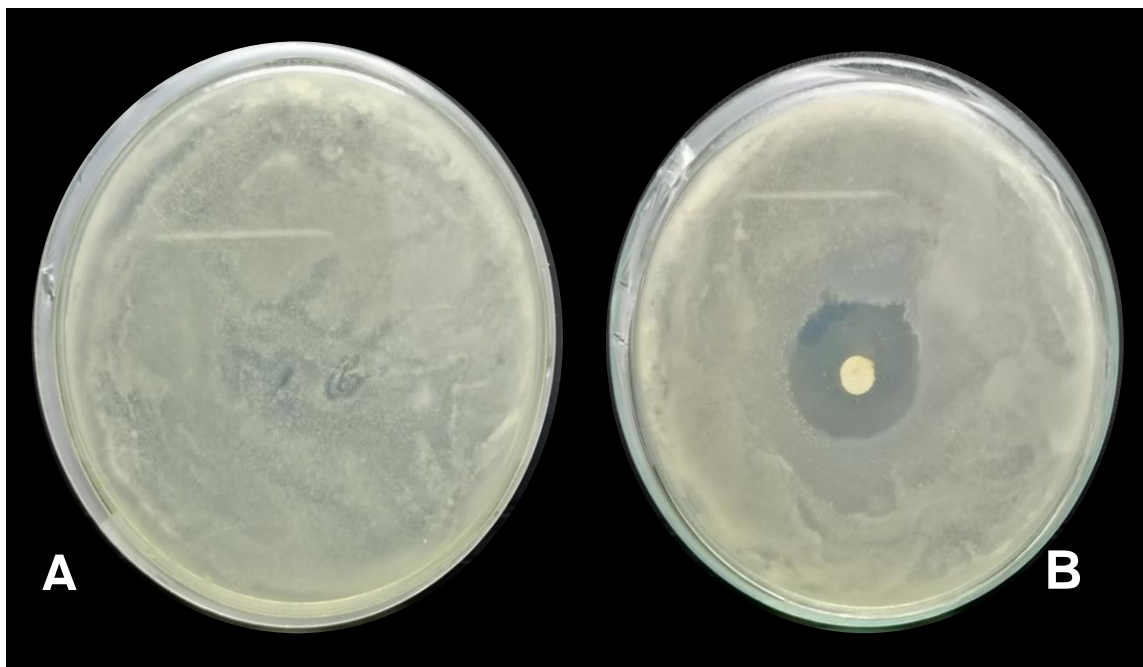


**Figura 4.** Actividad antifúngica del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Rhizopus oryzae*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *R. oryzae*, B: PDA inoculado con *R. oryzae* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.

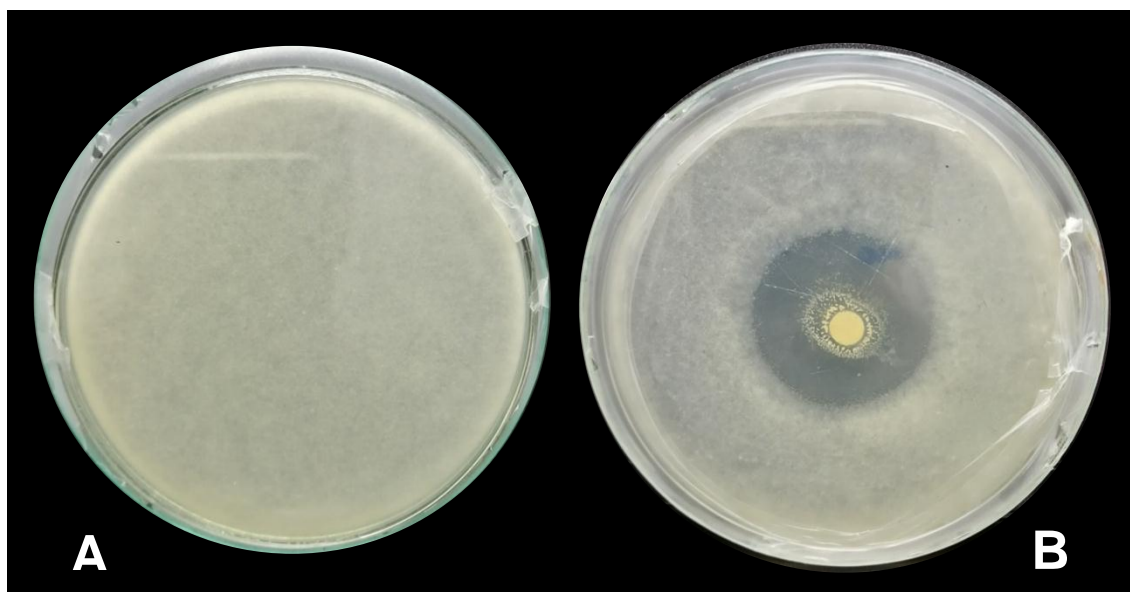
En las figuras 5, 6 y 7, se ilustran los halos de inhibición producidos por el extracto crudo de *Syzygium aromaticum* sobre *A. niger*, *A. flavus* y *R. oryzae*, pudiéndose observar que el extracto crudo de *S. aromaticum* actuó como antifúngico sobre el crecimiento de todas las especies.



**Figura 5.** Actividad antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Aspergillus niger*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. niger*, B: PDA inoculado con *A. niger* disco impregnado con el extracto de *Syzygium aromaticum*.



**Figura 6.** Actividad antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Aspergillus flavus*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. flavus*, B: PDA inoculado con *A. flavus* + disco impregnado con el extracto de *Syzygium aromaticum*.



**Figura 7.** Actividad antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Rhizopus oryzae*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *R. oryzae*, B: PDA inoculado con *R. oryzae* + disco impregnado con el extracto de *Syzygium aromaticum*.

Centeno *et al.* (2010), realizaron un estudio para demostrar la actividad antifúngica de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* sobre *Aspergillus flavus* y *Aspergillus ochraceus*, donde quedó demostrado que estos extractos causan inhibición de dichos hongos, con halos promedio de inhibición de 11,40 mm para *A. flavus* y 16,60 mm para *A. ochraceus*, con el extracto de *Thymus vulgaris*, mientras que para el extracto de *R. officinalis*, los halos promedios de inhibición fueron de 14,60 mm para *A. flavus* y 16,20 mm para *A. ochraceus*. Por su parte Seetha y Naidu (2010) inocularon con esporas los frutos de grosella y tomates con cepas de los géneros *Aspergillus*, *Mucor* y *Rhizopus* para demostrar el efecto fungistático de tres aceites esenciales: clavo de olor, eucalipto y limón, siendo el aceite de clavo el que presentó mayor efecto fungicida.

Martínez (2013), pudo demostrar el poder antifúngico de los extractos de romero, menta y salvia sobre *A. niger*, *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*, obteniendo un mejor efecto con romero, con halos promedios de inhibición de 12,00 mm para las tres especies y 8,00 mm para los extractos de menta y salvia. Valdés-Pérez *et al.* (2016) evaluaron la actividad antifúngica del aceite esencial de clavo de olor frente a *A. niger*, *A. flavus* y *Penicillium aurantiogriseum*, donde estos hongos fueron inhibidos, presentando halos de inhibición de 24,00 mm; 23,00 mm y 21,00 mm, respectivamente. Por su parte, Ocque (2018), al evaluar el efecto antifúngico del clavo de olor sobre *Nigrospora* sp., *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp, obtuvo halos de inhibición promedio de 18,1 mm; 17,3 mm y 15,7 mm, respectivamente.

En las tablas 3 y 4, se describen los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos crudos de *R. officinalis* y *S. aromaticum* sobre las diferentes especies aisladas. El extracto crudo de *R. officinalis* inhibió el crecimiento de *A. niger* y *A. flavus*, con una CMI de 43,50 mg/ml; por su parte *Rhizopus oryzae* no mostró sensibilidad a este extracto. Para el caso del extracto de *S. aromaticum*, éste tuvo un mayor efecto sobre las especies

aisladas, donde todas las anteriores presentaron una CMI de 5,71 mg/ml.

**Tabla 3.** Concentración mínima inhibitoria de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* y *Rhizopus oryzae*.

Extracto	Microorganismo	Concentración mínima inhibitoria Diluciones / Concentración (mg/ml)					
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
		87,00	43,50	21,75	10,87	5,43	2,71
<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	-	-	+	+	+	+
	<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	+	+	+	+
	<i>Rhizopus oryzae</i>	+	+	+	+	+	+

(-): No hubo crecimiento, (+): Hubo crecimiento

**Tabla 4.** Concentración mínima inhibitoria de los extractos etanólicos de *Syzygium aromaticum* sobre *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* y *Rhizopus oryzae*.

Extracto	Microorganismo	Concentración mínima inhibitoria Diluciones / Concentración (mg/ml)					
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
		91,50	45,75	22,87	11,43	5,71	2,85
<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-	+
	<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	-	-	+
	<i>Rhizopus oryzae</i>	-	-	-	-	-	+

(-): No hubo crecimiento, (+): Hubo crecimiento

En 2011, Rana *et al.*, demostraron que el aceite esencial de clavo es altamente antifúngico, ya que causó la inhibición de todas las especies de hongos analizados, con CMI desde 9 µl/ml hasta 12 µl/ml. Por su parte, Castro y Lima (2011), al ensayar el aceite esencial de romero en el género *Candida*, determinaron que la CMI para el 81,00% de las cepas analizadas, fue de 5 mg/ml. Márquez (2012), logró demostrar con los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*, la actividad antifúngica de los mismos, al evaluar varias especies de *Candida*, resultando la más sensible una cepa de *Candida albicans*, con una CMI de 11,20 mg/ml para *R. officinalis*, mientras que *M. officinalis*, inhibió la mayoría de las cepas a una concentración de 44,00 mg/ml.

En el caso de Baghloul *et al.* (2017), obtuvieron una CMI del aceite esencial de romero del 0,50%, con ausencia total del crecimiento de 16 cepas de *A. niger*, demostrando una vez más, el poder fungicida de *R. officinalis*.

Dentone y Morales (2017), al demostrar *in vitro* la actividad antimicótica del aceite esencial de romero, obtenido por método de arrastre de vapor y con una pureza del 100%, obtuvieron una CMI mayor a 5000 ppm, para inhibir el crecimiento de *Microsporum canis*. Por su parte, Vizcarra (2017), obtuvo una CMI de 31,598 mg/ml, al evaluar la actividad de *S. aromaticum* sobre *Candida albicans*; usando la misma metodología para la obtención del aceite esencial, Gianfrancesco (2018), determinó el efecto de *Morinda citrifolia* sobre *A. flavus* y *A. niger*, obteniendo una CMI de 81,75 mg/ml para ambas especies de *Aspergillus*.

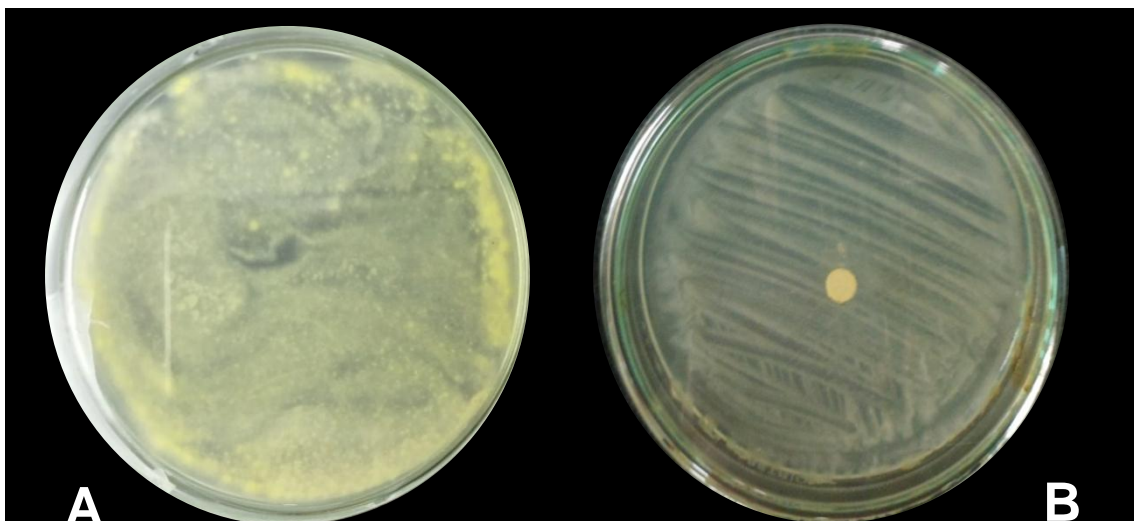
La actividad antifúngica de los componentes volátiles de *R. officinalis* y *S. aromaticum* sobre las especies aisladas, se muestran en la tabla 5, donde se aprecia que sólo tuvieron efecto los componentes volátiles del extracto de *S. aromaticum*, con un halo de 25,30 mm para *A. niger*, seguido de *R. oryzae* con 15,60 mm y finalmente *A. flavus* con 10,00 mm comprobándose nuevamente que *A. niger* presenta mayor sensibilidad a este extracto.

**Tabla 5.** Actividad antifúngica de los componentes volátiles de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum*.

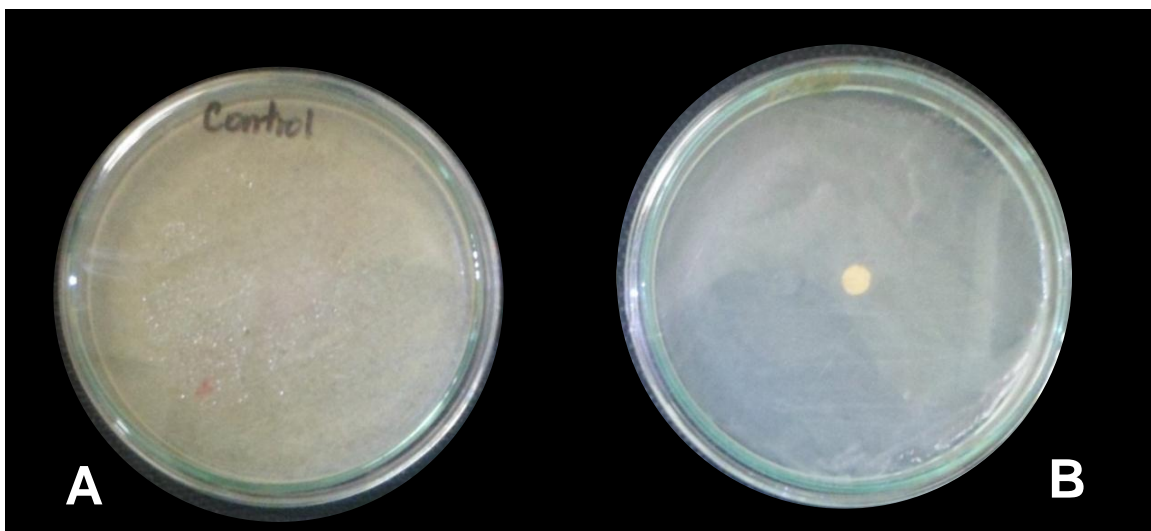
Extracto	Especies	Halos promedio de inhibición (mm)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	No hubo inhibición
	<i>Aspergillus flavus</i>	No hubo inhibición
	<i>Rhizopus oryzae</i>	No hubo inhibición
<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	25,30 mm
	<i>Aspergillus flavus</i>	10,00 mm
	<i>Rhizopus oryzae</i>	15,60 mm

mm: milímetros

En las figuras 8, 9 y 10, se ilustran la ausencia de sensibilidad de *A. niger*, *A. flavus* y *R. oryzae* a los componentes volátiles del extracto de *Rosmarinus officinalis*, donde se puede notar que dichos componentes volátiles no actuaron como sustancia antifúngica sobre el crecimiento de estos hongos.



**Figura 8:** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus niger*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. niger*, B: PDA inoculado con *A. niger* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.

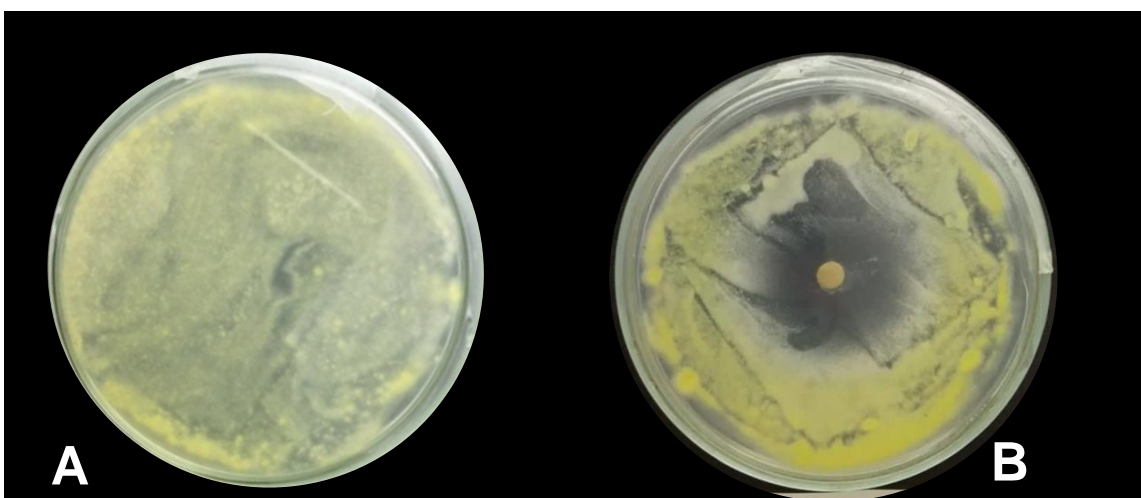


**Figura 9:** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Aspergillus flavus*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. flavus*, B: PDA inoculado con *A. flavus* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.

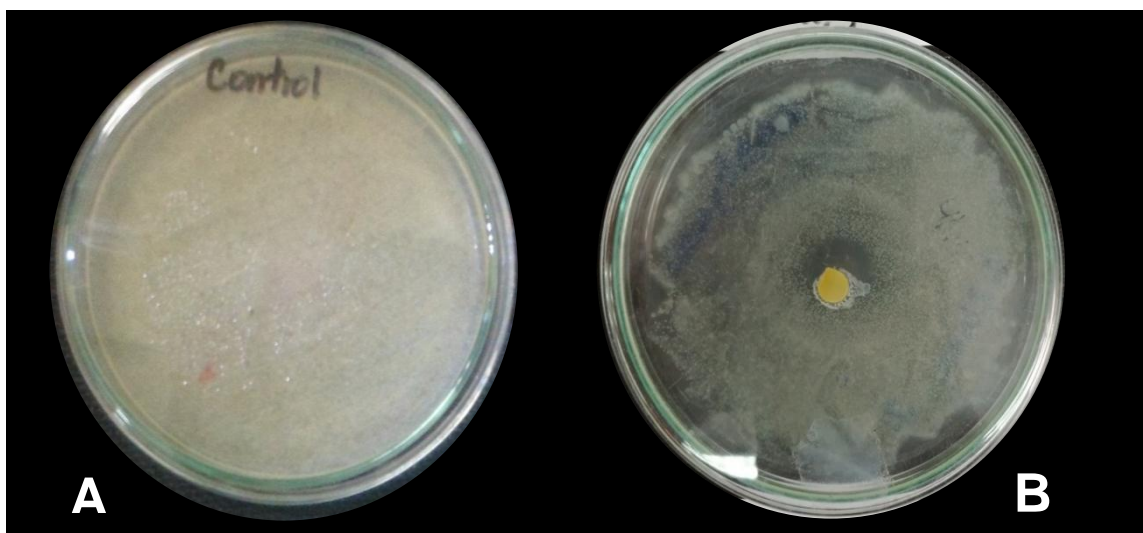


**Figura 10:** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Rosmarinus officinalis* sobre *Rhizopus oryzae*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *R. oryzae*, B: PDA inoculado con *R. oryzae* + disco impregnado con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.

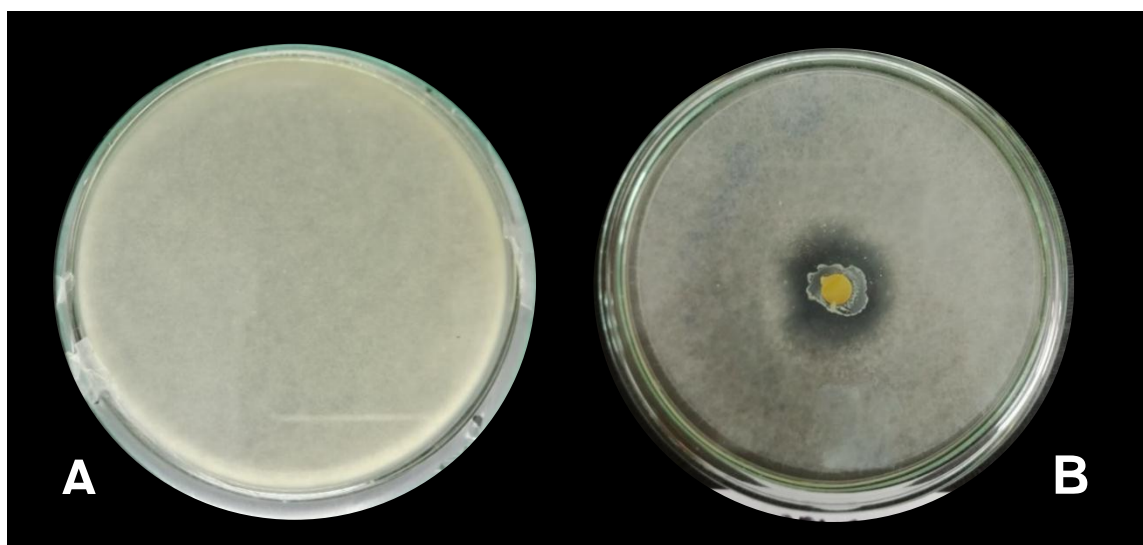
En las figuras 11, 12 y 13, se observan los halos producidos por los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum*, donde se puede notar que dichos componentes volátiles actuaron como sustancia antifúngica sobre el crecimiento de *A. niger*, *A. flavus* y *R. oryzae*.



**Figura 11:** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Aspergillus niger*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. niger*, B: PDA inoculado con *A. niger* + disco impregnado con el extracto de *Syzygium aromaticum*.



**Figura 12:** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Aspergillus flavus*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *A. flavus*, B: PDA inoculado con *A. flavus* + disco impregnado con el extracto de *Syzygium aromaticum*.



**Figura 13:** Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Rhizopus oryzae*. A: control de crecimiento: Agar papa dextrosa (PDA) inoculado con *R. oryzae*, B: PDA inoculado con *R. oryzae* + disco impregnado con el extracto de *Syzygium aromaticum*.

Tullio *et al.* (2007), trabajaron con los aceites de tomillo rojo, hinojo, clavo, pino, salvia, bálsamo de limón y lavanda contra cepas fúngicas clínicas y ambientales, donde resultó que los vapores de los aceites de tomillo rojo y clavo, son los que presentan el más amplio espectro de actividad contra los 15



hongos filamentosos evaluados, dentro de los cuales se encontraban *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium lanosum* y *Alternaria alternata*.

En 2014, Stavropoulou *et al.*, ensayaron el efecto del vapor del aceite de *Oreganum dictamnus* contra el moho gris (*Botrytis cinerea*) *in vitro* y en berenjena (*Solanum melongena* L.) y determinaron que, *in vitro*, el crecimiento de las colonias fue inhibido, mientras que *in vivo*, el crecimiento de las lesiones fúngicas y la producción de conidios, se redujo en los frutos tratados con dichos aceites, es decir, la aplicación de estos compuestos volátiles indujo resistencia por parte de la fruta contra el patógeno.

Martínez (2018), comprobó la actividad antifúngica de los componentes volátiles de romero y toronjil, obteniendo como resultado halos promedio de inhibición de 5,30 mm y 7,30 mm, respectivamente, contra *Aspergillus flavus*. De la misma manera, Ocque (2018), obtuvo halos de 14,7 mm, 14,3 mm y 11,5 mm, contra *Nigrospora* sp., *Curvularia* sp. y *Fusarium* sp., respectivamente, al evaluar los componentes volátiles de *Syzygium aromaticum*.

La actividad antifúngica de los aceites esenciales, generalmente no se atribuye a un solo componente, esto debido a que dichos aceites están constituidos por un gran número de compuestos químicos (Rosas-Gallo y López-Malo, 2011). Sin embargo, el efecto de este tipo de compuestos va a depender de ciertas condiciones, como son: baja temperatura, pH y bajos niveles de oxígeno; asimismo, la acción de los aceites esenciales de algunas plantas puede influir en varias fases del desarrollo fúngico, pudiendo afectar desde la esporulación, la formación de estructuras de penetración y hasta el desarrollo del micelio (Montes *et al.*, 2000; Velásquez *et al.*, 2014).

La función antimicrobiana de los aceites esenciales depende de la estructura química de sus componentes. La acción antifúngica, es debida a la acción de ésteres, cetonas, aldehídos, alcoholes alifáticos, fenoles, terpenos, entre otros;

los cuales son capaces de atravesar la membrana celular, rica en ergosterol (esterol principal de las membranas celulares fúngicas) e inducir la salida de protones de la célula fúngica, causando así, modificación de la misma y posteriormente su muerte (López-Malo *et al*, 2005; Omidbeygi *et al*, 2007; Bakkali *et al.*, 2008).

El efecto antifúngico de *Rosmarinus officinalis* posiblemente esté relacionado con los monoterpenos: 1,8-Cineol, alcanfor y  $\alpha$ -pineno, compuestos principales del aceite esencial de esta planta. Estos componentes, son capaces de causar el incremento de la permeabilidad de la membrana celular, de esta manera contribuyen a la entrada de otros constituyentes del aceite que se encuentran en menor concentración, pero que coadyuvan significativamente, causando un efecto sinérgico (Touafek *et al*, 2004; Romeu *et al*, 2007; Baghloul *et al*, 2017). La composición química de un aceite esencial, depende de ciertos factores como, el órgano y edad de la planta, la forma de crecimiento de la planta; es decir, si ésta fue cultivada, o desarrollada de forma silvestre, la condición ambiental (temperatura, pH, humedad, y otros), la temporada de recolección, procedimiento de deshidratación y las condiciones de almacenamiento, bajo la cual, la planta recolectada, se mantiene hasta la extracción de su aceite (Bakkali *et al.*, 2008; Arbi *et al.*, 2014; De Groot y Schmidt, 2016).

En este estudio se pudo observar, que de las dos especies de plantas estudiadas (romero y clavo de olor), al evaluarse la actividad antifúngica por difusión en agar, el aceite esencial de romero, no presentó efecto antifúngico sobre *Rhizopus oryzae*, y en el caso de la acción de los componentes volátiles, los hongos evaluados no presentaron sensibilidad, probablemente a que dicho aceite está compuesto principalmente por terpenos, específicamente monoterpenos, los cuales son compuestos químicos de baja masa molar y altamente volátiles, que pudieron haberse perdido durante el proceso previo de extracción del aceite.

La ausencia de sensibilidad, incluso pudo deberse a la actividad de terpenos menos livianos, como por ejemplo, sesquiterpenos, los cuales poseen una masa molar mayor, y presentan una menor volatilización en comparación con los monoterpenos, por lo que podría suponerse que los componentes no fueron lo suficientemente difusibles y volátiles, para causar la inhibición de los hongos estudiados. Otra probable causa de la falta de actividad de este aceite, podría corresponder a la planta, es decir, que esta última no poseía constituyentes lo suficientemente efectivos contra el crecimiento de estos hongos, ya sea por contacto directo o por volatilización de sus componentes (Avello *et al.*, 2012).

Por su parte, el aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, presentó una actividad antifúngica significativa en todas las pruebas realizadas para evaluar su poder como antifúngico natural, para todas las especies de hongos estudiadas. El aceite de clavo, contiene principalmente eugenol (83,60%), acetato de eugenilo (11,60%) y cariofileno (4,20%) como componentes mayoritarios (Costa *et al.*, 2011). No obstante, Moura *et al.*, (2012), consideran que estos porcentajes pueden variar, y que además, existen muchos otros componentes en este aceite esencial; sin embargo, el eugenol siempre prevalece sobre los demás constituyentes.

La actividad antifúngica del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, comprende variadas especies de hongos y levaduras, dentro de las que se incluyen: *C. albicans*, *A. flavus*, *A. niger*, *Penicillium* sp., *R. oryzae*, *R. stolonifer*, *Curvularia* sp., entre otros. El aceite esencial de clavo, así como sus componentes volátiles, presentan una considerable actividad antimicrobiana; inclusive, estudios demuestran que tienen efectos antiparasitarios (Aguilar-González, y López-Malo, 2013). El eugenol, siendo el componente volátil principal del clavo, se ha demostrado que además de usarse como anestésico, antimicrobiano y en la medicina tradicional, su efecto es mayor frente a hongos, que contra bacterias (Hammer *et al.*, 1999, Park *et al.*, 2007). El eugenol es capaz de causar la expansión del retículo endoplasmático de las hijas, así como

también la destrucción parcial de las membranas mitocondriales internas y la destrucción completa de la pared celular, por lo que se considera, que el efecto de este compuesto químico, es a nivel de la estructura fúngica parietal, causando por último, la muerte de la célula (Park *et al.*, 2007; Rana *et al.*, 2011).

La acción antifúngica de ambos aceites esenciales, como se mencionó anteriormente, está dada por la composición química de los mismos. Los estudios realizados hasta el momento, asientan que los compuestos principales de estos aceites, exhiben actividades antimicrobianas, debido a múltiples factores, como son: acción sobre hifas del micelio, causando entonces la salida de los elementos del citoplasma, disminución de la rigidez y de la integración de la pared celular de las hifas, provocando el colapso y la muerte del micelio; también podría deberse a la despolarización de la membranas mitocondriales, que conlleva a una disminución del potencial de membrana, y además, al afectar el ciclo iónico del calcio y de otros canales iónicos, causan así la afección de la bomba de protones y la reserva de energía de la célula. Asimismo, podría atribuirse su acción, a la capacidad de la formación de puentes de hidrógenos entre el grupo hidroxilo de los compuestos fenólicos del aceite y los sitios activos de ciertas enzimas (Daferera *et al.*, 2000; Ultee *et al.*, 2002; Sharma y Tripathi, 2006; Centeno y Carrera, 2013).

Con todo lo mencionado anteriormente, se determinó que ambos extractos, presentaron actividad antifúngica; sin embargo, el mayor efecto se logró observar en el aceite de clavo de olor, determinando entonces, que los extractos pueden ser usados como antifúngicos naturales, para el biocontrol o eliminación de hongos, sobre todo a nivel ambiental.

## CONCLUSIONES

El género fúngico principalmente aislado en el área de oncología del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” fue *Aspergillus niger*, seguido de *Aspergillus flavus* y *Rhizopus oryzae*.

El extracto de *Rosmarinus officinalis* mediante la prueba de difusión en agar mostró actividad antifúngica sobre las dos especies de *Aspergillus*, pero no sobre *Rhizopus oryzae*.

Los hongos evaluados no presentaron sensibilidad a los componentes volátiles del extracto de *Rosmarinus officinalis*.

El extracto de *Syzygium aromaticum* evidenció una marcada actividad antifúngica en todas las pruebas realizadas en los hongos evaluados.

La CMI del extracto de *Syzygium aromaticum*, inhibió el crecimiento fúngico a concentraciones menores, en comparación con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.

El extracto de *Syzygium aromaticum*, resultó ser más eficaz en comparación con el extracto de *Rosmarinus officinalis*.

## RECOMENDACIONES

Continuar realizando estudios, para comprobar la eficacia antifúngica de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum* contra hongos patógenos en animales y humanos.

Realizar métodos de obtención de aceites esenciales diferentes a los aplicados en este trabajo, para conocer la variabilidad del efecto antifúngico.

Ejecutar técnicas cromatográficas, para así obtener individualmente los componentes del extracto, y evaluar la actividad antifúngica de cada uno de los mismos.

Comprobar la actividad antifúngica de otros extractos naturales, sobre este tipo de hongos ambientales para así constituya una forma rápida, efectiva, natural y accesible para la eliminación o control de los mismos.

## BIBLIOGRAFÍA

Aguilar-González, A. y López-Malo, A. 2013. Extractos y aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7 (2): 35-41.

American Public Health Association (APHA). 2002. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Cuarta edición. Capítulo 3. Págs. 25-29.

Anaissie, E. 1992. Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: experience at a cancer center and review. *Clinical Infectious Diseases*, 14(1): 43-53.

Arbi, G.; Faraj, A. y Ahmed, O. 2014. 1,8-Cineole,  $\alpha$ -Pinene and Verbenone chemotype of essential oil of species *Rosmarinus officinalis* L. from Saudi Arabia. *International Journal of Herbal Medicine*, 2(2): 137-141.

Arenas, R. 1993. *Micología Médica Ilustrada*. Interamericana McGraw-Hill. Ciudad de México.

Arenas, R. 2011. *Micología Médica Ilustrada*. Interamericana McGraw-Hill. Ciudad de México.

Avello, M.; López, C.; Gatica, C.; Bustos, E.; Brieva, A.; Pastene, E. y Bittner, M. 2012. Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias *Lauraceae* y *Atherospermataceae*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(1): 73-83.

Ayatollahi, S. y Kazemi, A. 2015. *In vitro* and *in vivo* antidermatophytic activities of some Iranian medicinal plants. *Medical Mycology*, 53: 852-859.

Baghloul, F.; Mansori, R. y Djahoudi, A. 2017. *In vitro* antifungal effect of *Rosmarinus officinalis* essential oil on *Aspergillus niger*. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 7(3): 1-5.

Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D. y Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils-a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2): 446-475

Barrera, L. y García, L. 2008. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium sp.* aislado de papaya (*Carica papaya*). *Revista UDO Agrícola*, 8(1): 33-41.

Bluma, R.; Amaiden, M. y Etcheverry, M. 2008. Screening of Argentine plant extracts: impact on growth parameters and aflatoxin B1 accumulation by *Aspergillus section flavi*. *International Journal of Food Microbiology*, 122: 144-125.

Borrego, S. 2012. *Cladosporium*: género fúngico que deteriora soportes documentales y afecta a la salud del hombre. *Boletín del Archivo Nacional*, 18: 104-108.

Castro, R. y Lima, E. 2011. Antifungal activity of Brazilian sassafras (*Ocotea odorifera* Vell.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils against the genus *Candida*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(2): 203-208.

Centeno, S.; Calvo, M.; Adelantado, C. y Figueroa, S. 2010. Antifungal Activity of Extracts of *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris* against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus ochraceus*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(9): 452-455.

Centeno, S. y Carrera, Y. 2013. Actividad antifúngica y antiaflatoxigénica de extractos de *Melissa officinalis* (*Lamiaceae*) sobre *Aspergillus flavus*. *Saber*, 25(2): 185-191.

Centeno, S. y Machado, S. 2004. Evaluación de la micoflora aérea en las áreas críticas del Hospital principal de Cumaná, estado Sucre, Venezuela. *Investigación Clínica*, 45(2): 137-144.

Cortés-Sánchez, A. y Mosqueda-Olivares, T. 2013. Una mirada a los organismos fúngicos: Fábricas versátiles de diversos metabolitos secundarios de interés biotecnológico. *Revista Química Viva*, 2: 64-90.

Costa, A.; Amaral, M.; Martins, P.; Paula, J.; Fiuza, T.; Resvenzol, L.; Paula, J. y Bara, M. 2011. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(2): 240- 245,

Coy, C. y Acosta, G. 2013. Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(2): 237-246.

Davicino, R.; Mattar, M.; Casali, Y.; Correa, S.; Pettenati, E. y Micalizzi, B. 2007. Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. *Revista Peruana de Biología*, 14(2): 247-251.



De Groot, A. y Schmidt, E. 2016. Essential Oils, Part III: Chemical Composition. *Dermatitis*, 27(4): 161-169.

Dentone, S y Morales S. 2017. Determinación *in vitro* de la Actividad Antimicótica del Aceite de Romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre *Microsporum canis*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(1): 56-61.

Derwich, E.; Benziane, Z. y Chabir, R. 2011. Aromatic and medicinal plants of Morocco: Chemical composition of essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Juniperus phoenicea*. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2(1): 145-153.

De Souza, E.; De Olivera, E.; De Luna, K. y Paiva, C. 2005. Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of various moulds isolated from foods. *Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal*, 48(2): 245-250.

Daferera, D.; Ziogas, B. y Polissiou, M. 2000. GG-MS analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6): 2576-2581.

Fridkin, S. y Jarvis, W. 1996. Epidemiology of Nosocomial Fungal Infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 9(4): 499-511.

Gianfrancesco, T. 2018. Actividad antifúngica del extracto de *Morinda citrifolia* sobre *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger*. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Hammer, K.; Carson, C. y Riley, T. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86: 985-990.

Izzeddin, N.; Rodríguez, G.; Medina, L. y González, L. 2017. Evaluación microbiológica de aire y superficies en quirófano de un centro de salud pública. *Salus*, 21(3): 18-23.

Kalembe, D. y Kunicka, A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10(10): 813-829.

Lezcano, J.; Martínez, B. y Alonso, O. 2012. Cultural and morphological characterization and identification of ten *Fusarium* isolates from stored *Leucaena leucocephala* cv. Perú seeds. *Pastos y Forrajes*, 35(2): 187-196.

Lezcano, J.; Martínez, B. y Alonso, O. 2015. Caracterización cultural y morfológica e identificación de especies de *Aspergillus* asociadas a semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú. *Pastos y Forrajes*, 38(2): 176-181.

López-Malo, A.; Alzamora, S. y Palou, E. 2005. "Naturally Occurring Compounds-Plant Sources" *Antimicrobials in Food*. Davidson, P.; Sofos, J. y Brannen, A. (eds). 3ed Edition. CRC, New York. Págs. 429-451.

Márquez, G. 2012. Actividad antifúngica de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Melissa officinalis* (toronjil) contra especies del género *Candida*, aisladas de pacientes con vulvovaginitis. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Martínez, M. 2018. Actividad antifúngica de *Melissa officinalis* (Toronjil) y *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre *Aspergillus flavus*. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Martínez, P. 2013. Evaluación del poder antifúngico de los extractos de romero, menta y salvia sobre hongos que atacan a las naranjas. *Revista sobre Estudios e Investigaciones del Saber Académico*, 7(7): 28-32.

Montes, R.; Cruz, V.; Martínez, C.; Sandoval, G.; García, R.; Zilch, S.; Bravo, L.; Bermúdez, K.; Flores, H. y Carvajal, M. 2000. Propiedades antifúngicas de plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 18(125-131).

Moura, J.; Sarmiento, F.; De Oliveira, F.; Pereira, J.; Nogueira, V. y de Oliveira, E. 2012. Actividad antifúngica del aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* sobre cepas de *Candida tropicalis* de aislados clínicos. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Especies Medicinales y Aromáticas*, 11(3):208-217.

Ocque, A. (2018). Evaluación del efecto inhibitorio del extracto crudo de *Syzygium aromaticum* contra especies de hongos filamentosos aislados del área de oncología del Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá", Cumaná, estado Sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Omidbeygi, M.; Barzegar, M.; Hamidi, Z. y Naghdibadi, H. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus falvus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*, 18: 1518-1523.

Park, M.; Gwakm, K.; Yang, I.; Cha, W.; Jo, H.; Chang, J.; Jeung, E. y Choi, I. 2007. Antifungal activities of the essential oils in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Bailey and their constituents against various dermatophytes. *The Journal Microbiology*, 45: 460-465.

Perlroth, J.; Choi, B. y Spellberg, B. 2007. Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Medical Mycology June*, 45: 321-346.

- Rana, I.; Rana, A. y Charan, R. 2011. Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* (L.) by extraction, purification and analysis of its main component eugenol. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(4): 1269–1277.
- Rasooli, I.; Hadi, M.; Yadegarina, D.; Gachkar, L.; Allameh, A. y Bagher, M. 2008. Antimycotoxicogenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum capiticum* L. essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, 122: 135-139.
- Rasooli, I. y Mirmostafa, S. 2003. Bacterial susceptibility and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyianus* and *Thymus persicus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 2200-2205.
- Ridell, R. 1950. Permanent stained mycology preparation obtained by lied culture. *Mycology*, 42: 265-270.
- Rivas, P.; Paredes, M. y Cortés, J. 2006. Infecciones fúngicas invasivas y cáncer. *Revista Colombiana de Cancerología*, 10(1): 67-70.
- Rivero, M.; Álvarez, M.; López, T. y González, J. 1997. Actividad antifúngica *In vitro* del *Pinus caribaea* (Pino macho). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 2(1): 25-29.
- Romeu, C.; Botta, E. y Díaz, Y. 2007. Caracterización fitoquímica del aceite de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y evaluación *in vitro* de su actividad acaricida. *Fitosanidad*, 11(2): 75-78.
- Rosas-Gallo, A. y López-Malo, A. 2011. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*). *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 5(1): 41-50.
- Ross, Z.; Gara, E.; Hill, D.; Sleightholme, H. y Maslin, D. 2001. Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: Evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulphides and garlic power. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(1): 80-475.
- Samonis, G. y Bafaloukos, D. 1992. Fungal infections in cancer patients: an escalating problem. *In Vivo*, 6(2): 183-193.
- Samson, R.; Visagie, C.; Houbraken, J.; Hong, S.; Hubka, V.; Klaassen, C.; Perrone, G.; Seifert, K.; Susca, A.; Tanney, J.; Varga, J.; Kocsubé, S.; Szigeti, G.; Yaguchi, T. y Frisvad, J. 2014. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78: 141-173.

Seetha, B. y Naidu, K. 2010. Antimicrobial efficacy of essential oil *Syzygium aromaticum* against common infectants of storage cereals and fruits. *Journal Pharmacy Research*, 3(10): 2544-2545.

Sharma, N. y Tripathi, A. 2006. Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus senensis* on postharvest pathogen. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22: 587-593.

Stavropoulou, A.; Loulakakis, K.; Magan, N. y Tzortzakis, N. 2014. *Origanum dictamnus* Oil Vapour Suppresses the Development of Grey Mould in Eggplant Fruit *In Vitro*. *BioMed Research International*, 2014: 1-11.

Suganthini, N. 2016. Emerging Fungal Infections in Cancer Patients- A Brief Overview. *Medical Mycology: Open Access*, 2(3): 1-11.

Sutton, S. 2010. The environmental monitoring program in a GMP environment. *Journal of GXP Compliance*, 14(3): 22-30.

Takaki, I.; Bersani-Amado, L.; Vendruscolo, A.; Sartoretto, S.; Diniz, S.; Bersani-Amado, C. y Cuman, R. 2008. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in experimental animal models. *Journal of Medicinal Food*, 11(4): 741-746.

Tapia, C. y Amaro, J. 2014. Género *Fusarium*. *Revista Chilena de Infectología*, 31(1): 85-86.

Tintino, S.; Neto, A.; Menezes, I.; Oliveira, C. y Coutinho, H. 2015. Antimicrobial Activity and Combined Effects on Antifungal and Antibacterial Drugs the Fruit of *Morinda citrifolia* L. *Acta Biológica Colombiana*, 20(3): 193-200.

Touafek, O.; Nacer, A.; Kabouche, A.; Kabouche, C. y Bruneau, C. 2004. Chemical Composition of the Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* Cultivated in the Algerian Sahara. *Chemistry of Natural Compounds*, 40(1): 28-29.

Triola, M. 2009. *Estadística*. Décima edición. Editorial Pearson, México.

Tullio, V.; Nostro, A.; Mandras, N.; Dugo, P.; Banche, G.; Cannatelli, M. y Carlone, N. 2007. Antifungal Activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapour contact methods. *Journal of Applied Microbiology*, 102(6): 1544-1550.

Ultee, A.; Bennik, M. y Moezelaar, R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 1561-1568.

Valdés-Pérez, O; Borrego-Alonso, S; Vivar-González, I; Anaya-Villalpanda, M y Molina-Veloso, A. 2016. Actividad antifúngica del aceite esencial de clavo de

olor en el control del biodeterioro fúngico de documentos. *Centro Nacional de Investigaciones Científicas*, 47(2): 78-85.

Velásquez, M.; Álvarez, R.; Tamayo, P. y Carvalho, C. 2014. Evaluación *in vitro* de la actividad fungistática del aceite esencial de mandarina sobre el crecimiento de *Penicillium* sp. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1): 7-14.

Vizcarra, C. 2017. Efecto antifúngico *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor) sobre *Candida albicans*. Trabajo de pregrado. Escuela Profesional de Estomatología, Universidad Alas Peruanas, Tacna.

Waller, S.; Madrid, I.; Cleff, M.; Santin, R.; Freitag, R.; Meireles, M. y Mello, J. 2016. Effects of essential oils of *Rosmarinus officinalis* Linn. and *Origanum vulgare* Linn. from different origins on *Sporothrix brasiliensis* and *Sporothrix schenckii* complex. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 68(4): 991-999.

Zupanic-Krmek, D. y Nemet, D. 2004. Systemic fungal infections in immunocompromised patients. *Acta Medica Croatica*, 58(4): 251-261.

## HOJAS DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

<b>Título</b>	Actividad antifúngica de los extractos de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero) y <i>Syzygium aromaticum</i> (Clavo de olor) contra especies de hongos filamentosos aislados en el área de oncología del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre
---------------	---

Autor(es)

<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Código CVLAC / e-mail</b>	
Fariñas R. Emily A.	<b>CVLA C</b>	25.467.354
	<b>e-mail</b>	<a href="mailto:Emilyf_14@hotmail.com">Emilyf_14@hotmail.com</a>
	<b>e-mail</b>	

Palabras o frases claves:

Extractos de plantas, extracto etanólico, *Rosmarinus officinalis* (Romero), *Syzygium aromaticum* (Clavo de olor), *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae*.

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

### RESUMEN

La creciente resistencia a antimicrobianos ha propiciado la búsqueda y el desarrollo de nuevas alternativas naturales contra las infecciones de origen fúngico que puedan afectar primeramente a pacientes inmunosuprimidos, por lo que el presente estudio, tuvo como objetivo, evaluar la actividad antifúngica de *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum* contra géneros de hongos filamentosos aislados en el área de oncología del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Se tomaron 70 muestras ambientales, las cuales fueron sembradas a profundidad en placas con PDA para su posterior aislamiento e identificación. Se prepararon suspensiones de conidios de los microorganismos aislados, se obtuvieron extractos de romero y clavo de olor para los ensayos, y a partir de éstos, se determinó: la actividad antifúngica por el método de difusión en agar, concentración mínima inhibitoria (CMI), y por último la actividad antifúngica por volatilización de los componentes. La especie fúngica mayormente aislada fue *Aspergillus niger*, seguido de *Aspergillus flavus* y por último *Rhizopus oryzae*, con un porcentaje de aislamiento de 21,43%, 7,14% y 2,86%, respectivamente. Los resultados obtenidos de la actividad antifúngica de los extractos de romero y clavo de olor se establecieron al observar cualquier halo de inhibición en el crecimiento fúngico, donde *A. niger* obtuvo un halo de inhibición promedio de 9,60 mm y 28,00 mm, respectivamente. En el caso de *A. flavus*, presentó un halo de inhibición de 11,00 mm para romero y 22,60 mm para clavo, por su parte *R. oryzae* presentó inhibición solo con clavo de olor. La CMI del extracto de romero fue de 173 mg/ml y de 184 mg/ml para clavo. Al evaluar la actividad antifúngica por volatilización de los componentes de los extractos, solo se presenció sensibilidad de los hongos hacia el extracto de clavo. Se concluyó, que las especies aisladas presentan sensibilidad a estos aceites, pero se pudo determinar que el extracto de clavo presenta mayor actividad antifúngica sobre ambos géneros.

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos	Nombres y	ROL / Código CVLAC / e-mail							
Luz Salazar	ROL	CA	<input type="checkbox"/>	AS	<input checked="" type="checkbox"/>	TU	<input type="checkbox"/>	JU	<input type="checkbox"/>
	CVLAC	13.630.199							
	e-mail	<a href="mailto:luz31salazar@gmail.com">luz31salazar@gmail.com</a>							
Evis Parra	ROL	CA	<input type="checkbox"/>	AS	<input type="checkbox"/>	TU	<input type="checkbox"/>	JU	<input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	10.947.421							
	e-mail	<a href="mailto:eparra.28@gmail.com">eparra.28@gmail.com</a>							
Hernando Herrera	ROL	CA	<input type="checkbox"/>	AS	<input type="checkbox"/>	TU	<input type="checkbox"/>	JU	<input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	5.872.352							
	e-mail	<a href="mailto:hherrera@udo.edu.ve">hherrera@udo.edu.ve</a>							

Fecha de discusión y aprobación:

**Año    Mes    Día**

2020	02	05
------	----	----

Lenguaje: SPA



**Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6**

Archivo(s):

<b>Nombre de archivo</b>	<b>Tipo MIME</b>
<b>Curso Especial de Grado</b>	<b>Application/word</b>
<b>Tesis-DeFariñas,Emily.doc</b>	

**Alcance:****Espacial:****Opcional****Temporal:****Opcional****Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciado en Bioanálisis****Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura****Área de Estudio: Bioanálisis****Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado: Universidad de Oriente**

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano  
**Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ**  
Vicerrector Académico  
Universidad de Oriente  
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

*Juan A. Bolaños Cuatrecasas*

**JUAN A. BOLAÑOS CUATRECASAS**  
Secretario

UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
SISTEMA DE BIBLIOTECA

RECIBIDO POR *[Firma]*

FECHA *5/8/09* HORA *5:30*

REPUBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA  
UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
SECRETARIA

C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

**Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) :** “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.

*Emily Fariñas*  
Firma  
Autor

*[Firma]*  
Firma  
Tutor