



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

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
(Modalidad: Tesis de Grado)

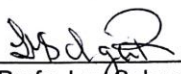
ALEXANDRA JOSÉ OCQUE CARRASQUEL

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

CUMANÁ, 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

APROBADO POR:

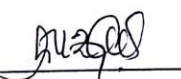


Prof. Luz Salazar
Asesora



Prof. Josefa Díaz
Coasesora





INDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO	II
LISTA DE TABLAS	III
LISTA DE FIGURAS	IV
RESUMEN	V
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	8
Muestra poblacional.....	8
Obtención de la muestra.....	8
Siembra	8
Aislamiento de los hongos filamentosos	9
Identificación de los hongos aislados.....	9
Características macroscópicas.....	9
Características microscópicas	9
Material vegetal	10
Extracción etanólica.....	10
Cepas fúngicas	11
Suspensión de conidios	11
Evaluación de la actividad antifúngica por el método de difusión en agar	11
Determinación de la concentración mínima inhibitoria.....	12
Evaluación de la actividad antifúngica de los componentes volátiles del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i>	12
Análisis de resultados	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
CONCLUSIONES	23
RECOMENDACIONES	24
BIBLIOGRAFÍA	25
HOJAS DE METADATOS	30

DEDICATORIA

A

Dios, por haber puesto en mi camino a todas las personas que han sido mi soporte en todos los ámbitos. Por darme la fortaleza y la perseverancia para seguir adelante y no rendirme a pesar de las circunstancias adversas.

Mis padres, por su paciencia, amor, disposición y ayuda brindada en mi formación.

Mi familia, por el apoyo y la compañía que me brindan y porque sé que cuento con ellos en todo momento, gracias por enriquecer mi vida con su cariño y alegría.

Mi novio, que con sus palabras de aliento me motivaban a seguir adelante, gracias por brindarme tu ayuda en todo momento, por tu apoyo y amor incondicional.

Mis profesores, por su disposición y ayuda en mi formación profesional.

AGRADECIMIENTO

A

Mi asesora, profesora Luz Salazar, mi coasesora, profesora Josefa Díaz, por aceptarme para realizar esta tesis bajo su asesoría, gracias por su tiempo y dedicación.

Todo el personal de la unidad de oncología del SAHUAPA, especialmente, a la Dra. Marilyn Rodríguez y a la Licda. Carmen Lemus, por haberme aceptado en sus instalaciones para alcanzar los objetivos planteados en esta tesis, gracias por su ayuda para la realización de esta investigación.

La profesora Evis Parra, por su ayuda en la identificación de las especies, gracias por su tiempo y orientación.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Géneros fúngicos aislados durante el mes de diciembre en el área de oncología del SAHUAPA, Cumaná, estado Sucre.	14
Tabla 2. Actividad antifúngica del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre los diferentes géneros aislados.	15
Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre <i>Nigrospora</i> sp., <i>Curvularia</i> sp. y <i>Fusarium</i> sp.	17
Tabla 4. Actividad antifúngica de los componentes volátiles del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i>	18

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Actividad antifúngica del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre <i>Nigrospora</i> sp. A: efecto antifúngico del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre el microorganismo inoculado, B: control.	15
Figura 2. Actividad antifúngica del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre <i>Fusarium</i> sp. A: efecto antifúngico del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre el microorganismo inoculado, B: control.	16
Figura 3. Actividad antifúngica del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre <i>Curvularia</i> sp. A: efecto antifúngico del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre el microorganismo inoculado, B: control.	16
Figura 4. Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre <i>Nigrospora</i> sp. A: acción antifúngica de los componentes volátiles de <i>S. aromaticum</i> , B: control.....	19
Figura 5. Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre <i>Curvularia</i> sp. A: acción antifúngica de los componentes volátiles de <i>S. aromaticum</i> , B: control.....	19
Figura 6. Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre <i>Fusarium</i> sp. A: acción antifúngica de los componentes volátiles de <i>S. aromaticum</i> , B: control.....	20

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el 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, para lo cual se tomaron 66 muestras ambientales en zonas internas del área de oncología del hospital, estas muestras fueron sembradas en placas con agar papa dextrosa para su aislamiento e identificación. Se prepararon suspensiones de conidios de los microorganismos aislados, siguiendo la metodología de Rasooli *et al.* (2008), y el extracto etanólico de *S. aromaticum* siguiendo la metodología pautada por Bluma *et al.* (2008). Posteriormente, al extracto se le determinó la actividad antifúngica por el método de difusión en agar, la concentración mínima inhibitoria (CMI) a los hongos que presentaron halos de inhibición y, por último, la actividad antifúngica por volatilización de los componentes. El hongo mayormente aislado fue *Nigrospora* sp., seguido de *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp. Los resultados obtenidos de la actividad antifúngica del extracto de *S. aromaticum* se establecieron al observar cualquier halo de inhibición en el crecimiento fúngico, donde *Nigrospora* sp., *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp. obtuvieron halos de inhibición promedios de 18,1 mm, 17,3 mm y 15,7 mm de diámetro, respectivamente. La CMI del extracto fue de 4,69 mg/ml para *Nigrospora* sp., de 9,37 mg/ml para *Curvularia* sp. y de 18,75 para *Fusarium* sp. Al evaluar la actividad antifúngica por volatilización de los componentes del extracto de *S. aromaticum*, se pudo observar un halo promedio de inhibición para *Nigrospora* sp. de 14,7 mm, para *Curvularia* sp. de 14,3 mm y para *Fusarium* sp. de 11,5 mm. Se concluyó que el género *Nigrospora* sp. fue el hongo mayormente aislado, de igual forma, se pudo evidenciar que el extracto de *S. aromaticum* y sus componentes volátiles poseen actividad antifúngica sobre las especies estudiadas.

INTRODUCCIÓN

Los hongos conforman una compleja agrupación de organismos que transcurren sus vidas en medios sumamente variados, de éstos solo alrededor de 400 especies son necesariamente patógenos para mamíferos, sin embargo, existen patógenos de vegetales, insectos (entomógenos) o de otros hongos (micoparásitos), y escasa cantidad de hongos oportunistas (Arenas, 2011).

Los hongos prefieren desarrollarse en lugares con suficiente humedad y aislados de la luz, ya que no requieren de ésta para sobrevivir. Están compuestos por filamentos (hifas) que son hileras de células, en algunas especies forman una red o micelio sobre el sustrato. La reproducción de los hongos se da por esporas, formadas en los aparatos esporíferos, siendo ésta la parte más visible del hongo (Furci, 2007).

Las infecciones fúngicas nosocomiales han sido una importante causa de morbimortalidad en los hospitales durante la última década, tanto por el aumento de su incidencia como por la dificultad de su diagnóstico precoz. El aumento de su incidencia es debido, entre otras causas, a la mayor supervivencia de los pacientes inmunodeprimidos, a la eclosión de los trasplantes de órganos, al frecuente empleo de dispositivos endovasculares, antibióticos de amplio espectro o tratamientos inmunosupresores (Cantón *et al.*, 2001).

Se han publicado trabajos que reportan brotes hospitalarios de infecciones fúngicas, por la diseminación de conidios a través de las corrientes de aire, utensilios, vestimentas del personal, de enfermos y otros. Los hongos filamentosos mayormente aislados son los que pertenecen al género *Aspergillus*, seguido de *Penicillium*, *Alternaria*, *Curvularia* y *Fusarium* (Salazar, 2012).

Los hongos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Syncephalastrum*, así

como levaduras de los géneros *Candida*, *Rhodotorula* y *Geotrichum*, se encuentran con frecuencia en el aire, debido a su capacidad de adaptar su fisiología al ambiente (Centeno y Machado, 2004).

El género *Aspergillus* forma parte de la subdivisión *Deuteromycotina*, la cual tiene como característica reproductiva, la producción de conidios a partir de una célula conidiógena (reproducción asexual) y carece de reproducción sexual o estado perfecto. Aunado a ello, generalmente, se divide en base a la formación de sus conidios. Las colonias del género *Aspergillus* son de crecimiento rápido, están formadas por densas agrupaciones de conidióforos firmes sobre los que se encuentran las células conidiógenas, que originan las esporas asexuales o conidios. Las vesículas, fiálides, métulas y conidios forman la cabeza conidial; los conidios en cadena pueden formar columnas compactas o divergentes, son unicelulares, lisos o rugosos, hialinos o pigmentados (Samson *et al.*, 1995; Soriano, 2007; Carrera, 2011).

El género *Fusarium* se encuentra ampliamente distribuido en suelo y plantas. Tiene la capacidad de desarrollarse a 37°C, por esto se considera oportunista. Algunos de estos hongos producen toxinas que afectan tanto al hombre como a los animales. De las más de 100 especies del género *Fusarium* descritas, solo 12 de ellas pueden considerarse patógenas para el humano, destacando en orden decreciente de frecuencia *F. solani*, *F. oxysporum* y *F. verticilloides* (Tapia y Amaro, 2014).

Cladosporium sp. se caracteriza por desarrollar conidióforos cortos y pigmentados, posee formación acropétala de conidios; éstos son solo terminales, cada uno de los conidios crea al subsiguiente por gemación, de tal forma que se crean cadenas; si se separan, se observa una pequeña cicatriz u órgano disyuntor. Se pueden dar cadenas cortas, de tres a cuatro esporas, y son ramificadas, o quizá sean cadenas largas, hasta de 35 conidios, con poca ramificación y conidios elípticos de tamaño constante (Arenas, 2011).

La actividad antifúngica de las plantas ha sido estudiada por la resistencia de patógenos a diferentes fungicidas de venta comercial, utilizados en el control de enfermedades de los cultivos agrícolas y por la presencia de residuos químicos en la cadena de alimentos. Se han estudiado nuevas sustancias antifúngicas de origen vegetal, las cuales han demostrado efectividad contra fitopatógenos tanto *in vitro* como *in vivo*. Los extractos naturales de plantas son de interés por ser sustitutos efectivos para producir, sintéticamente, agentes antimicrobianos, siendo una alternativa para evitar la contaminación de alimentos y la resistencia a los diferentes antifúngicos desarrollada por algunos patógenos (Magro *et al.*, 2006; Márquez *et al.*, 2007).

Se ha demostrado que una gran variedad de plantas contienen compuestos naturales, los cuales presentan actividad antioxidante, anticancerígena, así como antimicrobiana, entre otras. Estos compuestos son llamados agentes antimicrobianos y pueden ser añadidos, intencionalmente, al alimento o a empaques, debido a que retardan el crecimiento o causan la muerte de los microorganismos, aumentando así la resistencia de la alteración de calidad o seguridad de un alimento; en estado natural, estos compuestos pueden desempeñar el papel de conservadores de alimentos de una manera natural y sin comprometer la salud de los consumidores esto, debido a que varios de los agentes antimicrobianos han demostrado tener actividad biológica, la cual puede provenir de los diversos componentes fenólicos presentes (Cáceres *et al.* 2014).

Para la extracción de los componentes de las plantas, es necesario la aplicación de técnicas que permitan la obtención de éstos, como es el caso de la hidrodestilación, proceso por el cual, se obtienen los aceites esenciales que han sido ampliamente estudiados por su actividad biológica. Los aceites esenciales contienen hasta un 3 % de moléculas activas, sin embargo, su fuerte olor y sabor, en la mayoría de los casos, impide la aceptación de los consumidores. En el proceso de extracción de los aceites esenciales, existe una

segunda fase, llamada extracto acuoso o agua floral, la cual, según estudios, puede presentar actividad biológica contra diferentes tipos de bacterias y hongos, incrementando las expectativas para su utilización como conservador natural en alimentos, ya que algunos de los componentes activos contenidos en el aceite esencial pueden migrar hacia el extracto acuoso. Estudios de extractos acuosos de plantas, obtenidos por distintos métodos, ya se han utilizado para la producción de fungicidas, incluyendo extractos de pino (*Pinus sylvestris*), abeto rojo (*Picea abies*), ajo (*Allium sativum*), albahaca, romero, laurel, entre otros (Özcan *et al.*, 2011; Eslaminejad *et al.*, 2012).

Los extractos de plantas son productos naturales de valor e importancia económica. Su bioactividad se investiga a partir de los efectos farmacológicos producidos por sus metabolitos, los cuales son obtenidos por diferentes técnicas fisicoquímicas, a partir de los tejidos vegetales. Los aceites esenciales son, en su mayoría, sustancias terpénicas y fenilpropánicas que se almacenan en los tejidos de órganos vegetales secretores de compuestos aromáticos. Estudios han demostrado la actividad antimicrobiana de aceites esenciales, los cuales pueden contener más de 150 componentes. Los antimicrobianos naturales más estudiados son los aceites esenciales de plantas, hierbas o especias, como: pimienta de Jamaica (*Pimenta dioica*), orégano (*Origanum vulgare*), tomillo (*Thymus vulgaris*), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*); siendo sus principales constituyentes: el eugenol, timol, carvacrol y aldehído cinámico (Armas *et al.* 2011).

Los aceites esenciales se caracterizan por presentar un olor fuerte y ser volátiles, naturales, y complejos. Son producidos por plantas aromáticas como metabolitos secundarios constituidos, principalmente, por terpenos, hidrocarburos lineales, derivados del benceno, ésteres, alcoholes, ácidos grasos, fenoles, ceras, cetonas, aldehídos, glicósidos (terpenos unidos químicamente a azúcares), alcaloides, cumarinas, esteroides y compuestos heterocíclicos. Son obtenidos a partir de material vegetal como flores, hojas,

tallo, ramas, semillas, frutos, raíces, madera o corteza. Además, juegan un rol importante en la protección de las plantas como sustancias antibacterianas, antivirales, antifúngicas, insecticidas y contra herbívoros por reducir su apetito para tales plantas. También, pueden atraer algunos insectos para favorecer la dispersión del polen y semillas, o rechazar otros indeseables (Burt, 2004; Celis, 2007; Bakkali *et al.*, 2008; Carrera, 2011).

Los aceites esenciales pueden contener cerca de 20 a 60 componentes con concentraciones diferentes; caracterizándose por poseer dos o tres componentes en concentraciones bastante altas, por ejemplo, el carvacrol (30%) y timol (27%) son los componentes principales del aceite esencial de *Origanum compactum*, linalol (68%) del aceite esencial de *Coriandrum sativum*, mentol (59%) y mentona (19%) del aceite esencial de *Mentha piperita*, entre otros. Se conocen, aproximadamente, 3000 aceites esenciales de los cuales, 300 son comercialmente importantes, siendo utilizados en las industrias farmacéuticas, agronómicas, cosméticas, de perfume y en la preservación de productos de alimentación; además, son usados como antimicrobianos, analgésicos, sedantes, antiinflamatorios, espasmolíticos y anestésicos locales (Celis, 2007; Bakkali *et al.*, 2008; Carrera, 2011).

El clavo de olor *Syzygium aromaticum* o *Eugenia caryophyllata* es una especie perteneciente a la familia *Myrtaceae*, la cual se caracteriza por habitar en ambientes, tropicales. Es propia de Indonesia, y hoy en día se cultiva en Brasil, Haití, India, Kenia, Madagascar, Malasia, Mauricio, México, Seychelles, Sri Lanka, Tanzania, entre muchos otros países. Se dan en suelos ricos en humus arcilloso, así como en suelos lateríticos (propios de las regiones cálidas, pobres en sílice y altos en hierro y alúmina), profundos y sueltos (Singh *et al.*, 2012; Aguilar y López, 2013).

El aceite proveniente de clavo de olor está compuesto por diferentes constituyentes, dentro de los que se destacan el eugenol, β -cariofileno, acetato

de eugenol y α -humuleno, además de otros constituyentes (Alma *et al.*, 2007; Moura *et al.*, 2012).

La actividad antifúngica del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* abarca diversas especies de hongos y levaduras, por ejemplo, especies de *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, especies de *Aspergillus*, *Saccharomyces cerevisiae* y varios dermatofitos, esto se debe, principalmente, al eugenol que contiene este aceite (Machado *et al.*, 2011; Rana *et al.*, 2011).

Se probó la actividad antifúngica de tres aceites esenciales: *Thymus vulgaris* (tomillo), *Satureja hortensis* (ajedrea) y *Syzygium aromaticum* (clavo de olor), contra *Aspergillus flavus*. Los resultados *in vitro* mostraron que el aceite esencial con la mayor actividad antifúngica fue el de tomillo, seguido de ajedrea y el aceite esencial del clavo de olor (Omidbeygi *et al.*, 2007).

La actividad antimicrobiana del aceite esencial del clavo de olor, se debe a los compuestos fenólicos, así a mayor cantidad de compuestos fenólicos en el aceite esencial la actividad antimicrobiana será mayor. Estudios afirman que estos compuestos pueden desnaturalizar a las proteínas y al mismo tiempo reaccionan con los fosfolípidos de la membrana celular, cambiando así su permeabilidad y produciendo la muerte microbiana (Aguilar y López 2013).

El mecanismo de acción de los extractos de plantas, aceites esenciales y sus respectivos componentes no está claro todavía; sin embargo, varios autores sugieren que los componentes de los aceites esenciales atraviesan la membrana celular, interactuando con las enzimas y las proteínas de la membrana, produciendo así un flujo de protones hacia el espacio extracelular que induce cambios en las células y finalmente su muerte (Omidbeygi *et al.*, 2007; Centeno y Carrera, 2013).

Se ha comprobado que los componentes de los aceites esenciales actuarían en las hifas del micelio, provocando la salida de los componentes del citoplasma, la

pérdida de rigidez e integridad de la pared celular de las hifas, dando lugar al colapso y muerte del micelio (Sharma y Tripathi, 2006; Centeno y Carrera, 2013).

Los fungicidas son la primera elección para el control de hongos y sus metabolitos, pero actualmente, estos compuestos químicos empleados en el control de hongos han provocado el desarrollo de resistencia fúngica, contaminación ambiental y riesgo de salud pública. Todo esto ha conllevado al estudio de la actividad antifúngica de las plantas silvestres para la búsqueda de nuevas sustancias antifúngicas naturales (Carrera, 2011); es por ello, que el objetivo de la presente investigación es evaluar el efecto inhibitorio del extracto crudo de *Syzygium aromaticums* contra especies de hongos filamentosos aislados del área de oncología del Servicio Autónomo Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá, Cumaná, estado Sucre.

METODOLOGÍA

Muestra poblacional

Para la consecución de este estudio, se recolectaron 66 muestras ambientales en zonas que presentaban humedad, sugestivas de contaminación por mohos, como lo fueron: la ventanilla del aire acondicionado, lavamanos, además del mobiliario de trabajo (escritorios, estanterías, sillas), en el área de oncología del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, ubicado en Cumaná, estado Sucre. La recolección se realizó una vez a la semana, cada 15 días, por un mes, para un total de tres evaluaciones, en horas con la mayor afluencia de pacientes (Sutton, 2010).

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 un hisopo de algodón humedecido en una solución diluyente de cloruro de sodio (NaCl) estéril. Con el hisopo inclinado en un ángulo de 30°, se procedió a frotar 4 veces la superficie del área de muestreo (asientos, ventanilla del aire acondicionado, escritorios, estanterías, sillas, lavamanos), 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 vortex el tubo con el diluyente al que, previamente, se le colocó el hisopo. Seguidamente, se tomó con una 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 con 15 ml del agar Sabouraud dextrosa (ASD), previamente 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 incubadora a una temperatura comprendida entre 35 a 37°C, por un periodo de 24 a 48 horas (Arenas, 2011).

Aislamiento de los hongos filamentosos

Se escogieron, a partir de las placas con agar previamente sembradas, colonias con características morfológicas diferentes y se sembraron en tubos que contenían 3 ml de agar papa dextrosa (PDA) 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 lo son: aspecto, 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 porta objeto y una laminilla cubre objeto, para su esterilización en la 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 cuatros puntos de los bordes del agar y se colocó una laminilla cubre objeto 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 cubre objeto y se colocó sobre una lámina portaobjeto que contenía una o dos gotas de azul de lactofenol para, finalmente, observar en el microscopio con el objetivo de bajo aumento (10X) y luego con el objetivo de mayor aumento (40X).

Material vegetal

El extracto natural se obtuvo a partir de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor), el cual se adquirió en el mercado municipal de la ciudad de Cumaná, estado Sucre; éstos fueron llevados al herbario Isidro Ramón Bermúdez Romero (IRBR) del Departamento de Biología de la Universidad de Oriente para que se confirmara que era la planta del clavo de olor. Se utilizaron solo los botones (flores que aún no abren) secos del árbol del clavo.

Extracción etanólica

El extracto se obtuvo siguiendo la metodología de Bluma *et al.* (2008). Se trituró en un mortero de cerámica los botones secos del clavo de olor, para así obtener un fino polvo del cual se mezclaron 3 g con 20 ml de etanol al 80%, (marca Riedel de Haen); esta mezcla se dejó en reposo durante 48 horas, a

temperatura ambiente y en oscuridad. Seguidamente, el extracto que se obtuvo se filtró con papel de filtro Whatman N°1 y se vertió en placas de Petri, que fueron previamente pesadas; posteriormente, las placas se guardaron en oscuridad hasta que se evaporó completamente el etanol. Se determinó el peso seco del 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. Finalmente, el extracto que se obtuvo se resuspendió en una proporción 1:1 (1 g del extracto en 1 ml de agua destilada estéril); éste se colocó en viales y se guardó en refrigeración. Cada vial se mezcló profusamente al momento de usarlo. La concentración final del extracto puro del clavo de olor fue de 150 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 que se aislaron se cultivaron cada uno en tubos de ensayo con PDA, 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 del extracto de *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 µl de la suspensión de conidios de cada cepa por separado, utilizando un asa de Digralski. Seguidamente, se impregnaron discos de papel filtro estériles, de seis milímetros (mm) de diámetro, con el extracto 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 el extracto. Las placas se incubaron por tres días a una temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y fueron evaluadas cada 24 horas. Posteriormente, fue medido con una regla los diámetros de los halos de inhibición. 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. 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. A partir de la concentración que se obtuvo del extracto crudo de *Syzygium aromaticum*, se tomaron 100 µl del mismo y se realizaron 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. Las placas se incubaron a 28°C durante 48 horas. Las lecturas se realizaron visualmente y se consideró la CMI como la mayor dilución que no mostró crecimiento fúngico.

Evaluación de la actividad antifúngica de los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum*

La actividad antifúngica por volatilización de los componentes del extracto de *Syzygium aromaticum* fue determinada según Ross *et al.* (2001). En placas de Petri que contenían 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 del 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 tiempo de 3 a 5 días, a una temperatura de 28°C y se observaron cada 24 horas. Posteriormente, se midió con una regla los diámetros de los halos de inhibición. 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.

Análisis de resultados

Los resultados obtenidos se presentaron mediante estadística descriptiva, a través de tablas y figuras para demostrar la actividad antifúngica del extracto de *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 66 muestras, solo 16 mostraron crecimiento fúngico, siendo *Nigrospora* sp. el hongo mayormente aislado, seguido de los géneros *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp., con un porcentaje de 16,67%, 6,06% y 1,51% respectivamente.

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

Género	Cantidad de muestras en las que se aisló	Porcentaje
<i>Nigrospora</i> sp.	11	16,67%
<i>Fusarium</i> sp.	4	6,06%
<i>Curvularia</i> sp.	1	1,51%
Total	16	24,24%

Centeno y Machado (2004), evaluaron las áreas críticas del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre, donde encontraron la presencia de géneros como *Aspergillus* (46,80%), *Fusarium* (11,06%) y *Curvularia* (4,34%). Por otro lado, Salazar (2012), aisló hongos filamentosos en áreas críticas del hospital “Dr. Santos Aníbal Dominici”, Carúpano, estado Sucre, encontrando una mayor proporción de *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, y *Curvularia*. Así mismo, Aguirre (2016), en el Hospital universitario San Ignacio de Bogotá, Colombia, encontró un mayor porcentaje de *Aspergillus*, *Fusarium* y *Curvularia*.

La tabla 2 muestra la actividad antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre los diferentes géneros aislados del área de oncología del SAHUAPA, en la cual se puede observar que se produjo inhibición del crecimiento fúngico, mostrando halos de inhibición de 18,1 mm alrededor del disco para *Nigrospora* sp., 17,3 mm y 15,7 mm de diámetro para *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp., respectivamente; notándose que *Nigrospora* sp. resultó más sensible al extracto crudo de *S. aromaticum* en comparación con los demás géneros en estudio.

Tabla 2. Actividad antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre los diferentes géneros aislados.

Extracto	Géneros	Halos de inhibición promedio (mm)
<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Nigrospora</i> sp.	18,1
	<i>Fusarium</i> sp.	17,3
	<i>Curvularia</i> sp.	15,7

mm: milimetro

En las figuras 1, 2 y 3, se ilustran los halos de inhibición producidos por el extracto crudo de *Syzygium aromaticum* sobre *Nigrospora* sp., *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp., pudiéndose observar que el extracto crudo de *S. aromaticum* actuó como antifúngico sobre el crecimiento de los hongos filamentosos en estudio.

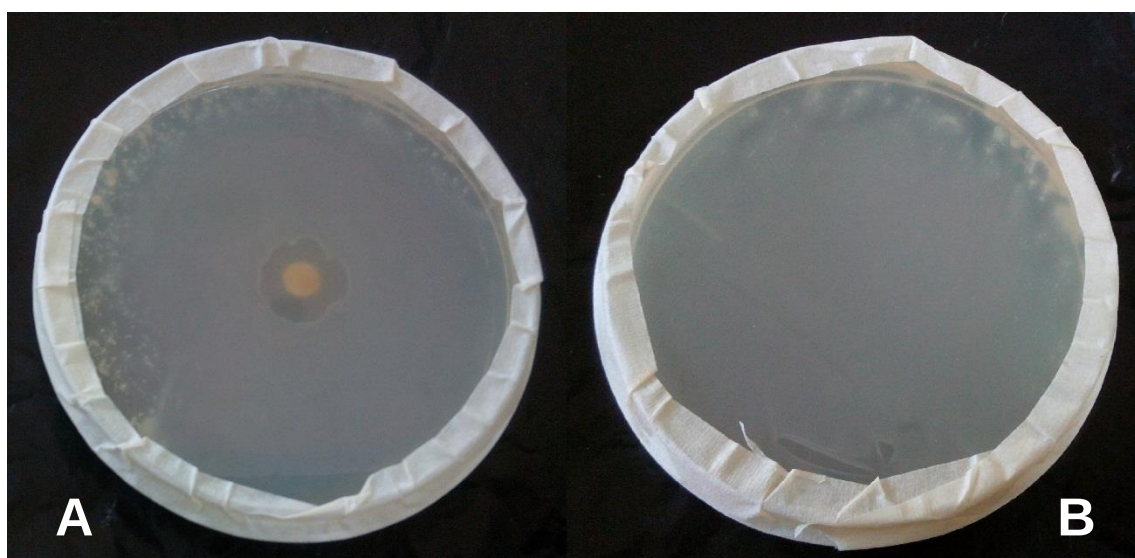


Figura 1. Actividad antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Nigrospora* sp. A: efecto antifúngico del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre el microorganismo inoculado, B: control.

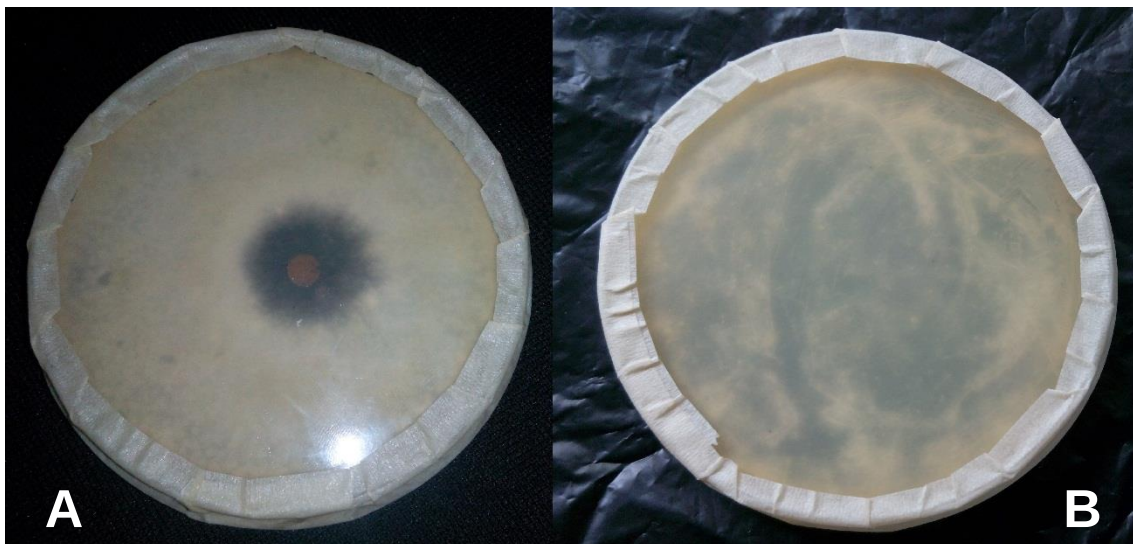


Figura 2. Actividad antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Fusarium* sp. A: efecto antifúngico del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre el microorganismo inoculado, B: control.

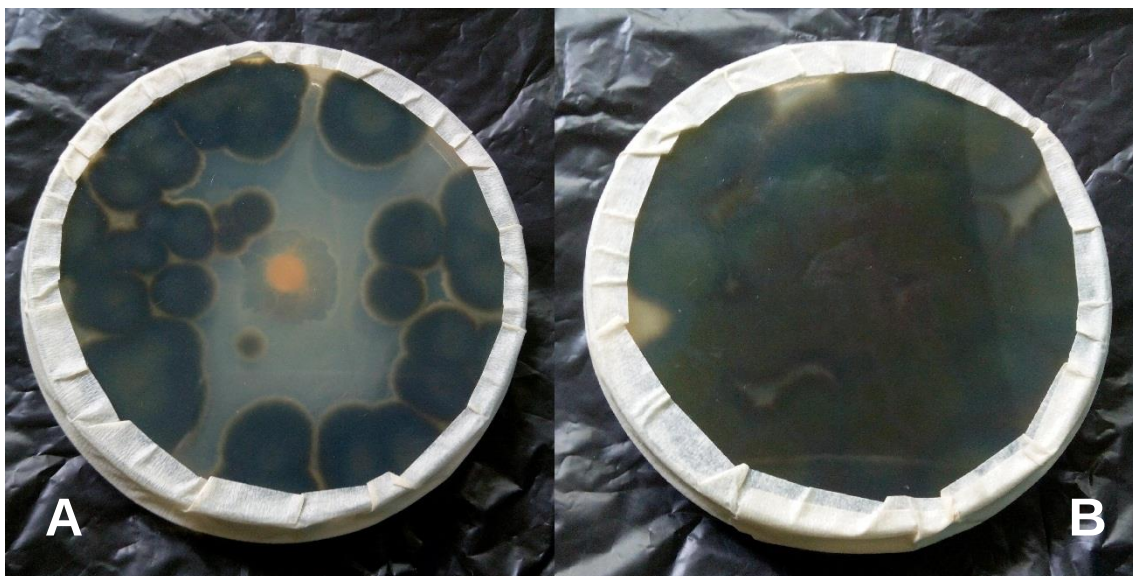


Figura 3. Actividad antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Curvularia* sp. A: efecto antifúngico del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre el microorganismo inoculado, B: control.

Barrera y García (2008), demostraron que los aceites esenciales de *C. zeylanium*, *S. aromaticum* y *T. vulgaris*, presentaron actividad antifúngica sobre la cepa de *Fusarium* sp. la cual obtuvo valores de crecimiento micelial de 0 a 36 mm de diámetro, comparados con el control. Por otro lado, Seetha y Naidu

(2010) inocularon tomates y frutos de grosella con esporas de cepas de *Aspergillus*, *Mucor*, y *Rhizopus* por el método de punción, tanto antes como después del tratamiento con aceite esencial de clavo de olor, eucalipto y limón; de los tres aceites esenciales probados, el del clavo de olor mostró considerablemente más actividad antifúngica frente a las cepas evaluadas. Moura *et al.* (2012), trabajaron con los aceites esenciales de *Cinnamomum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum* y *Origanum vulgare*, los cuales resultaron ser efectivos contra cepas de *Candida tropicalis* con halos de inhibición mayores a 39 mm. Por su parte, estudios realizados por Valdés *et al.* (2016), demostraron que el extracto de *S. aromaticum* presentó actividad antifúngica contra los géneros de *Aspergillus* y *Penicillium*.

En la tabla 3 se describen los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto crudo de *S. aromaticum* sobre los diferentes géneros aislados. El extracto crudo de *S. aromaticum* inhibió el crecimiento de *Nigrospora* sp. a una concentración de 4,69 mg/ml, mientras que para *Curvularia* sp. la CMI fue de 9,37 mg/ml y para *Fusarium* sp. de 18,75 mg/ml. La mayor actividad del extracto crudo de *S. aromaticum* se pudo observar sobre *Nigrospora* sp., ya que requirió de una concentración menor en comparación con los otros géneros evaluados en esta investigación.

Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Nigrospora* sp., *Curvularia* sp. y *Fusarium* sp.

Microorganismo	Concentración mínima inhibitoria (mg/ml)					
	75	37,5	18,75	9,37	4,69	2,34
<i>Nigrospora</i> sp.	-	-	-	-	-	+
<i>Curvularia</i> sp.	-	-	-	-	+	+
<i>Fusarium</i> sp.	-	-	-	+	+	+

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

Kumar *et al.* (2010), al ensayar con el extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* y *Allium sativum* obtuvieron una CMI de 20 mg/ml sobre *Aspergillus flavus* y *Penicillium oxalicum*. Así mismo, Armas *et al.* (2011) demostraron que los aceites esenciales de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y canela

(*Cinnamomum zeylanicum*) obtuvieron una CMI de 0,05, 0,10 y 0,20 µg/ml inhibiendo el crecimiento de microorganismos como *Aspergillus flavus*. Por otro lado, Cáceres *et al.* (2014), probaron la actividad de tres extractos acuosos sobre diferentes especies, tales como, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*, donde el extracto acuoso de *S. aromaticum* presentó CMI a 800 ppm para todos los hongos en estudio.

El efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto crudo de *S. aromaticum* sobre los hongos aislados se muestra en la tabla 4, indicando un mayor halo de inhibición para *Nigrospora* sp. de 14,7 mm, seguido de *Curvularia* sp. y *Fusarium* sp. con halos de inhibición promedio de 14,3 mm y 11,5 mm, respectivamente; comprobándose, nuevamente, que *Nigrospora* sp. es el género en estudio más sensible al extracto de *S. aromaticum*.

Tabla 4. Actividad antifúngica de los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum*.

Extracto	Microorganismo	Halos de inhibición promedio (mm)
<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Nigrospora</i> sp.	14,7
	<i>Curvularia</i> sp.	14,3
	<i>Fusarium</i> sp.	11,5

mm: milímetro

En las figuras 4, 5 y 6 se observan los halos producidos por los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum*, donde se puede notar que estos componentes volátiles actuaron como sustancia antifúngica sobre el crecimiento de *Nigrospora* sp., *Curvularia* sp. y *Fusarium* sp.

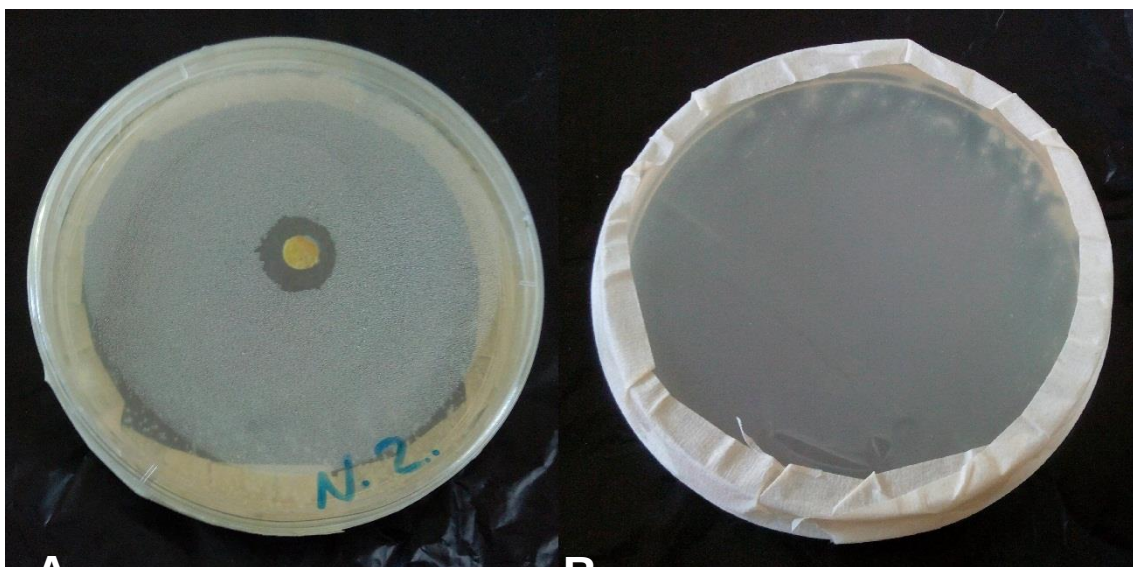


Figura 4. Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Nigrospora* sp. A: acción antifúngica de los componentes volátiles de *S. aromaticum*, B: control.

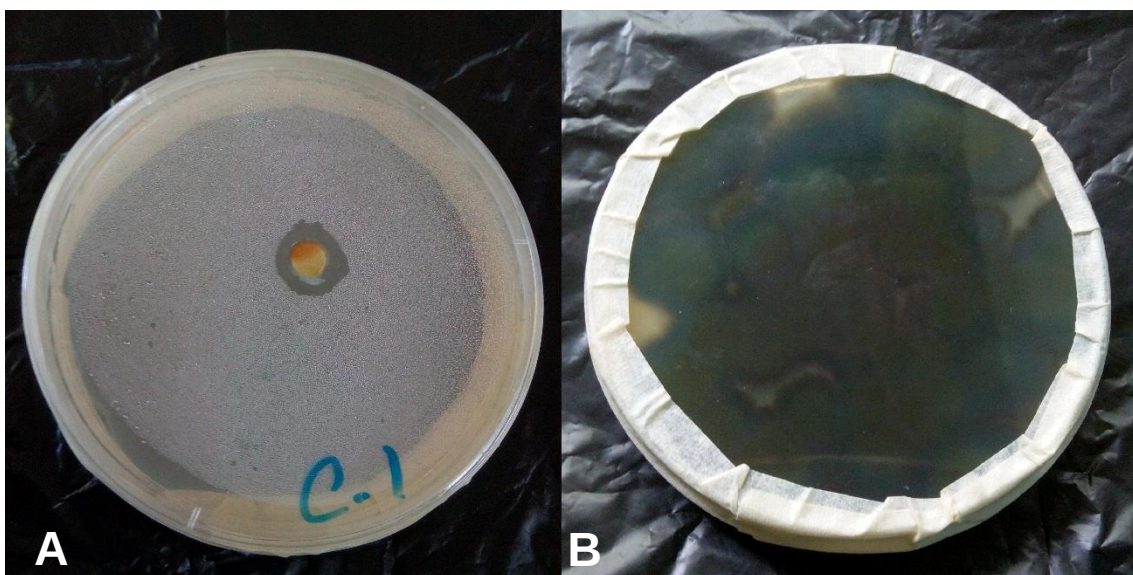


Figura 5. Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Curvularia* sp. A: acción antifúngica de los componentes volátiles de *S. aromaticum*, B: control.

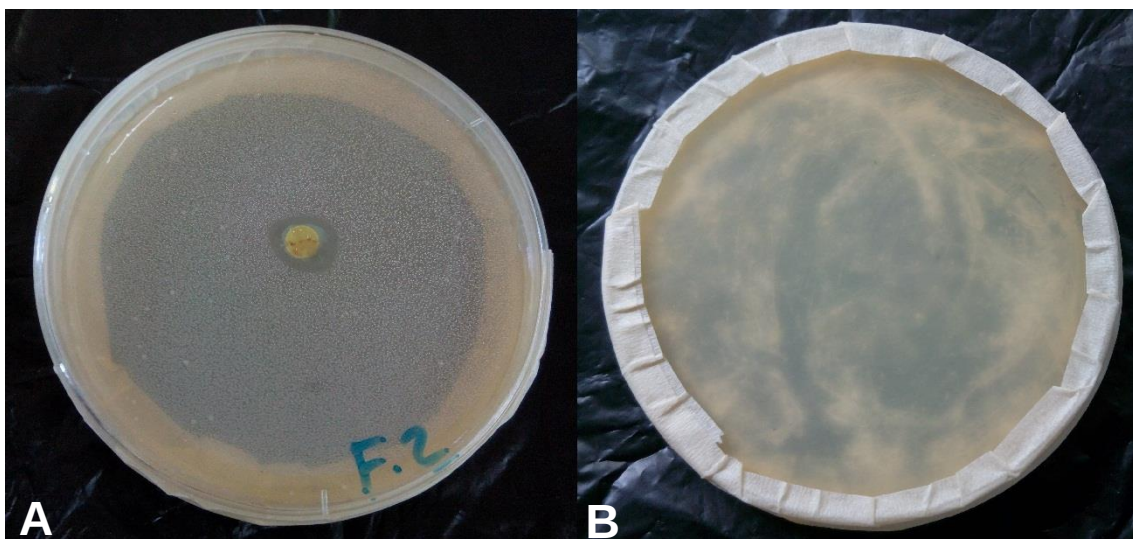


Figura 6. Efecto inhibitorio de los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum* sobre *Fusarium* sp. A: acción antifúngica de los componentes volátiles de *S. aromaticum*, B: control.

Al respecto, López *et al.* (2005) compararon que la efectividad de los compuestos volátiles de varios aceites esenciales, entre ellos el del clavo de olor *S. aromaticum*, tienen buena actividad para inhibir a *P. islandicum* y *A. flavus*. Por su parte, Camacho *et al.* (2016) evaluaron la actividad antifúngica por contacto de vapor de timol, eugenol (compuesto mayoritario del clavo de olor) y cinamaldehído, adicionados a películas comestibles de almidón en *Rhizopus* spp., donde el eugenol resultó tener un buen efecto fungistático a 400 ppm, impidiendo, en su totalidad, el desarrollo radial del hongo. Por otro lado, Aguilar *et al.* (2015), probaron el efecto antifúngico de los componentes volátiles de aceites esenciales de clavo y mostaza sobre *Botrytis cinerea* en fresa, donde el aceite esencial del clavo resultó ser efectivo, inhibiendo el crecimiento del hongo.

La actividad antifúngica del extracto de *S. aromaticum*, puede estar relacionada por el gran porcentaje de eugenol, un compuesto fenólico del clavo de olor. Los componentes principales del extracto pueden estar enlazados a iones y moléculas de otras células. Se ha reportado que los antifúngicos naturales

provocan daños a la membrana celular de las células expuestas a ellos, dejándolas extremadamente solubles y con fracturas considerables que acaban con exponer el contenido celular, e incluso el núcleo (Costa *et al.*, 2011).

Los compuestos volátiles generados por los aceites esenciales atacan al ciclo de vida de algunos mohos en la etapa de germinación, en el crecimiento de la hifa y en la etapa de esporulación; la inactivación del conidio presente en el aire por los vapores de aceites esenciales es el proceso clave de la inhibición, dado que el conidio (suspendido en el aire) es estable al calor, la luz y a los compuestos químicos, siendo muy difícil de eliminar (Reyes *et al.*, 2012).

Los vapores generados por aceites esenciales tienen mayor efecto antimicrobiano que el contacto directo, esto ha tenido especial impacto contra mohos, ya que, debido a su crecimiento superficial, ellos son más susceptibles a estos vapores. La generación de vapores de aceites esenciales se basa en la creación de una atmósfera a una cierta temperatura, o un microambiente dado por los propios aceites. Se ha demostrado que los principales componentes volátiles de estos aceites derivan de un grupo de terpenoides, sesquiterpenos y diterpenos, los cuales, a su vez, contienen diferentes grupos de hidrocarburos, ácidos, alcoholes, aldehídos, ésteres, éteres y cetonas. Por lo tanto, de acuerdo al grupo químico funcional de cada aceite esencial, se derivan sus componentes principales (Reyes *et al.*, 2012).

Se ha demostrado que los aceites esenciales y sus componentes tienen un efecto fungicida, son inocuos para el medio ambiente y para los consumidores. Sin embargo, es importante tener en cuenta que, para obtener aceites esenciales de composición constante, tienen que ser extraídos en las mismas condiciones que la planta, del mismo órgano de la planta que ha estado creciendo en el mismo suelo, bajo el mismo clima y ha sido escogida en la misma temporada, de lo contrario los aceites esenciales pueden presentar

cambios, modificándose las proporciones de los metabolitos o transformándose unos en otros (Bakkali *et al.*, 2008; Barrera y García, 2008).

Las evidencias experimentales disponibles hasta los momentos sugieren que los componentes principales de los aceites esenciales muestran actividades antimicrobianas debido a muchos factores, tales como: la inhibición de la biosíntesis de la pared celular, la función de la membrana y actividades enzimáticas específicas. Estudios a concentraciones letales de aceites esenciales, demuestran que los mismos perturban la membrana celular. Sin embargo, a concentraciones más altas, pero sub-letales, actúan como un inhibidor de ATPasa, entrando en el periplasma e inhibiendo su actividad, y en niveles muy bajos, pueden inhibir las enzimas que están involucradas en la interacción de las citoquinas (Shreaz *et al.*, 2016)

Las propiedades biológicas de los aceites esenciales están directamente relacionadas con su composición química. Las actividades antibacterianas y antifúngicas se deben a ciertos terpenoides y compuestos fenólicos; los fenoles son inhibidores del crecimiento, dependiendo de su estructura química, razón por la cual los aceites esenciales con alto contenido de fenoles presentan elevada actividad antimicrobiana (Bakkali *et al.*, 2008).

La acción antifúngica del extracto crudo de *Syzygium aromaticum*, probablemente, se deba a su constituyente mayoritario, el eugenol, en combinación con los demás componentes de este extracto, cuyo mecanismo de acción puede estar relacionado con la capacidad de alterar y penetrar estructuras lipídicas de la pared celular, provocando lisis y, eventualmente, la muerte de los hongos evaluados en este estudio. Se pudo observar, que el extracto logró cumplir su acción de inhibición tanto por contacto directo como a través de sus componentes volátiles. Se puede considerar entonces, que el extracto crudo de *S. aromaticum* puede ser utilizado como un antifúngico natural.

CONCLUSIONES

El género fúngico mayormente aislado del área de oncología del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” fue *Nigrospora* sp., seguido de *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp.

El extracto crudo de *Syzygium aromaticum*, evidenció una marcada actividad antifúngica sobre *Nigrospora* sp., *Curvularia* sp. y *Fusarium* sp.

El extracto crudo de *Syzygium aromaticum* mostró actividad antifúngica a distintas concentraciones contra *Nigrospora* sp., *Curvularia* sp. y *Fusarium* sp.

Los componentes volátiles del extracto de *Syzygium aromaticum* demostraron poseer actividad inhibitoria sobre los hongos en estudio.

RECOMENDACIONES

Continuar el estudio, probando la actividad antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* contra hongos patógenos en humanos y animales.

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

Comprobar la actividad antifúngica de otros extractos naturales, tanto *in vitro* como *in vivo*.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilar, A. y López, 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.

Aguilar, A.; Palou, E. y López, A. 2015. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 32: 181-185.

Aguirre, K. 2016. Estudio de la aerobiología de hongos filamentosos en un hospital de cuarto nivel en Bogotá Colombia. Trabajo de pregrado. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Alma, M.; Ertas, M.; Nitz, S. y Kollmannsberger, H. 2007. Chemical composition of content of essential oil from the bud of cultivated turkish clove. *BioResources*, 2 (2): 265-269.

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

Arenas, R. 2011. *Micología Médica ilustrada*. Cuarta edición. McGraw-Hill. México.

Armas, C.; Márquez, L. y Pretell, C. 2011. Efecto del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su combinación sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz (*Zea mays* L.), variedad morado. *Pueblo continente* 22 (1): 123-132.

Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D. y Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils-a review. *Food and chemical toxicology*, 46: 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.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food-a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-253.

Camacho, J.; Avila, R.; Navarro, A.; Dávila, R. y Vera, D. 2016. Actividad antifúngica por contacto de vapor de antimicrobianos de origen natural adicionados a películas comestibles de almidón en *Rhizopus* spp. *Investigacion y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1: 286-290.

Cantón, E.; Viudes, A. y Peman, J. 2001. Infección sistémica nosocomial por levaduras. *Revista Iberoamericana de Micología*, 18: 51-55.

Cáceres, I.; Colorado, R.; Salas, E.; Muños, L. y Hernández, L. 2014. Actividad Antifúngica *in vitro* de Extractos Acuosa de Especies contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31 (2): 105-112.

Carrera, Y. 2011. Actividad antifúngica y antitoxigénica de extractos de toronjil (*Melissa officinalis*) sobre *Aspergillus flavus*. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná, estado Sucre.

Celis, C. 2007. Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de *Lippia alba*, *Lippia origanoides* y *Phyla (Lippia) dulcis*, especies de la familia *Verbenaceae*. Trabajo de pregrado. Facultad de ciencias, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

Centeno, S. y Carrera, Y. 2013. Actividad antifúngica y antitoxigénica de extractos de *Melissa officinalis* (Lamiaceae) sobre *Aspergillus flavus*. SABER. *Revista multidisciplinaria de investigación de la Universidad de Oriente*, 25 (2): 185-191.

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

Costa, A.; Amaral, M.; Martins, P.; Paula, J.; Fiuza, T.; Tresvenzol, L.; Paula, J. y Bara, M. 2011. Action of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry essential oil on the hyphae of some phytopathogenic fungi. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 13 (2): 240-245

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.

Eslaminejad, P.; Maziah, Z. y Eslaminejad, T. 2012. Anti-fungal activity of cold and hot water extracts of spices against fungal pathogens of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) *in vitro*. *Microbial Pathogenesis* 52: 125-129.

Furci, G. 2007. *Fungi Austral*. Primera edición. Corporación chilena de la madera. Chile.

Kumar, R.; Jain, P. y Sharma, C. 2010. Antimicrobial activity of ethanolic extracts of *Syzygium aromaticum* and *Allium sativum* against food associated bacteria and fungi. *Ethnobotanical Leaflets*, 14: 344-60.

López, P.; Sánchez, C.; Batle, R. y Nerín, C. 2005. Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 6939- 6946.

Machado, M.; Dinis, A.; Salgueiro, L.; Custodio, J.; Cavaleiro, C. y Sousa, M. 2011. Anti-Giardia activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and eugenol: Effects on growth, viability, adherence and ultrastructure. *Experimental Parasitology*, 127: 732-739.

Magro, A.; Carolino, M.; Bastos, M. y Mexia, A. 2006. Efficacy of plant extracts against stored products fungi. *Revista Iberoamericana de Micología*, 23: 176-178.

Márquez, R.; De la Rosa, C. y Mercado, A. 2007. Actividad antifúngica del extracto total en etanol de las hojas frescas de *Pedilanthus tithymaloides* (ultimorrial). *Scientia Et Technica*, XIII (33): 155-159.

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.

Omidbeygi, M.; Barzegar, M.; Hamidi, Z. y Nafhdibadi, H. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against food associated bacteria and fungi. *Ethnobotany leaflets*, 14: 344-360.

Özcan, M.; Fahad, Y. y Juhaimi, A. 2011. Antioxidant and antifungal activity of some aromatic plant extracts. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 1361-1366.

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: 2169-1277.

Rasooli, I.; Hadi, M.; Yadegarina, D.; Gachkar, L.; Allameh, A. y Bagher, M. 2008. Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum capsicum* 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 kotschyanus* and *Thymus persicus*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51: 2200-2205.
- Reyes, F.; Palou, E. y López, A. 2012. Vapores de aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6 (1): 29-39.
- Ridell, R. 1950. Permanent stained mycology preparation obtained by lied culture. *Mycology*. 42: 265-270.
- 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 powder. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (1): 80-475.
- Salazar, K. 2012. Aislamiento e identificación de hongos filamentosos en medio de cultivo agar harina de castaña, en áreas críticas, del hospital “Dr. Santos Aníbal Dominicci”, Carúpano, estado Sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná, estado Sucre.
- Samson, R.; Hoekstra, S.; Frisvad, J. y Filtenborg, O. 1995. *Introduction to food-borne fungi*. Central Boreauvoor Schimmel Cultures. Holanda.
- Seetha, B. y Naidu, K. 2010. Antimicrobial efficacy of essential oil *Syzygium aromaticum* against common infectants of storage cereals and fruits. *Journal of Pharmacy Research*, 3 (10): 2544-2545.
- Sharma, N. y Tripathi, A. 2006. Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on post-harvest pathogen. *Microbiology and Biotechnology*, 22: 587-593.
- Shreaz, S.; Wani, W.; Behbehani, J.; Raja, V.; Irshad, M.; Karched, M.; Ali, I.; Siddiqi, W. y Hun, L. 2016. Cinnamaldehyde and its derivatives, a novel class of antifungal agents. *Fitoterapia*, 112: 116-131.
- Singh, J.; Baghotia, A. y Goel, S. 2012. *Eugenia caryophyllata* Thunberg (family Myrtaceae): A Review. *International Journal of Research in pharmaceutical and Biomedical sciences*, 3 (4): 1469-1475.
- Soriano, J. 2007. *Micotoxinas en alimentos*. Editorial Dias de Santos, S.A. Madrid, España.
- Sutton, S. 2010. The environmental monitoring program in a GMP enviroment. *Journal of GXP Compilance*, 14 (3):22-30.
- Tapia, C. y Amaro, J. 2014. Género *Fusarium*. *Revista Chilena de Infectología*, 31 (1): 85-86.

Valdés, O.; Borrego, S.; Vivar, I.; Anaya, M. y Molina, A. 2016. Actividad antifúngica del aceite esencial de clavo de olor en el control del biodeterioro fúngico de documentos. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas*

HOJAS DE METADATOS

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

Título	EVALUACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO CRUDO DE <i>Syzygium aromaticum</i> CONTRA ESPECIES DE HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS DEL ÁREA DE ONCOLOGÍA DEL SERVICIO AUTÓNOMO HOSPITAL UNIVERSITARIO “ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ”, CUMANÁ, ESTADO SUCRE.
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Alexandra José Ocque Carrasquel	CVLAC	25281980
	e-mail	ocquealexandra@gmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

<i>Syzygium aromaticum</i>
Antimicótico

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

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

En el presente estudio se evaluó el 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, para lo cual se tomaron 66 muestras ambientales en zonas internas del área de oncología del hospital, estas muestras fueron sembradas en placas con agar papa dextrosa para su aislamiento e identificación. Se prepararon suspensiones de conidios de los microorganismos aislados, siguiendo la metodología de Rasooli *et al.* (2008), y el extracto etanólico de *S. aromaticum* siguiendo la metodología pautada por Bluma *et al.* (2008). Posteriormente, al extracto se le determinó la actividad antifúngica por el método de difusión en agar, la concentración mínima inhibitoria (CMI) a los hongos que presentaron halos de inhibición y, por último, la actividad antifúngica por volatilización de los componentes. El hongo mayormente aislado fue *Nigrospora* sp., seguido de *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp. Los resultados obtenidos de la actividad antifúngica del extracto de *S. aromaticum* se establecieron al observar cualquier halo de inhibición en el crecimiento fúngico, donde *Nigrospora* sp., *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp. obtuvieron halos de inhibición promedios de 18,1 mm, 17,3 mm y 15,7 mm de diámetro, respectivamente. La CMI del extracto fue de 4,69 mg/ml para *Nigrospora* sp., de 9,37 mg/ml para *Curvularia* sp. y de 18,75 para *Fusarium* sp. Al evaluar la actividad antifúngica por volatilización de los componentes del extracto de *S. aromaticum*, se pudo observar un halo promedio de inhibición para *Nigrospora* sp. de 14,7 mm, para *Curvularia* sp. de 14,3 mm y para *Fusarium* sp. de 11,5 mm. Se concluyó que el género *Nigrospora* sp. fue el hongo mayormente aislado, de igual forma, se pudo evidenciar que el extracto de *S. aromaticum* y sus componentes volátiles poseen actividad antifúngica sobre las especies estudiadas.

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

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Salazar, Luz	ROL	C ☐ A ☒ T ☐ J ☐ A ☐ S ☐ U ☐ U ☐
	CVLAC	colocar Nro de cedula del Asesor
	e-mail	colocar e-mail del Asesor
	e-mail	
Albarado, Luzmila	ROL	C ☐ A ☐ T ☐ J ☒ A ☐ S ☐ U ☐ U ☐
	CVLAC	colocar Nro de cedula del Jurado
	e-mail	colocar e-mail del Jurado
	e-mail	
Parra, Evis	ROL	C ☐ A ☐ T ☐ J ☒ A ☐ S ☐ U ☐ U ☐
	CVLAC	colocar Nro de cedula del Jurado
	e-mail	colocar e-mail del Jurado
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

Colocar fecha de discusión y aprobación:

2018	10	29
------	----	----

Lenguaje: SPA _____

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

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS_OcqueAlex.doc	Aplication/Word.doc

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

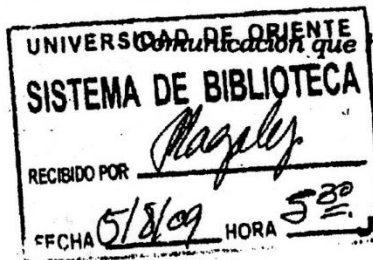
Cumaná, 04 AGO 2009

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. BOLANOS CUAPELO
Secretario

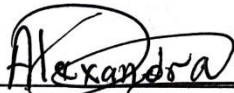


C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación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

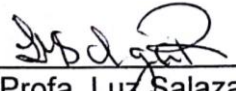
JABC/YGC/manuja

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”.



Alexandra Ocque
Autor



Profa. Luz Salazar
Asesora