

Póster: micología



Actividad Antifúngica del Extracto Acetónico de flores de *Calendula officinalis* L. sobre especies de *Candida albicans* aisladas de la cavidad bucal de pacientes con Diabetes Mellitus Tipo II

Rangel Ávila María Alejandra¹, Varela Rangel Yasmin Yinec^{1,2}, Elaysa Salas Osorio¹, José Manuel Jiménez Medina¹

- Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Microbiológicas "Dra. Celina Araujo de Pérez" del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes
- Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, 5101 Mérida, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

El empleo de plantas medicinales es una costumbre que se ha mantenido hasta nuestros días principalmente en poblaciones rurales, lo que ha permitido recopilar un amplio conocimiento etno-farmacológico constituyendo el punto de partida para investigaciones dirigidas en la búsqueda de moléculas activas con efectos terapéuticos y antimicrobianos^(1,2). A lo largo de la historia se ha descrito el empleo empírico de *Calendula officinalis* L. para el tratamiento de diversas afecciones del hombre como respuesta a la falta de accesibilidad a los tratamientos médicos tradicionales y a los elevados costos de los mismos, de hecho, existen diversos estudios tanto en modelos murinos (ratas y hamsters) como modelos clínicos que validan las propiedades terapéuticas de los extractos de esta planta tales como: propiedades antiinflamatorias^(3,4), regeneración de tejido bajo el empleo como tratamiento tópico para mejorar la cicatrización de úlceras en pacientes diabéticos⁽⁵⁾, en el tratamiento y cicatrización de lesiones bucales post-extracción dental (Uribe et al., 2016), como tratamiento antibacteriano en piel y mucosas contra *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, bacterias periodontopatógenas y como antifúngico contra *Candida albicans*⁽⁶⁻⁸⁾.



La candidiasis bucal es una enfermedad infecciosa ocasionada por el crecimiento y penetración de microorganismos fúngicos pertenecientes al género *Candida* en los tejidos bucales, cuando las barreras físicas y las defensas del hospedero se encuentran alteradas, constituyendo la afección micótica bucal más frecuente⁽⁹⁾. La incidencia de candidiasis bucal en pacientes con Diabetes Mellitus ha sido reconocida por diversos autores cuyas investigaciones reflejan una clara relación entre la alteración de la salud bucal y la aparición de *Candida*, debido a que las condiciones fisiológicas de estos pacientes favorecen el desarrollo de especies de *Candida*⁽¹⁰⁾. Estudios in vitro con 50 pacientes diabéticos, demostró un incremento significativo en la adhesión de *Candida albicans*, respecto a 50 pacientes control no diabéticos divididos por edad, género y estado dental⁽¹¹⁾. Los efectos adversos de algunos antimicrobianos empleados en la terapia antifúngica han conllevado a la necesidad de buscar alternativas de prevención y tratamiento que sean efectivas, siendo los extractos de plantas la principal alternativa con resultados favorables en la disminución de los microorganismos en la mucosa bucal. Los estudios de diversas terapias antifúngicas naturales en pacientes diabéticos con candidiasis bucal son alentadores y promisorios. En este sentido, la evaluación de la actividad antifúngica del extracto, acetónico de flores de *Calendula officinalis* podría representar una opción para el tratamiento antimicrobiano alternativo o coadyuvante contra *Candida albicans* en pacientes con DM tipo 2.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Cepas de *Candida albicans* a estudiar



Cepa control: *Candida albicans* CVCM 386

Colección de levaduras: Copia del proyecto "Candidiasis Bucal: aspectos clínicos, epidemiológicos y microbiológicos" del Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Microbiológicas "Dra. Celina Araujo de Pérez" del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes.

Codificación de las cepas
35, 27L1a, 13L2a, 16 Rca, 33L1a, 29, 02, 47, 23L, 07E y 55

2. Extracto acetónico de flores de *Calendula officinalis* L.



Obtenidos en 2015, durante el desarrollo del Trabajo especial de Grado titulado "Actividad antibacteriana de extractos de flores de *Calendula Officinalis* L. sobre *Streptococcus mutans* CVCM 656 y *Lactobacillus acidophilus* CVCM 616" por las Odontólogas Graymar Soto y Aury Sánchez⁽¹²⁾. Los extractos se mantuvieron conservados a temperatura ambiente en envases color ámbar hasta su utilización.

3. Evaluación de la actividad antifúngica

a) CEPAS DE *Candida albicans*

Las cepas fueron desonguladas progresivamente hasta alcanzar temperatura ambiente posteriormente, se inocularon 20 µL en agar Sabouraud Dextrosa, y se incubaron durante 24 horas a 35 °C en aerobiosis se verificó pureza



b) Preparación de las concentraciones a evaluar: 50µg/mL y 100µg/mL del extracto acetónico

Se preparó una dilución 1:10 pesando 1000µg (10mg) de cada extracto a ensayar y diluyéndolo en un tubo de ensayo que contiene 10 mL Dimetil sulfoxido (DMSO), obteniendo una solución Stock equivalente a 100µg/mL de concentración



c) Preparación del Inoculo

Las placas fueron inoculadas con 8 µL de la suspensión equivalente a 0,5 McFarland de cada unidad fúngica sobre la superficie del agar.

d) Inoculación de las placas

Se permitió la absorción y se incubaron a 35 °C durante 24 a 72 horas

d) Determinación de la actividad antifúngica de los extractos

Se determinó observando la presencia o ausencia de crecimiento fúngico a las concentraciones evaluadas durante tres intervalos de tiempo de incubación 24 horas, 48 y 72 horas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

| CEPA | EXTRACTO ACETÓNICO | | | | | |
|-------|--------------------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
| | 24 horas | | 48 horas | | 72 horas | |
| | 100 µg/mL | 50 µg/mL | 100 µg/mL | 50 µg/mL | 100 µg/mL | 50 µg/mL |
| CVCM* | - | + | - | + | - | + |
| 35 | - | + | - | + | - | + |
| 27L1a | - | -/+ | - | + | - | + |
| 13L2a | - | - | - | -/+ | - | -/+ |
| 16Rca | - | + | - | + | - | + |
| 33L1a | -/+ | + | - | + | - | + |
| 29 | - | + | - | + | - | + |
| 02 | - | + | - | + | - | + |
| 47 | - | + | - | + | - | + |
| 23L | - | + | -/+ | + | -/+ | + |
| 07E | - | + | - | + | - | + |
| 55 | - | + | - | + | - | + |



El extracto acetónico empleado en este trabajo en concentraciones de 100 µg/ml y 50 µg/ml mediante la técnica de dilución en agar demostraron actividad biológica in vitro de tipo antifúngica, donde a mayor concentración se evidenció un efecto fungicida y a menor un efecto fungistático, siendo concordante con estudios realizados por otros investigadores⁽¹³⁾, tanto en microorganismos bacterianos como en *Candida albicans*, demostrando efectos inhibitorios a diversas concentraciones mediante la técnica de difusión en disco. Las evaluaciones de extractos acuosos y aceites esenciales de *Calendula officinalis* L han demostrado actividad antifúngica⁽¹³⁾. En este sentido la evaluación in vitro constituye un pilar fundamental que dirige las investigaciones de nuevas opciones terapéuticas antifúngicas, donde la evaluación de concentraciones intermedias y determinación de concentraciones terapéuticas son necesarias.

Entre los principales constituyentes de los extractos *Calendula officinalis* L se han descrito la presencia de flavonoides, polisacáridos, saponinas, triptenatos, ácidos fenólicos, cumarinas y taninos⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Los extractos evaluados en este estudio revelan como componente más predominante sesquiterpenos tales como Delta cadineno (8.81 %) seguido del alfa amorfeno (9.62 %) y la Oplopanoa (5.54 %), cuyo mecanismo antifúngico no se ha esclarecido aun, no obstante, trabajos como este muestran líneas de investigaciones futuras en pro del desarrollo de nuevas moléculas con actividad antifúngica.

CONCLUSIÓN

Los resultados microbiológicos obtenidos son promisorios, ya que permitieron evaluar la actividad antifúngica del extracto sobre una colección de cepas provenientes de infecciones de cavidad bucal en pacientes diabéticos tipo 2, esta evaluación in vitro nos permite recomendar seguir realizando investigación en el área de productos naturales, con moléculas puras que permitan determinar si la actividad antifúngica del extracto se debe a un sinergismo de moléculas o a moléculas particulares, lo que pudiera ser sugerido como tratamiento alternativo coadyuvante o de primera línea para la candidiasis bucal.

BIBLIOGRAFÍA

- Mesa C, Bueno J, Betancur L. Productos naturales con actividad antimicótica. Rev Esp Quimioter, 2004; 17(4): 325-331.
- Soto G, Sánchez A. Actividad antibacteriana de extractos de flores de *Calendula Officinalis* L. sobre *Streptococcus mutans* CVCM 656 y *Lactobacillus acidophilus* CVCM 610. Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología, Mérida, Venezuela; 2015.
- Ara A, Nishan U, Perez M, et al. Structural and biochemical alterations during the healing process of tendons treated with Aloe vera. Life Sci Alliance. 2012; 9(17-18):885-893. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2012.09.002>
- Buzzi M, Freitas F, Winter M. A prospective, descriptive study to assess the clinical benefits of using *Calendula officinalis* hydroglycolic extract for the topical treatment of diabetic foot ulcers. Ostomy Wound Manage. 2016; 62(3): 8-24.
- Guzim Z, Moraes C, Fraga S, Estroval T, et al. Antifungal activity of the essential oil from *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) growing in Brazil. Braz J Microbiol. 2009; 39(1): 61-63. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-8382200800100015>
- Molina F, Majewski M, Perrella F, Oliveira L, et al. *Propolis*, salvia, calendula e mamoná-actividad antifungal activity of natural extracts on *Candida albicans* strains. Rev. Odontol. Cenc. 2008; 11(2): 96-93.
- Muley B, Khadabadi S, Banasara N. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* Linn (Asteraceae): A Review. Trop. J. Pharm. Res 2009; 8(6): 455-466.
- Faria R, Cardoso M, Akisue G, Pereira C, et al. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis*, *Camellia sinensis* and chlorhexidine against the adherence of microorganisms to sutures after extraction of unerupted third molars. J Appl Oral Sci, 2011; 19(5): 476-482.
- Otero R, Peñaranda M, Rodríguez M, et al. (2015). Candidiasis oral en el paciente mayor. Av. Odontostomatol. 2015; 31(3): 136-148.
- Torrealba B, Vielma E, Salas E, et al. Especies de *Candida* asociadas a lesiones bucales en pacientes con diabetes tipo 2. RSVM. 2016; 36(2): 58-62.
- Ei Alast Z, Astour A, & Kerri A. Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts. Pak J Med Sci. 2005; 21(2): 187-193.
- Guzim Z, Moraes C, Fraga S, et al. Antifungal activity of the essential oil from *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) growing in Brazil. Braz J Microbiol. 2008; 39(1): 61-63. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-8382200800100015>
- Milán P, Seife J, Morales R, Vázquez L, et al. *Calendula officinalis* L. en el tratamiento tópico de la candidiasis vaginal recurrente. BLACFPA. 2010; 9(5): 343-352
- Gorito M. Aspectos químicos y bioactivos de tres matrices naturales: *Calendula officinalis* L., *Mentha cervina* L. y *Macrolepiota procera* (Scop.). [Tesis de Maestría]. Instituto Politécnico Bragança, Bragança, Portugal; 2015.

Póster: micología



AGENTES FÚNGICOS AISLADOS DE INTERÉS MÉDICO EN ARENA DE LAS CANCHAS DE BEACH TENIS DE PLAYA DE CIUDAD BOLIVAR-ESTADO BOLIVAR

Cruz González^{1,2}, María Vanessa Medrano¹, Wilines Pérez¹, Iván Amaya^{1,2}

¹Departamento de Parasitología y Microbiología, Escuela de Ciencias de la Salud, UDO-Bolívar.
²Laboratorio 42 Centro Especializado de Investigación Clínica, Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela.
iamaya@udo.edu.ve



Introducción

En Venezuela se ha incrementado las actividades recientemente al aire libre tanto de esparcimiento como deportivas, destacando el tenis de playa, estableciéndose en muchas ciudades del país canchas incluso en ciudades que no tienen playas, de esto surge la preocupación sobre las condiciones de higiene, en especial microorganismos dañinos para la salud de los deportistas y público en general

Objetivo

Con el propósito de esclarecer esta situación surge el siguiente trabajo donde buscaron agentes fúngicos de interés médico en muestras de arena de canchas de tenis de playa en Ciudad Bolívar - estado Bolívar.

Metodología

La recolección de las muestras se realizó en un solo periodo seco, 26 muestras en total fueron recolectadas, para obtener hongos geofílicos/queratinofílicos se utilizó la técnica del anzuelo de queratina de Vanbreuseghem, siembra en agar Mycosel + Clorofenicol y posteriormente microcultivos de los cuales se tomaron colonias y se usaron técnicas de microscopía, así como el análisis de las características macroscópicas de las colonias para su identificación.

Resultados

Se pudieron aislar hongos en 20 de las 26 muestras estudiadas, el principal género aislado *Aspergillus* en 14 de las 26 muestras, aislándose en todos los establecimientos. Se realizó el aislamiento del dermatofito *Trichophyton rubrum* en una de las muestras, siendo este establecimiento donde se observó la presencia de algunas animales mascotas, mayor vegetación y sombra. Además, se identificaron otros géneros: *Mucor* y *Fusarium*.

Conclusiones

Se verificó la presencia de hongos tanto anemófilos como queratinofílicos en las muestras de arena de las canchas estudiadas, la distribución de estos agentes está determinada por las condiciones no sólo climáticas sino también de actividad humana y animal.

GÉNEROS DE AGENTES FÚNGICOS AISLADOS SEGUN ESTABLECIMIENTOS, CANCHAS DE BEACH TENIS. CIUDAD BOLIVAR, ESTADO BOLIVAR. ENERO 2023.

| ESTABLECIMIENTO | Género fúngico | | | | | | | |
|---|--------------------|-------------|--------------|------------|-----------------|------------|---------------------|------------|
| | <i>Aspergillus</i> | | <i>Mucor</i> | | <i>Fusarium</i> | | <i>Trichophyton</i> | |
|  | n | % | n | % | n | % | n | % |
| 1 | 3 | 23,1 | 1 | 33,3 | 1 | 7,7 | 0 | 0,0 |
| 2 | 3 | 23,1 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 7,7 |
| 3 | 1 | 7,7 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| Total | 7 | 53,8 | 1 | 7,7 | 1 | 7,7 | 1 | 7,7 |



Trichophyton rubrum. Anverso y reverso de placas de Petri. Cultivo en Agar Saboraud + Cloranfenicol.

Referencias bibliográficas

- Mendoza P., Torres C. 2016. Determinación y comparación de microhongos del suelo de un bosque húmedo premontano en Dagua, Valle del Cauca. *Revistasunivalle*. 20 (2): 27-35.
- Segal E., Frenkel M. 2015. Dermatophyte infections in environmental contexts. *Research in Microbiology*. 166. 564-569.
- Silverio J. 2023. El beach tennis toma auge en Bolívar y se extiende por todo el país. *Correo del Caroni*. [En línea] Disponible: <https://correodelcaroni.com/region/ciudad-guayana/el-beach-tennis-toma-auge-en-bolivar-y-se-extiende-por-todo-el-pais/> [Mayo, 2023]

Póster: micología



CONTAMINACION FUNGICA DE MUESTRAS DE LECHE MATERNA. BANCO DE LECHE COMPLEJO HOSPITALIARIO "RUIZ Y PÁEZ" CIUDAD BOLIVAR, ESTADO BOLIVAR

Cruz González^{1,2}, María Eugenia Navarrete¹, Leocelys Marcano¹, Iván Amaya^{1,2}

¹Departamento de Parasitología y Microbiología, Escuela de Ciencias de la Salud, UDO-Bolivar.
²Laboratorio 42 Centro Especializado de Investigación Clínica. Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela.
iamaya@udo.edu.ve



Introducción

Las levaduras en especial las pertenecientes al género *Candida*, forman parte de la microbiota de piel, han sido aisladas en el área del pecho femenino, específicamente a nivel del pezón. Existen mecanismos protectores, que evitan que el lactante desarrolle infecciones por estos microorganismos, sin embargo, cuando la leche materna, es extraída y almacenada como es el caso de los bancos de leche, afecta la calidad microbiológica de la misma, disminuyendo su tiempo de viabilidad además de posibilitar infecciones en los que receptores finales de esta sustancia.

AISLAMIENTO FUNGICO SEGÚN CLASIFICACIÓN DE MUESTRAS DE LECHE MATERNA. BANCO DE LECHE... CHU "RUIZ Y PAEZ PERIODO 2023

| TIPO DE MUESTRA | AISLAMIENTO FUNGICO | | | | TOTAL | |
|-----------------|---------------------|-------------|-----------|-------------|-----------|---------------|
| | SI | | NO | | n | % |
| | n | % | n | % | | |
| PRETERMINO | 0 | 0,0 | 2 | 100,0 | 2 | 4,26 |
| CALOSTRO | 4 | 30,8 | 9 | 69,2 | 13 | 27,66 |
| MADURA | 16 | 50,0 | 16 | 50,0 | 32 | 68,09 |
| TOTAL | 20 | 42,6 | 27 | 57,4 | 47 | 100,00 |

Objetivo

El objetivo del estudio fue identificar presencia de contaminación con levaduras del género *Candida* en leche materna, almacenada y procesada en el banco de leche del Complejo Hospitalario Universitario "Ruiz y Páez".

AGENTE FUNGICO EN MUESTRAS DE LECHE MATERNA. BANCO DE LECHE... CHU "RUIZ Y PAEZ PERIODO 2023

| AGENTE FUNGICO | n | % |
|--|----|------|
| <i>Pichia kudriavzevii (C. krusei)</i> | 12 | 25,5 |
| <i>Candida tropicalis</i> | 3 | 6,4 |
| <i>Candida albicans</i> | 2 | 4,3 |
| <i>Candida parasilopsis</i> | 2 | 4,3 |
| <i>Candida glabrata</i> | 1 | 2,1 |

Metodología

Se estudiaron 42 muestras de leche materna, que fueron cultivadas en Agar Micobiótico con cloranfenicol, las placas con crecimiento levaduriforme fueron resembradas en Chromoagar para *Candida*, las cepas aisladas fueron ensayadas para verificar la susceptibilidad a antifúngicos.

Conclusiones

Un hallazgo a destacar que las muestras que habían sido pasteurizadas también presentaron contaminación por levaduras, evidenciando deficiencias en los procedimientos de esterilización y conservación de la leche materna.

Resultados

Se encontró en 40% de las muestras levaduras. La especie más frecuentemente aislada fue *Pichia kudriavzevii (Candida krusei)* con 25.5% de los casos. También aislaron en menor proporción *Candida tropicalis*, *Candida albicans* y *Candida parasilopsis* con 6.4%, 4.3% y 2.1%, respectivamente.

Referencias bibliográficas

Sato K, Makimura K, Hasumi Y, Nishiyama Y, Uchida K, Yamaguchi H. 2009. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. Microbiol. Immunol. 53(1):41–44.
Scordino F, Giuffrè L, Felice MR, Orlando MG, Medici MA, Merio FM, et al. 2019. Genetic diversity of *Candida albicans* isolates recovered from hospital environments and patients with severe acquired brain injuries. Infect. Genet. Evol. 76: 7.
Shan Y, Fan S, Liu X, Li J. 2014. Prevalence of *Candida albicans*-closely related yeasts, *Candida africana* and *Candida dubliniensis*, in vulvovaginal candidiasis. Med. Mycol. 52(6): 636–640.



Cultivos diferenciales de *Candida* spp en Chromoagar



Póster: micología

HISTOPLASMOSIS DISEMINADA A LENGUA EN PACIENTE CON VIH/SIDA: REPORTE DE UN CASO

Camero Luis, Soto Lily*, Flora David*, Dolande Maribel**, Frey Juan**, Duarte Andreina**, Zambrano José***, González Cyslenit***, Brito Aubert****

* Servicio De Enfermedades Infecciosas Del Adulto, Hospital Universitario De Caracas – Universidad Central De Venezuela (UCV).

**Departamento De Micología. Instituto Nacional De Higiene Rafael Rangel, Caracas, Venezuela.

*** Patología Bucal, Facultad De Odontología, (UCV).

La histoplasmosis es una micosis oportunista en pacientes con SIDA. Generalmente, se presenta a nivel pulmonar y se observan lesiones en piel en un 10-17% de los casos. La infección se adquiere por inhalación de las microconidias encontradas en suelos húmedos contaminados con heces de aves y murciélagos, alcanzan el pulmón y luego pueden diseminarse por vía sistémica hacia otros órganos. Las lesiones cutáneas son muy polimorfas e inespecíficas, se observan con frecuencia en cara, lengua y de forma localizada o difusa. El curso de la enfermedad puede variar desde una infección aguda, hasta enfermedad crónica pulmonar o diseminada.

Caso clínico: Paciente masculino de 34 años de edad con diagnósticos médicos de infección por VIH en 2010 e histoplasmosis diseminada en 2022 en abandono de tratamiento antiretroviral y antifúngico, quien refiere inicio de enfermedad actual en enero 2024, caracterizado por lesiones en piel, eritematosas, descamativas con centro necrótico de aproximadamente 1 cm de diámetro, a predominio facial y lesiones ulcerativas en cara lateral derecha y dorso de lengua (figura 1), por lo que se realiza biopsia lingual que reporta blastoconidias intra y extracelulares (figura 3), cultivo de tejido que reporta crecimiento de *Histoplasma capsulatum* (figura 4) por lo que inicia tratamiento con anfotericina b, presentando mejoría clínica de lesiones cutáneas (figura 2)

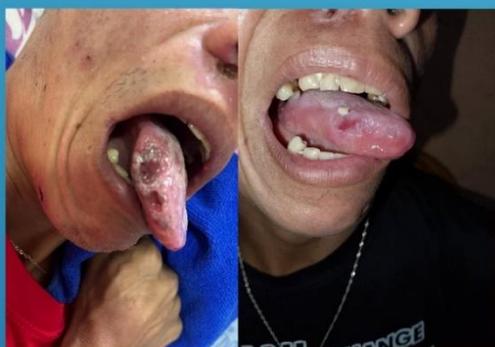


Figura 1

Figura 2



Figura 4

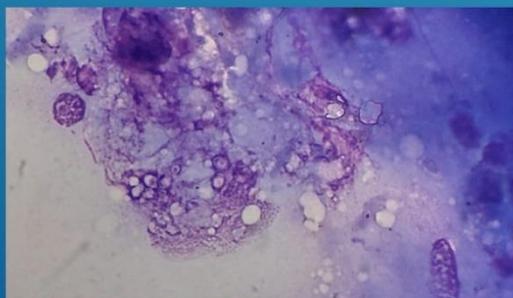


Figura 3

Conclusión: La histoplasmosis diseminada es una micosis indicadora de SIDA en paciente infectados con VIH y frecuentemente mortal si no es diagnosticada a tiempo, por lo que es importante la sospecha diagnóstica oportuna y tratamiento adecuado. La importancia de un diagnóstico precoz es fundamental y en caso de existir afectación cutánea mucosa la realización del estudio histopatológico y cultivo micológico permite orientar y confirmar al diagnóstico e iniciar el tratamiento adecuado de forma inmediata.

Referencias

- 1.- Reyes M, Armas R, Pichardo P, Viñ R, Torres A, Zacarias R. "Cutaneous Histoplasmosis and AIDS". Gac Med Mex 2003; 139 (3): 270-275
- 2.- Reinoso J, Seminario M, Arias J. Caso Clínico: Histoplasmosis Cutánea Diseminada en un Paciente Inmunocomprometido. Rev Med HUCA 2018; 10(2): 160 - 164. DOI: <http://dx.doi.org/10.14410/2018.10.2.cc.25>
- 3.- Escalante P, Soriano ML, Grilli R, Gadeo I, Fariña MC, Barat A, Martín L, Requena L. Widespread histoplasmosis with cutaneous involvement in a HIV-infected patient. Actas Dermosifilogr 1999; 90:591-594
- 4.- W. Samar Cubas, Gerardo Jimenez y Juan Vega. Lesiones cutáneas como manifestación de una histoplasmosis diseminada en un hospital del Perú. Rev chilena Infectol 2017; 34 (6): 613-614.
- 5.- Caballero Escuti, G et al. Histoplasmosis diseminada con manifestaciones cutáneas en un paciente con SIDA. Rev. argent. dermatol. [online]. 2014, vol.95, n.2

Póster: micología

INCIDENCIA DE HONGOS EN GRANOS DE FRIJOL (*VIGNA UNGUICULATA* [L] Walp) COMERCIALIZADOS EN MARACAY ESTADO ARAGUA.



Ruthnelly Martínez, Ana Nieves, Marleny Chavarri y Nohants Rumbos
Laboratorio de Microbiología. Instituto de Química y Tecnología. Facultad de Agronomía.
Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
marlenycoromoto@gmail.com



INTRODUCCIÓN

El frijol (*Vigna unguiculata* [L.] Walp) pertenece a la familia Fabaceae y sus granos forma parte de la dieta del venezolano, ocupando el segundo lugar después de la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), en cuanto a su preferencia. El consumo de frijol es una alternativa alimenticia importante ya que es una fuente de proteína vegetal, vitaminas (tiamina y niacina), minerales (Fe, P, K, Ca) y fibra dietética (2 y 3). Ésta especie es cultivada en zonas tropicales como Venezuela, en donde existen las condiciones favorables para la incidencia de hongos que afectan la productividad de la planta. La colonización fúngica del grano afecta la calidad por deterioro de las fracciones nutritivas y la posible contaminación con micotoxinas, que son metabolitos carcinogénicos, teratogénicos y mutagénicos; que son sintetizados por algunas especies de hongos referidas a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (1). En tal sentido, el objetivo de esta investigación fue determinar y cuantificar la incidencia de hongos e identificar las especies toxigénicas asociadas en granos de frijol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron cuatro muestras de granos de frijol de 1 Kg (comercial 1 y comercial 2) y a granel (granel 1 y granel 2). Los granos se adquirieron en supermercados y mercados populares situados en la ciudad de Maracay, estado Aragua. El muestreo y el análisis se realizó cada 15 días, durante 2 meses. En la Figura 1 se esquematiza la metodología utilizada para la cuantificación e identificación de hongos en las muestras de granos de frijol. Se utilizó un diseño de bloques al azar, con cuatro muestras de granos de frijol y cuatro repeticiones por muestra. La data se analizó con el programa estadístico Statistix versión 8.0, con un nivel de significancia de 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aislaron e identificaron ocho especies fúngicas potencialmente toxigénicas en los granos de frijol (Fig. 2). No se encontraron diferencias estadísticas entre las especies fúngicas y el origen de las muestras a excepción de la especie *Eurotium amstelodami*. Las especies fúngicas aisladas en las muestras con incidencia baja (< 15%) fueron *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus* spp., *Penicillium citrinum* y *Fusarium verticillioides* mientras que *Eurotium amstelodami* presentó una incidencia alta (> 30%) en la marca comercial 1. Diversos estudios en frijoles han reportado las especies referidas a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Eurotium*, lo cual coincide con la presente investigación (5 y 6).

CUANTIFICACIÓN

Siembra directa de granos enteros y desinfectados con NaClO al 1,5%, en malta sal agar.

Incidencia fúngica
Baja 0-15%
Intermedia 16-30%
Alta >30%

Mazzani et al., 1999 (4)

Incubación
8 días a
23 ± 2 °C

IDENTIFICACIÓN

Samson et al., 1995 (7)

Figura 1. Cuantificación e identificación de hongos en muestras de granos de frijol.

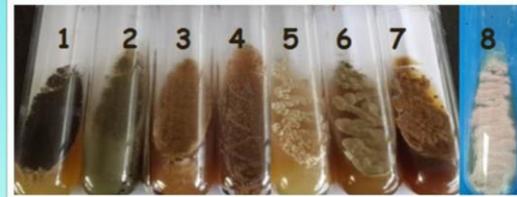


Figura 2. Cultivos puros de las especies aisladas, obtenidos en los granos *Aspergillus niger* Van Tieghem (1), *Aspergillus flavus* Link (2), *Aspergillus ochraceus* Wilhelm (3), *Aspergillus terreus* Thom (4), *Aspergillus* spp. (5), *Penicillium citrinum* Thom (6), *Eurotium amstelodami* Mangin (7), *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (8).

CONCLUSIONES

- Los granos de frijol son un sustrato ideal para el crecimiento fúngico, ya que se aislaron e identificaron ocho especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Eurotium*.
- La presencia de hongos toxigénicos en los granos evaluados nos indican que hay un riesgo potencial de contaminación con micotoxinas. Por lo tanto, es necesaria la cuantificación de micotoxinas en estas muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chavarri M. Ocurrencia de mohos, aflatoxinas y fumonisinas en algunas especies de poáceas, fabáceas y frutos secos. Trabajo de Ascenso a la categoría de Titular. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela; 2019. 136.
- Herrera IM, González EP, Romero JG. Fibra dietética soluble, insoluble y total en leguminosas crudas y cocidas. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 1998; 49: 237 - 239.
- Guillamón E, Pedrosa MM, Burbano C, Cuadrado C, De Cortes Sánchez M, Muzquiz M. The trypsin inhibitors present in seed of different grain legume species and cultivar. Food Chemistry. 2008; 107: 68 - 74.
- Mazzani, C., Borges, O., Luzón, O., Barrientos, V. y Quijada, P. 1999. Incidencia de *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, aflatoxinas y fumonisinas en ensayos de híbridos de maíz en Venezuela. Fitopatol. Venez. 12: 9-13.
- Narcise R, Chavarri M, Mazzani C, Luzón O, Figueroa R. Micobiota toxigénica aislada de granos de leguminosas comercializados en la ciudad de Maracay, estado Aragua, Venezuela. Fitopatol. Venez. 2013; 26 (1): 11 - 14.
- Rusdrew S, Craft J, Kofi A. Occurrence of toxigenic *Aspergillus* spp and aflatoxins in selected food commodities of Asian origin sourced in the west of Scotland. Food and chemical toxicology. 2013; 55: 653-658.
- Samson R, Hoekstra E, Frisvad J, Filtenborg O. Introduction a food-borne fungi. 4th Edition. Centralbureau voor Schimmelcultures. Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences. 1995. 322 p.

Póster: micología

VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE AFLATOXINAS TOTALES EN MAÍZ POR CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).



Marleny Chavarrí, Aisel Pérez y Nohants Rumbos
Laboratorio de Microbiología. Instituto de Química y Tecnología. Facultad de Agronomía.
Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
marlenycoromoto@gmail.com



INTRODUCCIÓN

Las aflatoxinas se consideran las micotoxinas más importantes debido a su ocurrencia en diversos alimentos como el maíz (*Zea mays* L.) y a sus propiedades tóxicas. Son sintetizadas por las especies *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus nonius* y *Aspergillus tamarii*. Las aflatoxinas de mayor interés son B₁, B₂, G₁ y G₂; siguiendo el orden de B₁>G₁>B₂>G₂ de mayor a menor toxicidad, son unas de las toxinas más peligrosas, habiéndose demostrado que el consumo repetido de dosis bajas tienen un efecto mutagénico, teratogénico y cancerígeno en animales y humanos, además de ser letales a dosis altas (2 y 3)). En tal sentido, el objetivo de la presente investigación fue validar una metodología analítica para la cuantificación de aflatoxinas totales (B₁, B₂, G₁ y G₂) en muestras de granos de maíz por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluó la metodología analítica por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), mediante el método AOAC (2000); Official Method 991.31 (1) para la cuantificación de las aflatoxinas totales (B₁, B₂, G₁ y G₂) en muestras de granos de maíz, a los cuales se le agregó concentraciones <2 ppb de la micotoxina. En la Fig. 1 se esquematiza la metodología utilizada.



Figura 1. Método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para la cuantificación de aflatoxinas en granos de maíz.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se validó la metodología HPLC en relación a los criterios de aceptación permitidos de los parámetros evaluados, considerando que es un método lineal, preciso, sensible y exacto para su aplicación en el control de calidad, y que los resultados son confiables cuando se analiza muestras de maíz para determinar su contenido de aflatoxinas y verificar su inocuidad. En la Fig. 2 se muestra el parámetro de linealidad evaluado.

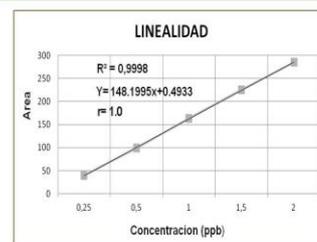


Figura 2. Linealidad con cinco niveles de concentración de aflatoxinas. R²: coeficiente de correlación, r= coeficiente de determinación, Y: ecuación de la recta.

Para validar el método de HPLC se evaluaron los siguientes parámetros (4):

- Límite de Detección. Se determinó con blancos de muestras con adición del analito en una gama de niveles de concentración. Con un número de 5 réplicas cada nivel.
- Límite de Cuantificación. Se determinó fortificando alícuotas de un blanco de muestra a varias concentraciones del analito cercanas al límite de Detección. Con 5 réplicas independientes a cada nivel de concentración.
- Exactitud. Se midió 5 réplicas de cada patrón en tres concentraciones diferentes. Se ejecutó esta actividad 3 veces, en días diferentes. Se calculó: Media (X), Desviación Estándar (s), Coeficiente de Variación (CV), Porcentaje de Error (E%).
- Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad).
Repetibilidad: Ejecutada el mismo día por triplicado.
Reproducibilidad: Ejecutada por 2 analista diferente, en 3 días diferentes, por triplicado.
- Linealidad. Se realizó a 5 niveles de concentración diferentes de aflatoxinas (0,25, 0,5, 1, 1,5 y 2 ppb), con tres réplicas c/u.

CONCLUSIÓN

- La metodología analítica por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), permitió la cuantificación de aflatoxinas totales (B₁, B₂, G₁ y G₂) en las muestras de maíz, a las cuales, se les adicionó las mismas. Cumpliendo con los parámetros estadísticos que permiten validar el método de ensayo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Association Official Analytical Chemistry (AOAC). Method 49.2.18. Official Method 991.31 Aflatoxins in Corn, Raw peanuts, and Peanut Butter. 2000; 22-24.
2. Chavarrí M. Incidencia de mohos y aflatoxinas en algunas especies de Fabaceae, Poaceae y sus derivados. Trabajo de Ascenso a la categoría de Asociado. Maracay, Venezuela. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía; 2014. 40 p.
3. Chavarrí M. Ocurrencia de mohos, aflatoxinas y fumonisinas en algunas especies de poáceas, fabáceas y frutos secos. Trabajo de Ascenso a la categoría de Titular. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela; 2019. 136.
4. Qualltrocchi O, Andrizzi S, Laba R. Introducción a la HPLC. Aplicación y práctica. Argentina, Buenos Aires; 1992. 407p.