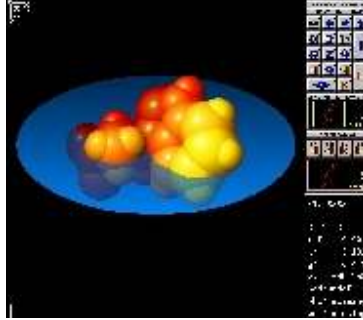


UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
UNIVERSIDAD DE MAASTRICH HOLANDA  
FACULTAD DE MEDICINA



*Micosis en El Salvador. Un problema de Salud Pública.*  
**“Propiedades antimicóticas In Vitro de una Planta  
Natural Allium sativum (XX27). Año 2001”**

**PROYECTO INVESTIGACION MASTER CLASS**

**DR. Antonio Vásquez Hidalgo**

**Ciudad universitaria, julio 2001.**

# R esumen

**Objetivo** Determinar las propiedades antimicóticas in vitro de *la Planta Natural XX27* contra dermatofitos, Año 2001.

**Metodología** Se utilizó un diseño experimental, con un nivel de confianza del 95 % y un error de estimación del 0.05%. Se realizó un estudio simple ciego. Valor alfa de 0.05. En el estudio se utilizó una muestra no aleatoria de tres cepas puras de hongos, denominadas: *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum*, los cuales fueron sembradas en 10 tubos cada cepa a diferentes concentraciones ( 1.5%, 5 % y 10 %), conteniendo el medio de Agar Saboraud o MycoCel con la planta natural ( total 108 tubos en c/cultivo). Como grupo testigo se utilizó por cada 5 casos un tubo conteniendo el medio pero sin la planta natural ( total 18 tubos). Se hicieron cultivos con el objeto de confirmar clasificación taxonómica y/o contaminación. Se realizó extracto alcohólico de la planta en la Facultad de Química y Farmacia, mediante un reflujo se hizo la extracción de la planta en proporciones del 10, 5 y 1.5 % en alcohol durante una hora , a una temperatura de ebullición, en seguida se filtra para ser utilizada en actividad biológica.

## Resultados

A una concentración del 10 % en medio de Saboraud el 60 % de los tubos no presentaron crecimiento del hongo y en medio de Micocel el 77 % en similar caso, el resto de concentraciones al 5 % y 1.5 % no fue significativo. Estadísticamente por el diseño de bloques se tiene que  $F_c$  es mayor  $F_t$  y por la prueba de Tukey al 5 % se encontró significancia estadística ( $p=0.05$ ) .

**Conclusiones** La Planta natural XX27 tiene eficacia a concentraciones del 10 % sobre las cepas de hongos de *M gypseum*, *E floccosum* y *T rubrum*. Las zonas de inhibición y/o no crecimiento estaban en un rango de 60 – 80 %. La planta podría representar una opción en el tratamiento alternativo en el caso de tratar infecciones con micosis resistentes a las drogas sintéticas convencionales de uso frecuente.

**Palabras clave :** Planta Natural, Prevalencia , dermatofitos.



## Agradecimientos

**A las autoridades de la Facultad de Medicina Dr. Ricardo Mendez Flamenco y Dra. Ena Mercedes Cordón por el apoyo a la investigación científico académico de nuestra Facultad.**

Deseo expresar mi agradecimiento a la **Universidad de Maastricht Holanda** por el financiamiento de la presente investigación y a la **Universidad de El Salvador** por el apoyo técnico y humano utilizado en la investigación.

Asesor **Dr. Gustavo Sayas** de la Universidad de El Salvador y **Dr. Julio Piura** de la Universidad de Nicaragua.

Al **Departamento de Microbiología** de UES por la proporcion de las cepas y uso de sus laboratorios.



## Introducción

En nuestro suelo salvadoreño existe una diversidad de muchas plantas medicinales usadas en las comunidades rurales, que le asumen diversas propiedades y utilidades curativas, pero que no se ha logrado descubrir científicamente en su totalidad los beneficios que tienen.

En nuestro medio son frecuentes los dermatofitos a nivel de piel, pelo y uñas en humanos y animales, presentando mayor prevalencia los de piel, como es el caso de las tiñas, que son muy frecuentes en niños y adultos, ocupando el quinto lugar en las diez primeras causas de morbilidad de consulta externa, con una tasa de 312,6 X 10,000 hab ( 1998 MSPAS).

Los dermatofitos tienen una correlación clínica muy marcada de acuerdo al tipo de hongo asociado a la estructura anatómica en particular. Así pueden haber tiñas corporis, capitis, unguum, barbae, pedis, estas son las más frecuentes de encontrar en nuestro medio, estas especies ( *M gypseum*, *T rubrum* y *E floccosum*) están clasificadas en tres géneros: ***Epidermophiton*, *Microsporum* y *Tricophyton*.**

A nivel mundial el uso de medicamentos dermatológicos, han tenido bajas respuestas clínicas, debido a dosis respuesta inadecuada, resistencia del agente al producto, bajo poder económico adquisitivo, calidad del medicamento, por lo que se hace imperativo la búsqueda de otras alternativas.



La justificación del estudio a nivel de **Salud Pública** radica fundamentalmente en la prevalencia de dermatofitos en niños y adultos. Al no ser tratados adecuadamente en el primer nivel de atención, pasan al tercer nivel de atención, con cuadros clínicos graves, lo que genera aumento de los costos hospitalarios en Salud Pública.

El propósito de la investigación consiste en determinar las propiedades antimicóticas in vitro de la planta natural para ser utilizada a un bajo costo en las comunidades, así como en disminuir la prevalencia e incidencia de los casos de morbilidad de consulta externa de los principales establecimientos de salud, articulado al concepto de medicina popular en las estrategias de **Atención Primaria en Salud**, como un recurso de tratamiento alternativo.

De igual forma el ensayo experimental permite de alguna manera integrar la praxis del conocimiento científico, en demostrar la eficacia de la planta medicinal versus Enfermedades Transmisibles, lo que permitirá mejorar la calidad de vida del capital humano.

La hipótesis de investigación fundamentalmente consiste en determinar las propiedades antimicóticas de la planta natural en pruebas realizadas de laboratorio in vitro.



## Objetivos

### GENERAL:

Determinar las propiedades antimicóticas in vitro de *la Planta Natural XX27* contra dermatofitos, Año 2001.

### ESPECIFICOS:

1. Realizar Prueba in vitro para demostrar presencia del principio activo del producto.
2. Determinar la acción de la Planta Natural contra dermatofitos
3. Determinar la concentración optima con efecto antimicótico.

### Hipótesis.

**Hipótesis Nula:** la Planta natural tiene propiedades antimicóticas contra dermatofitos en las pruebas realizadas in vitro.



**Hipótesis alternativa:** la Planta Natural no tiene propiedades antimicóticas contra dermatofitos en pruebas realizadas in vitro.

### Marco Teorico.

En términos Generales los dermatofitos están diferenciados clínicamente, así: 1. **Tinea versicolor.** Se localiza en piel, clínicamente tiene “parches blancos”, hipocromicos, hongo asociado es *Malassesia furfur*; 2. **Tinea corporis.** Se localiza en piel no pilosa, presentando clínicamente “parches” con bordes eritematosos, prurito y descamación central. Entre los hongos responsables están *M. canis*, *Trichophyton mentagrophytes*; 3. **Tiña de los pies.** Localizado en espacios interdigitales de los pies. Clínicamente presenta prurito, vesículas y fisuras. Hongos asociados, están: *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum*; 4. **Tiña crural.** Localizada en ingle, presenta clínicamente escamas eritematosas en zona intertriginosa respetando escroto, se acompaña de prurito. Hongos asociados: *Trichophyton rubrum*, *trichophyton mentagrophytes* y *epidermophyton floccosum*; 5. **Tiña capitis** localizada en cabeza, cabello, clínicamente presenta alopecia con parches circulares, folículos rotos. Hongo asociado *Mycrosporium canis* y *Trichophyton tonsurans*; 6. **Tiña barbae** localizada en pelos de la barba, clínicamente presenta lesiones eritematosas y edematosas. Hongo asociado *T. rubrum* y *T. mentagrophytes*; 7. **tiña unguem.** Localizado en uña, clínicamente presenta uñas gruesas, fisuradas y polvorientas. hongo asociado *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *E. floccosum*<sup>6</sup>.



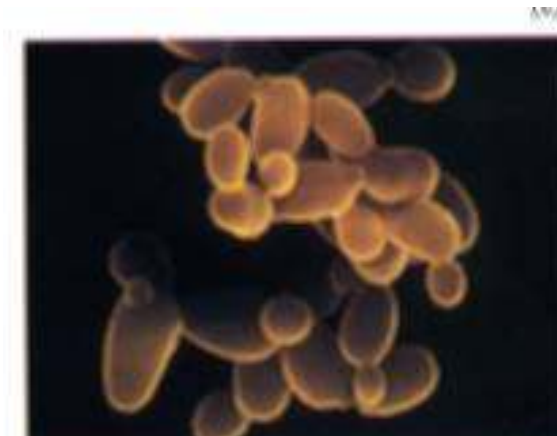


Fig.1 Dermofito. Microfotografía electrónica.

El genero *Microsporum*, presenta morfológicamente características microscópicas, bien definidas, a saber: su distintivo diferencial es la presencia de macroconidias multicelulares con paredes gruesas, entre las más frecuentes, están: *M. canis* y *M. gypseum*. Estudiaremos este ultimo que presenta morfológicamente colonias granulares y polvorientas de superficie de color canela y reverso claro; microscópicamente presenta paredes gruesas, multitabacadas en forma de raqueta, las microconidias son escasas. Existen otras especies, si bien son importantes pero en este caso utilizaremos esta.

El genero *Epidermophyton floccosum*, característicamente no presenta microconidias, sino abundantes macroconidias en forma de clava o trébol; entre las especies más frecuentes están: *Epidermophyton*. Las colonias son blancas y vellosas, microscópicamente no presenta macroconidias.

El genero *Trichophyton* presenta macroconidias y microconidias. Entre las especies más frecuentes están: *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* y *T. tonsurans*, en esta ocasión,





estudiaremos el *T. rubrum* , las colonias son blancas o rojizas, de ahí su nombre, microscópicamente tienen forma de lagrimas , son de pared delgada y lisa, presenta abundantes microconidias.

En general el género *Microsporum* es más frecuente encontrarlo en piel y pelo, no en uñas, del género *trichophyton* se encuentra en las tres áreas: piel, pelo y uñas y del género *Epidermophyton* solamente se encuentra en piel y uñas, no en pelo . (Cuadro 1)

**CUADRO NO 1**  
**MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA Y LOCALIZACIONES USUALES DE LOS**  
**PRINCIPALES GENEROS DE DERMATOFITOS.**

| GENERO                | PIEL | PELO | UÑAS | MACRONIDIAS | MICROCONIDIAS |
|-----------------------|------|------|------|-------------|---------------|
| <b>Microsporum</b>    | ++   | ++   | -    | +++++       | +             |
| <b>Trichophyton</b>   | ++   | ++   | ++   | +           | ++++          |
| <b>Epidermophyton</b> | ++   | -    | ++   | ++++        | -             |

**Fuente: Manual de Enfermedades TransmisiblesI. Depto de microbiología. UES.2000**

El uso de Plantas curativas viene desde la antigüedad, en sus inicios el hombre exploraba la naturaleza en busca de salud. La medicina tradicional popular o alternativa <sup>2</sup> es denominada también fitoterapia.<sup>11</sup> es muy utilizada por las comunidades rurales, en algunas ocasiones es utilizada como estrategia en la atención primaria en salud.

Actualmente es un fenómeno cultural muy arraigado en área rural, pero que al momento por la migración se utiliza en el área urbana, mirado con cierto recelo por la comunidad científica salvadoreña, a excepto en países Europeos esta mas desarrollada en las etnoprácticas de salud.



De las Plantas Naturales el genero *Liliáceas* esta mas relacionado con propiedades antimicrobianas, en su generalidad son plantas arbustivas, que son cultivados en El Salvador. Sus hojas son sencillas, con flores actinomorfas.

Las especies de esta familia refieren es una planta con raíz en forma de bulbo compuesto. Sus hojas son lineales envainantes, contiene flores hermafroditas actinomorfas. Se adjudican propiedades contra: el reumatismo, tos rebelde, parasitismo, antiséptico, diurético, antibacteriano, gastritis, colitis y antiasmático. El análisis fitoquímico contiene alcaloides, taninos , esteroides insaturados y aceites esenciales. Se utilizó a principios del año 2300 AC en Sumeria, que era usado en esa época para disminuir la fiebre, estreñimiento, edemas y parasitismo intestinal.



## Diseño Metodológico.

### Tipo de estudio.

Se utilizó un diseño experimental, con un nivel de confianza del 95 % y un error de estimación del 0.05%. Se hizo un estudio simple ciego. Valor alfa de 0.05.

### Población de estudio.

En el estudio se utilizó una muestra no aleatoria de tres cepas puras de hongos, denominadas: *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum*, los cuales fueron sembradas en 10 tubos cada cepa a diferentes concentraciones ( 1.5%,5 % y 10 %), conteniendo el medio de Agar Sabouraud o MycoCel con la planta natural ( total 108 tubos en c/cultivo). Como grupo testigo se utilizo por cada 5 casos un tubo conteniendo el medio pero sin la planta natural ( total 18 tubos). Se hicieron cultivos con el objeto de confirmar clasificación taxonómica y/o contaminación.

### Variables de estudio.

1. Plantas naturales. En nuestro caso del genero *Liliaceae*
2. Dermatofitos. Entre ellos: **M. gypseum**, **T. rubrum**



| <b>O p e r a c i o n a l i z a c i ó n d e l a s v a r i a b l e s</b> |  |   |                           |                                  |
|--|--|---|---------------------------|----------------------------------|
| <b>Variable</b>  | <b>Definición</b>  | <b>Indicador</b>                                  | <b>Valor</b>              | <b>Método</b>                    |
| <b>1. Planta natural</b>   | Término general utilizado para plantas que curan una enfermedad. | ♣ Análisis fotoquímico<br>♣ Estudio bromatológico | Principio activo          | ♣ Técnica de laboratorio.        |
|  |  | ♣ Principio activo                                | Presente/ausente          | ♣ Técnica de laboratorio.        |
|  |  | ♣ Concentración del producto                      | Letal                     | ♣ Observación                    |
|  |  | ♣ Disponibilidad del mercado                      | Ausente/ Presente         | ♣ Observación                    |
|  |  | ♣ Tipo de planta                                  | Genero/ Especie           | ♣ Técnica de laboratorio.        |
|  |  | ♣ Método de laboratorio                           | Sí / no                   | ♣ Técnica de laboratorio.        |
|  |  | ♣ Factibilidad                                    | Sí / no                   | ♣ Recursos                       |
|  |  | ♣ Control de calidad                              | Bueno/ Malo               | ♣ Técnica de laboratorio.        |
| <b>2. Dermatofitos</b>   | Termino general para las afecciones producidas por hongos.       | ♣ Cultivo in vitro                                | Si / no                   | ♣ Observación                    |
|  |  | ♣ Tipo de hongo                                   | Genero/ Especie           | ♣ Técnica de laboratorio.        |
|  |  | ♣ Clasificación taxonómica                        | Presente/ Ausente         | ♣ Observación                    |
|  |  | ♣ Materiales y reactivo                           | Si / no                   | ♣ Técnica de laboratorio.        |
|  |  | ♣ Hoja de cotejo                                  | Inhibición/ No inhibición | ♣ Observación<br>♣ Grupo testigo |
|  |  |   |                           |                                  |



### **Área de estudio.**

Una parte de las pruebas se realizaron en el laboratorio del departamento de Microbiología de la Universidad de El Salvador para la obtención y procesamiento de las cepas de dermatofitos, la otra por laboratorio particular o Nacional para calidad y confirmación de la muestra. La preparación del extracto se hizo en la Facultad de Química y Farmacia.

### **Selección de la muestra.**

Se utilizó un muestreo aleatorio, para determinar la muestra de estudio, así por ejemplo entre los **criterios de inclusión**, se tiene: 1. cepas puras de dermatofitos, 2. Planta natural sea **XX27**, 3. fácil procesamiento por técnica de laboratorio, 4. no contaminación de las muestras y 5. exista método de comparación entre la muestra y grupo testigo.

Entre los **criterios de exclusión**, están: 1. contaminación de otros géneros de micosis, 2. Planta Natural sea otra, 3. mal utilización de la técnica de laboratorio y 4. testigo sea diferente al control. 5. mal control de calidad.

### **Análisis de la Información.**

Es necesario aclarar que ha sido intensa la búsqueda de información bibliográfica de fuentes primarias y secundarias, así como en CD Lilacs e Internet ( Yahoo, Google, Medline) en las que existe escasas referencias de la investigación en particular.



Se utilizaron métodos estadísticos descriptivos, como: polígono de frecuencias, logarítmicas, tablas y gráficos, medidas de tendencia central; Método Inferencial, como uso de varianza, tablas de contingencia 2x2, desviación estándar, Epidat 1. Se determinó el nivel de significancia estadística por las pruebas de Tukey. Se utilizó procesador de texto en los software de Office 2000, Excel entre otros.

### **Control de sesgos**

Entre los principales sesgos a considerar, están: 1. Selección inadecuada de la planta natural, su control fue por estudio fitoquímico y bromatológico; 2. preparación técnica inadecuada, su control fue por método estandarizado de laboratorio o por grupo testigo; 3. Inadecuada selección de cepas puras, su control fue por clasificación taxonómica; 4. concentración inadecuada del extracto, su control fue por dosis respuesta letal. 5. Sesgo de información, su control fue por validez y confiabilidad. 6. Proceso inadecuado de la Planta natural y cepa de Hongos, su control fue por control de calidad. 7. Mala preparación del medio. Su control fue por método estandarizado. 8. Usar medios vencidos, su control se verificó por fecha de vencimiento y control de calidad del producto. 9. Mala preparación de los tubos. Su control fue por verificación de muestras. 10. Sesgo del instrumentista al usar un diseño de modelo mal elaborado, su control fue por análisis de resultados verificando de nuevo la técnica. 11. Cultivos mixtos, su control fue por verificar frasco conteniendo el medio. 12. Error de análisis, su control fue por verificación de un experto. 13. Resultados experimentales erróneos, su control fue por replicación de



resultados por observadores independientes (criterios: no relacionados con el investigador, etica codigo, estar capacitado, no vinculado a investigación afin ).

### **Consideraciones éticas.**

No se utilizaron como muestras a sujetos humanos en la investigación, debido a que se realizaron pruebas in Vitro. El proceso y manipulación de las muestras se hizo de acuerdo a las normas estandarizadas de bioseguridad de laboratorio, como es: uso de gabacha, uso de guantes, asepsia de la mesa laboratorio, uso de mechero bunsen, uso de mascarilla etc. Para el transporte se utilizó una gradilla con los tubos “ tapados” con gasa, sin descubrirlos. Los hongos se manipularon estrictamente en laboratorio.

### **Fines de la investigación.**

Básicamente consiste en encontrar una planta natural como alternativa al tratamiento de dermatófitos a un bajo costo, así como en difundir el conocimiento a las comunidades para la implementación de su uso por medio de “ preparados Naturales” y de alguna manera disminuir la prevalencia de las micosis en las comunidades en el área de Salud Publica.

### **Procedimiento metodológico.**



Se procedió en tres fases:

**PRIMERA FASE:** Se utilizaron los criterios de inclusión anteriores, se hizo análisis fitoquímico de la planta natural, así como estudio bromatológico. Se determinó la concentración a dosis respuesta por método de observación en los tubos de ensayo por hoja de cotejo. Se realizó extracto alcoholico de la planta en la Facultad de Química y Farmacia, mediante un reflujo se hizo la extracción de la planta en proporciones del 10, 5 y 1.5 % en alcohol durante una hora , a una temperatura de ebullición, en seguida se filtra para ser utilizada en actividad biológica.

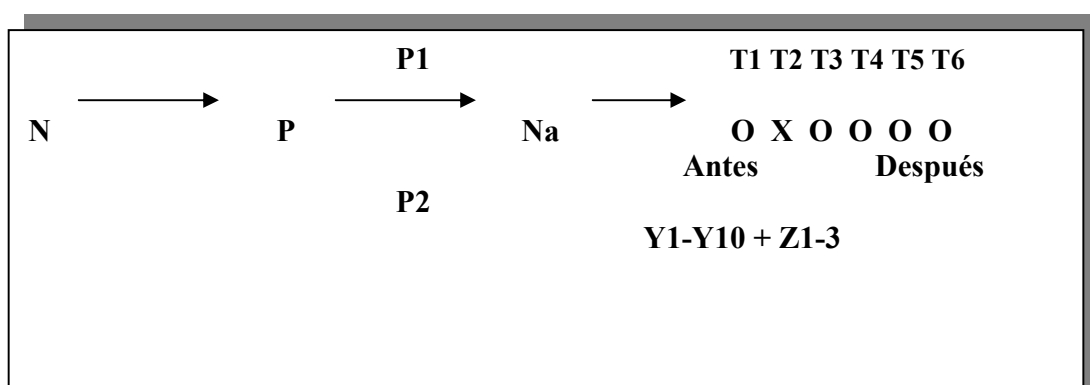
**SEGUNDA FASE:** Para la obtención de muestras se utilizaron técnicas de laboratorio, sembrados en medio de cultivo de **Saboraud** y **Mycocel**, utilizando cepas puras obtenidas por muestras de laboratorio, así como el extracto puro de la planta a diferentes concentraciones, luego posterior a la inoculación por el metodo de dilución 0.5 ml del extracto se depositó en la superficie del bicel .Se observó durante un período de 4 semanas si hay crecimiento o no, de acuerdo a la siguiente escala: actividad antimicótica + + + +, actividad micocida ++, y actividad inhibitoria + . Se hizo método comparativo con el grupo testigo pero sin la planta natural, con el objeto de observar el crecimiento natural del hongo.

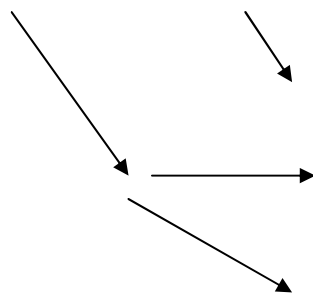
**FASE III** .Se envió a Laboratorista un modelo de código simple para un estudio simple ciego, en el cual lo modificará para efectos de no inferir en prejuicios. Se envió el extracto de la planta a las concentraciones de 1.5 %, 5% y 10 %, el laboratorista prepara en 90 tubos de 16 x 150 ml liso con tapón de algodón, conteniendo 6 ml de mezclado con la



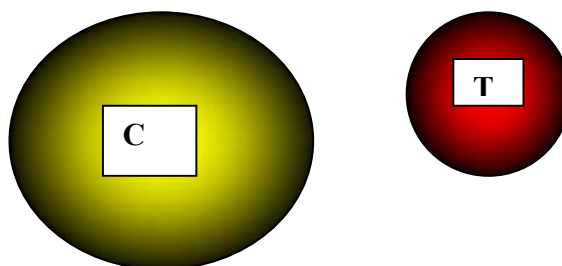


planta natural, luego prepara otros 90 tubos con Micocel mas la planta natural con 6 ml y se homogeniza a una concentración ideal de 1.5 % a 10. Prepara 18 tubos testigo sin la planta conteniendo 9 con Agar saboraud y 9 con Micocel. El laboratorista codifica del 1 al 216 con tubos de igual característica sin distinción, solamente el número correlativo, luego se hizo selección aleatoria por cada 5 tubos marcados al testigo. Luego envió set al investigador para siembras de hongos, especificando que los tubos del 1 al 10 se sembrarán con *M. gypseum*, del 11 al 20 con *E. floccosum*, del 21 al 30 con *T rubrum*. Los tubos marcados del 31 al 32 con *M. gypseum*, 33 al 34 *E. Floccosum* y del 34 al 36 con *T rubrum* etc con el objeto de no repetir sistemáticamente el mismo hongo y evitar sesgos en el muestreo. Las siembras se hicieron con asa bacteriológica en L para hongos, tomando una asada del inculo del tubo conteniendo el hongo hacia los tubos numerados. Los tubos se dejaron a temperatura ambiente junto al grupo testigo, registrando posteriormente cada semana por un mes los resultados.





$$X = b_0 + b_1 Y \text{ y } Y = a_0 + a_1 X$$



**Fig. 2. Diagrama diseño de estudio**

## Resultados



En las tablas de contingencia 2 x2 se observa que al utilizar la planta natural XX27 contra dermatofitos en medio de Saboraud, se obtuvo una sensibilidad del 67 % y una especificidad del 41 %; en el caso de micocel una sensibilidad del 58 % y una especificidad 33 %. Un valor predictivo de prueba positivo de 25 % (saboraud) y 58 % (Micocel). Un valor de predictivo de prueba negativo 65 % (saboraud) y 59 % ( Micocel). **Tablas I y II.**

**TABLA I**

**Tratamientos entre Planta Natural y dermatofitos. Cultivo Saboraud n=108.año2001.**

| <b>Hongo/<br/>Planta</b> | <b>Crecimiento</b> | <b>No<br/>crecimiento</b> |
|--------------------------|--------------------|---------------------------|
| <b>Con planta</b>        | <b>52</b>          | <b>18</b>                 |
| <b>Sin Planta</b>        | <b>25</b>          | <b>13</b>                 |

**Fuente: Pruebas in vitro**

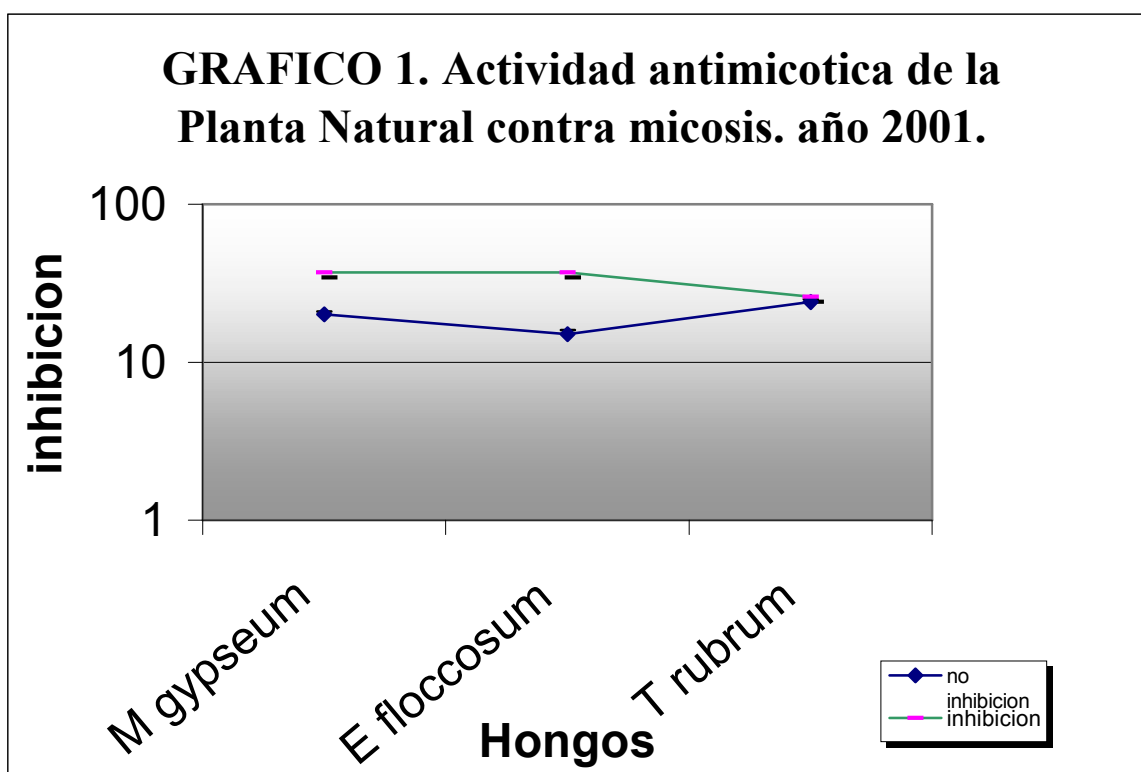
**TABLA II**

**Tratamientos entre Planta Natural y dermatofitos. Cultivo Micocel n=108.año2001.**

| <b>Hongo/<br/>Planta</b> | <b>Crecimiento</b> | <b>No<br/>crecimiento</b> |
|--------------------------|--------------------|---------------------------|
| <b>Con planta</b>        | <b>28</b>          | <b>40</b>                 |
| <b>Sin planta</b>        | <b>20</b>          | <b>20</b>                 |



A una concentración del 10 % en medio de Saboraud el 60 % de los tubos no presentaron crecimiento del hongo y en medio de Micocel el 77 % en similar caso, el resto de concentraciones al 5 % y 1.5 % no fue significativo.

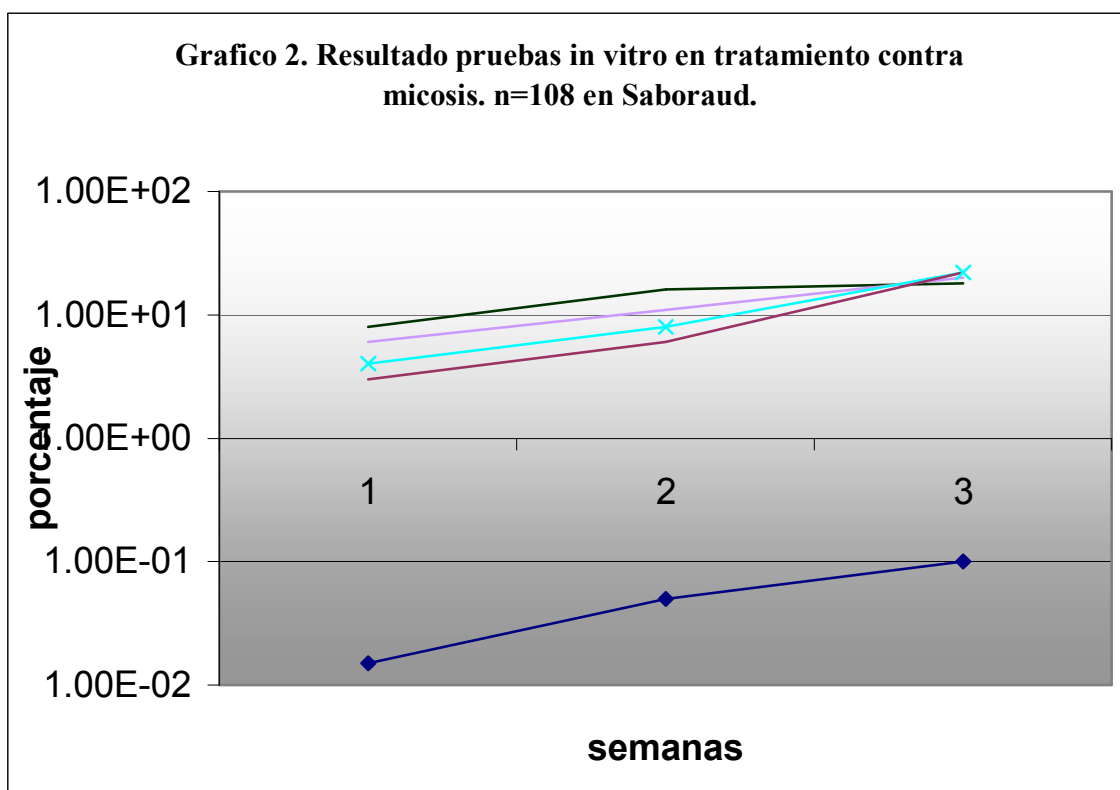


La actividad antimicótica de la Planta natural contra dermatofitos , en su orden presentaron mayor inhibición : *M. gypseum*, *E. floccosum* y *T. rubrum* en las concentraciones del 10 %, 5 % y 1.5 %. **Grafico 1.**



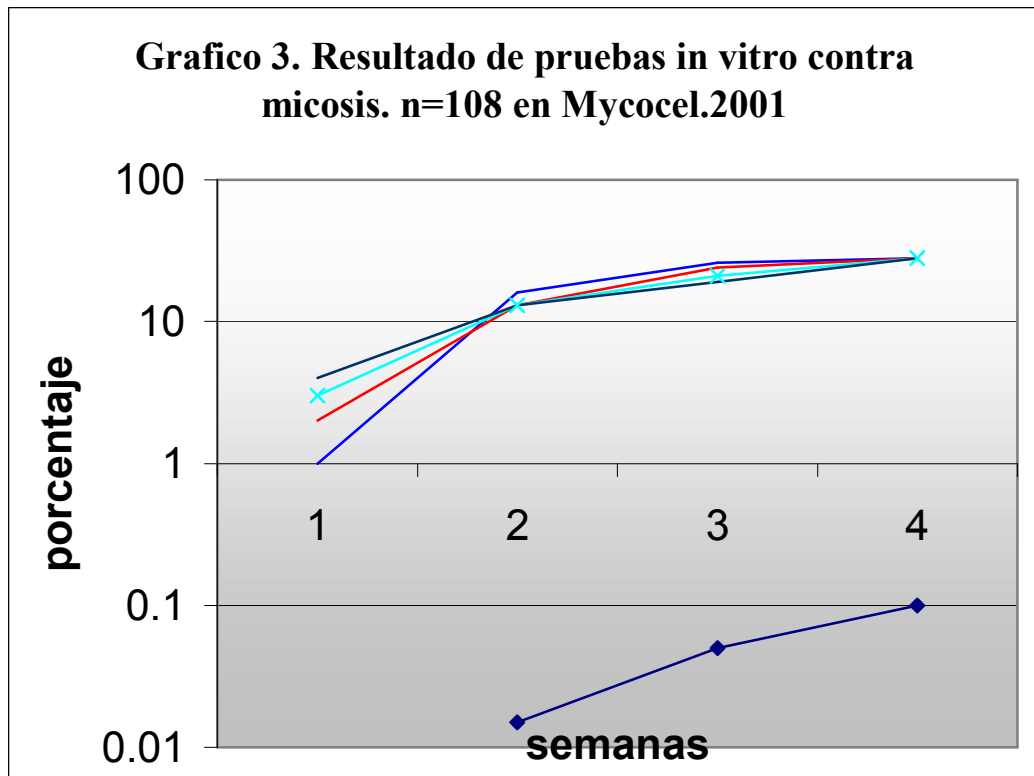
En los 216 tubos se observó que la capacidad de inhibición fue variable según tiempo y cepa sembrados a posterior a la preparación de los tubos en los dos medios de cultivo. En los 30 tubos clasificados como testigos el crecimiento fue del 100 %.

La media de inhibición y no crecimientos durante 4 semanas en cultivo de Saboraud por tratamiento fue 20.5, 10.25 y 5.25, en las concentraciones del 10 %, 5 % y 1.5 % respectivamente. En medio de Micocel la media de inhibición y no crecimientos fue de 28.0, 22.5 y 13.75 en las concentraciones del 10 %, 5 % y 1.5 % respectivamente.



En el **gráfico 2** en cultivo de Saboraud se observa que a concentraciones del 10 % la actividad antimicótica fue mayor, al 5 % presentó mayores crecimientos.





En el **gráfico 3** en cultivo de Micocel se observa que a concentraciones superiores del 5 % y 10 % la actividades antimicótica fue de mayor eficacia.

**La Tabla III de ANOVA** por el diseño de bloques en cultivo de Saboraud se tiene que  $F_c$  (18,71 ) es mayor que  $F_t$  (9.28) y por tratamiento  $F_c$  (23.98) es mayor que  $F_t$  (9.85). según Prueba de Tukey al 5 % en cultivo de Saboraud presentaron mayor significancia estadística valores de 10.25 y 15.25 ( $p=0.05$ ) y en Micocel valores de 14.25 y 22.5 ( $p=0.05$ ).



**TABLA III**  
**TABLA DE ANOVA**  
**Estudio de la Planta Natural contra micosis por el diseño de Bloques n= 108. Cultivo Saboraud. Año 2001.**

| <b>F de v</b>      | <b>Gl</b> | <b>Sc</b>    | <b>Cm</b>     | <b>Fc</b>    | <b>Ft</b>   |
|--------------------|-----------|--------------|---------------|--------------|-------------|
| <b>Bloques</b>     | <b>3</b>  | <b>566</b>   | <b>188.66</b> | <b>18.71</b> | <b>9.28</b> |
| <b>Tratamiento</b> | <b>2</b>  | <b>483.5</b> | <b>241.75</b> | <b>23.98</b> | <b>9.55</b> |
| <b>Error</b>       | <b>6</b>  | <b>60.5</b>  | <b>10.08</b>  |              |             |
| <b>Total</b>       | <b>11</b> | <b>110</b>   |               |              |             |

Fuente: Pruebas in vitro. 2001

En la Tabla IV de ANOVA en cultivo de Micocel por bloques se tiene que Fc (53,64) es mayor que Ft (9.28) y por tratamiento Fc ( 74.05) es mayor que Ft (9.25). Según prueba de Tukey al 5 % los valores 8.75 y 14.25 tienen mayor significancia estadística ( $p=0.05$ ) y con Saboraud el 10.25 y 15.25 ( $p=0.05$ ).

**TABLA IV**  
**TABLA DE ANOVA**  
**Estudios de la Planta Natural contra micosis. Por el diseño de Bloques n=108 Cultivo micocel. Año 2001.**

| <b>F de v</b>      | <b>Gl</b> | <b>Sc</b>     | <b>Cm</b>     | <b>Fc</b>    | <b>Ft</b>   |
|--------------------|-----------|---------------|---------------|--------------|-------------|
| <b>Bloques</b>     | <b>3</b>  | <b>449.0</b>  | <b>149.66</b> | <b>53.64</b> | <b>9.28</b> |
| <b>Tratamiento</b> | <b>2</b>  | <b>413.25</b> | <b>206.62</b> | <b>74.05</b> | <b>9.55</b> |
| <b>Error</b>       | <b>6</b>  | <b>16.75</b>  | <b>2.79</b>   |              |             |
| <b>Total</b>       | <b>11</b> | <b>879</b>    |               |              |             |

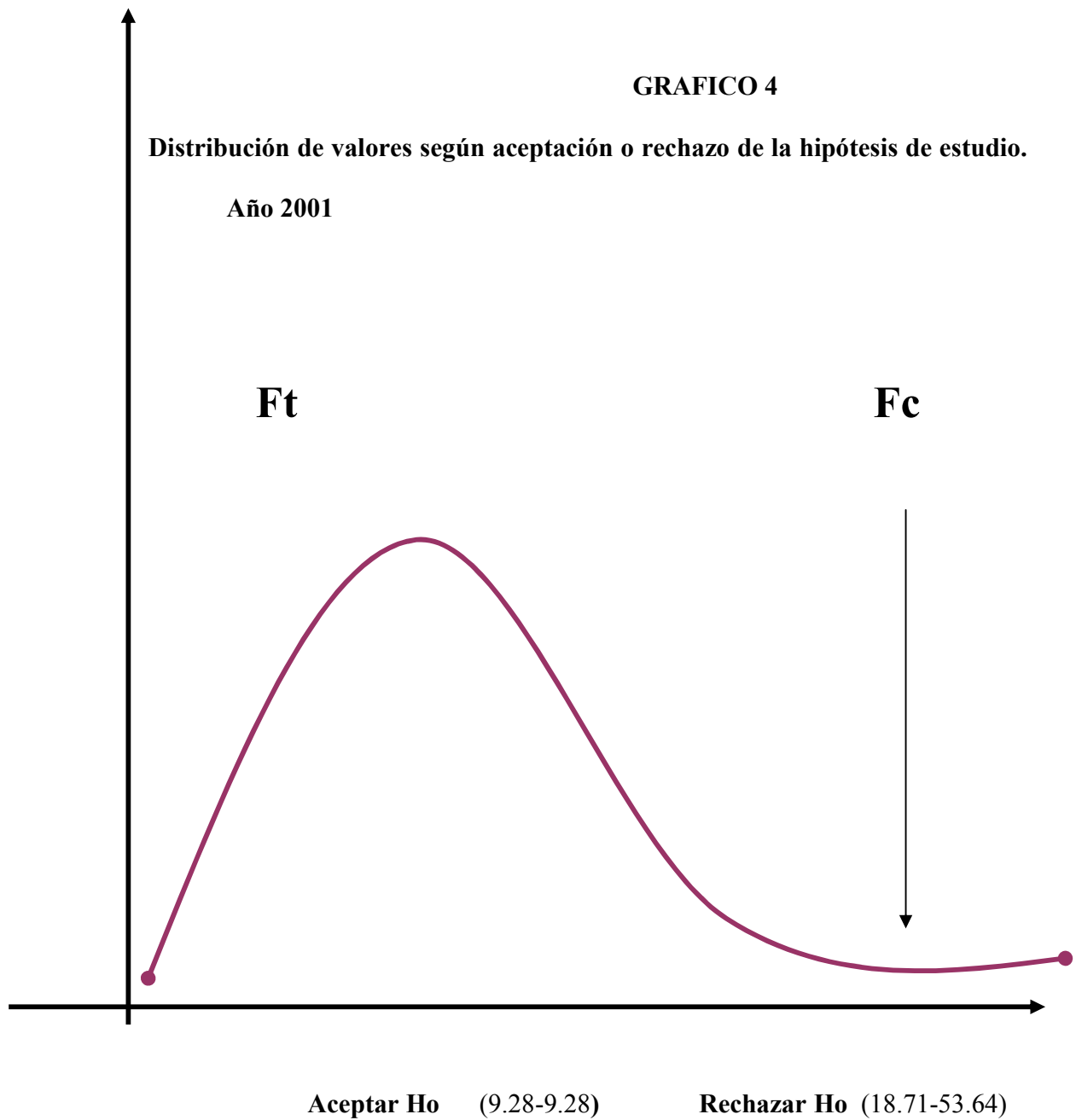
Fuente: Pruebas in vitro. 2001



GRAFICO 4

Distribución de valores según aceptación o rechazo de la hipótesis de estudio.

Año 2001





## Discusión

Los ensayos *in vitro* realizados en medio de Saboraud y Micocel demuestran que en ambos medios se observaron diferencias significativas. En el medio de saboraud no contiene componentes antibacterianos, por lo que presentaron mayor proporción crecimiento no así en los cultivos de Micocel.

Se le atribuyen a la planta propiedades antimicrobianas <sup>(1,2)</sup>. En un estudio reciente publicado por Journal of the American Chemical Society se demostró que un miligramo de la planta tiene un equivalente de 15 unidades de penicilina. <sup>(2)</sup>contra algunas especies de bacterias.

The American Society for Microbiologys Antimicrobial Agents en su estudios explican que la alicina contiene grupos de enzimas que actúan sobre las infecciones sobre todo bacterianas que inhiben el crecimiento de diversos microorganismos <sup>(3)</sup>, también lo sea para micosis.

Algunos autores han reportado que el uso de la Planta a mayores concentraciones puede producir irritaciones en la piel <sup>(4,6)</sup> por lo que se sugiere tomarlo en cuenta cuando se elabore un preparado tópico por alguna empresa comercial y evitar daños secundarios en su administración al paciente con lesiones dermatológicas por tiñas.

Bonifaz y colaboradores (1990) encontraron propiedades antimicóticas de la planta realizando pruebas *in vivo*, prepararon cremas del principio activo como



tratamiento a 20 pacientes que presentaban tiñas obteniendo cura clínica pero con sensibilidad tópica al producto. <sup>(3)</sup>.

En otros estudios refieren que la propiedad antifúngica encontrada ha sido de especies de *Aspergillus sp*, *Cryptococcus sp* y *Candida albicans* <sup>(6,7)</sup> pero no para otras especies de hongos.

Los resultados del experimento demuestran que la Hipótesis de investigación planteada en el estudio sobre la existencia de correlación entre la planta natural y su efecto contra dermatofitos en Pruebas in vitro es aceptada por lo que se rechaza la hipótesis nula.

Al momento la literatura relacionada al uso de la planta XX27 contra micosis no ha sido explotada, por lo que puede considerarse como una propiedad reciente contra dermatofitos. La fuente BoDD (Botanical Dermatology Base) index to Plant Families <sup>(5)</sup> no asocia la familia con las especies de hongos. Se han descubierto otras propiedades <sup>(3,6,7,10-12)</sup> en los casos de hipertensión, asma, antimicrobiano, bronquitis y otros.

La media de inhibición y no crecimientos ( n=216) se considera que es bajo, aun con el control de seguridad de minimizar en lo posible la contaminación durante el proceso de preparación e inoculación en los tubos de ensayo en las pruebas in vitro. A medida que el tiempo transcurría durante 4 semanas se observó que algunos tubos presentaban inhibición y en otros crecimiento, al final de las 4 semanas los tubos marcados con crecimiento presentaban crecimiento a mitad y otros total a nivel del bicel. Al azar se realizaron cultivos de los tubos para descartar contaminación y determinar que el



crecimiento es del hongo inoculado y no de otra especie, se aislaron en menor porcentaje bacterias.

En este estudio puede observarse que existen diferencias en las concentraciones del preparado contra dermatofitos, por lo que puede concluirse que la relación es directamente proporcional que la planta tiene actividad antimicótica contra las especies de hongos.



## Conclusiones.

La Planta natural *Allium sativum* tiene eficacia a concentraciones del 10 % sobre las cepas de hongos de *M gypseum*, *E floccosum* y *T rubrum*.

Las zonas de inhibición y/o no crecimiento estaban en un rango de 60 – 80 %.

Estadísticamente se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis de investigación.

Las pruebas estadísticas de Tukey por el metodo de diseño de bloques resultaron diferencias significativas, lo que permite concluir que los tratamientos son debidos a diferencias reales y no al azar.



## **Recomendaciones.**

La planta podría representar una opción en el tratamiento alternativo en el caso de tratar infecciones con micosis resistentes a las drogas sintéticas convencionales de uso frecuente.

Utilizar el producto en los niveles de atención en salud I y II en pacientes que presenten patologías micóticas, sin fines comerciales.

Desarrollar mecanismos de intersectorialidad entre la facultad de medicina y empresas transnacionales para la comercialización del producto.



**Bibliografía.**

1. Doctor Phyto. Aromatherapy and herbal Medicine Company. Allium sativum clinical review. 2001.<http://phytomin.com/library/botanicalsGHI>
2. Zhi-De Deng. Antibacterial Property of Allium sativum .2000.<http://128.228.75.7/ice2000/zhi>
3. Bonifaz, y otros. 1990. Estudio de la actividad in vitro de la Alicina en el tratamiento de tiñas. *Dermatology, rev. Mex.* Lilacs 24 edición.
4. Allium sativum . Alliaceae.BoDD.2000.<http://www.uwcm.ac.uk/dm/BoDD>.
5. Botanical Dermatology Database. Index to Plant Families. 2000. <http://bodd.ef.ac.uk/indexes/Plantfamilies.html>.
6. Dawit Dikasso.2001. Medicinal preparation and use of Allium sativum by traditional healers in Southrn Nations Nationalities and People State. <Http://www.cih.uib.no/journals/EJHD/EJHD-V13/N2-93.htm>.
7. Allium sativum. 2001. Health Nutrition .<http://www.sbwise.com/ingredients/htm>.
8. Koneman, et al. Micosis. *Microbiol. Cap 14.* 1998: 690-696.
9. Rippon.Micosis. *Micology.* 1998.
10. Allium sativum. Herbs and supplements by Nutrative.1999.<http://www.xx27.htm>.
11. XX27. 1999. <http://xx27.htm>-
12. Jane Jesse et al. 1997. Medical Atributes of Allium sativum. <http://xx27.html>.
13. 1998. MSPAS. Ministerio de Salud Publica y Asistencia Social.



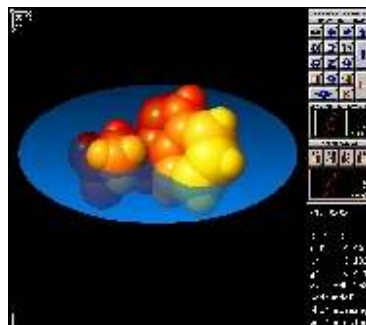
## **ANEXOS**



**ANEXO 1**  
**PLANTA NATURAL**



**ESTRUCTURA MOLECULAR *Allium sativum***

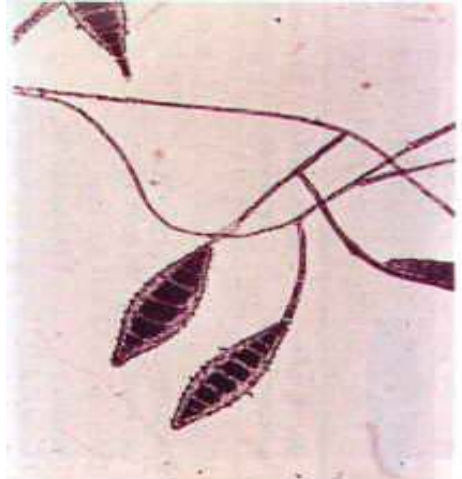
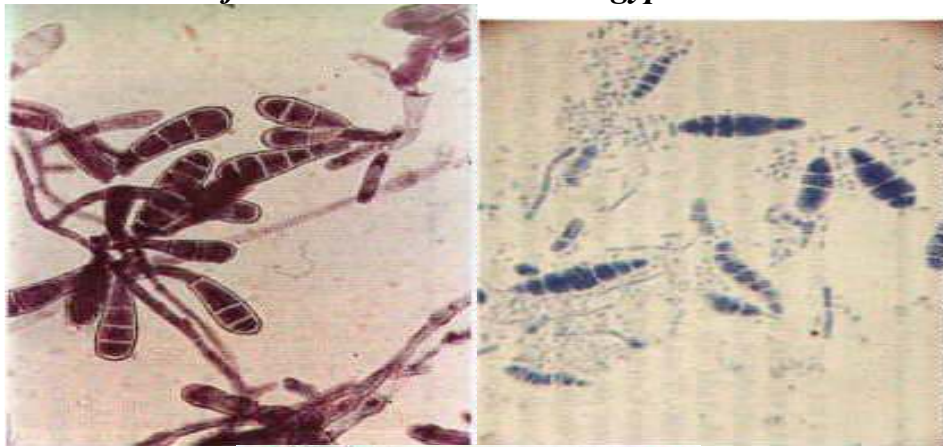




**ANEXO II**

**HONGOS**

*E floccosum* *T rubrum* *M gypseum*



## ANEXO III

EJEMPLO DE MODELO HOJA COTEJO  
A ENVIAR AL INVESTIGADOR

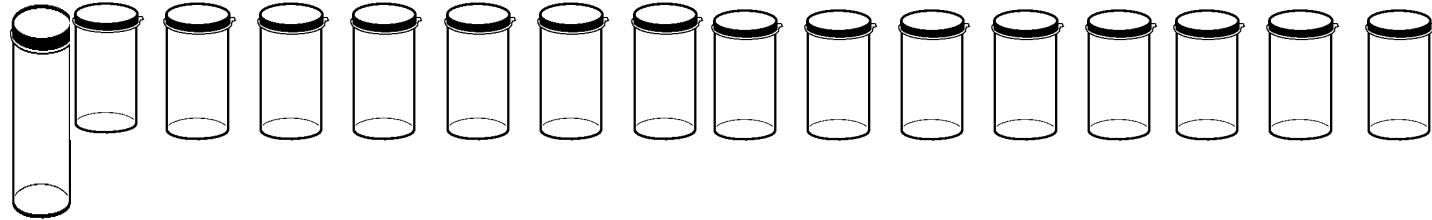
| NUMERO DE TUBOS | INOCULAR CON:      |
|-----------------|--------------------|
| 1 AL 10         | <i>M gypseum</i>   |
| 11 AL 20        | <i>E floccosum</i> |
| 21 AL 30        | <i>T rubrum</i>    |
| 31 AL 32        | <i>M gypseum</i>   |
| 33 AL 34        | <i>E floccusum</i> |
| 35 AL 36        | <i>T rubrum</i>    |
| 37 AL 46        | <i>M gypseum</i>   |
| 47 AL 56        | <i>E floccusum</i> |
| 57 AL 66        | <i>T rubrum</i>    |
| 67 AL 68        | <i>M gypseum</i>   |
| 69 AL 70        | <i>E floccosum</i> |
| 71 AL 72        | <i>T rubrum</i>    |
| 73 AL 82        | <i>M gypseum</i>   |
| 83 AL 92        | <i>E floccusum</i> |
| 93 AL 102       | <i>T rubrum</i>    |
| 103 AL 104      | <i>M gypseum</i>   |
| 105 AL 106      | <i>E floccusum</i> |
| 107 AL 108      | <i>T rubrum</i>    |
| 109 AL 118      | <i>M gypseum</i>   |
| 119 AL 128      | <i>E floccusum</i> |
| 129 AL 138      | <i>T rubrum</i>    |
| 139 AL 140      | <i>M gypseum</i>   |
| 141 AL 142      | <i>E floccusum</i> |
| 143 AL 144      | <i>T rubrum</i>    |
| 145 AL 154      | <i>M gypseum</i>   |
| 155 AL 164      | <i>E floccosum</i> |
| 165 AL 174      | <i>T rubrum</i>    |
| 175 AL 176      | <i>M gypseum</i>   |
| 177 AL 178      | <i>E floccosum</i> |
| 179 AL 180      | <i>T rubrum</i>    |
| 181 AL 190      | <i>M gypseum</i>   |
| 191 AL 200      | <i>E floccusum</i> |
| 201 AL 210      | <i>T rubrum</i>    |
| 211 AL 212      | <i>M gypseum</i>   |
| 213 AL 214      | <i>E floccosum</i> |
| 215 AL 216      | <i>T rubrum</i>    |







### ANEXO V DE MODELO CODIGO



|           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |           |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|           |           |           |           | <b>S</b>  | <b>A</b>  | <b>B</b>  | <b>O</b>  | <b>R</b>  | <b>A</b>  | <b>U</b>  | <b>D</b>  |           |           |           |           |
| <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>B</b>  | <b>B</b>  | <b>B</b>  | <b>B</b>  | <b>B</b>  | <b>B</b>  |
| <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>X1</b> | <b>X1</b> | <b>X2</b> | <b>X2</b> | <b>X3</b> | <b>X3</b> |
| +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         |
| <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  |
| <b>1</b>  | <b>2</b>  | <b>3</b>  | <b>4</b>  | <b>5</b>  | <b>6</b>  | <b>7</b>  | <b>8</b>  | <b>9</b>  | <b>10</b> | <b>31</b> | <b>32</b> | <b>33</b> | <b>34</b> | <b>35</b> | <b>36</b> |
| <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  |           |           |           |           |           |           |
| <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> |           |           |           |           |           |           |
| +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         |           |           |           |           |           |           |
| <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  |           |           |           |           |           |           |
| <b>11</b> | <b>12</b> | <b>13</b> | <b>14</b> | <b>15</b> | <b>16</b> | <b>17</b> | <b>18</b> | <b>19</b> | <b>20</b> |           |           |           |           |           |           |
| <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  |           |           |           |           |           |           |
| <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> |           |           |           |           |           |           |
| +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         |           |           |           |           |           |           |
| <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  |           |           |           |           |           |           |
| <b>21</b> | <b>22</b> | <b>23</b> | <b>24</b> | <b>25</b> | <b>26</b> | <b>27</b> | <b>28</b> | <b>29</b> | <b>30</b> |           |           |           |           |           |           |
| <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>B</b>  | <b>B</b>  | <b>B</b>  | <b>B</b>  | <b>B</b>  | <b>B</b>  |
| <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>Z1</b> | <b>X1</b> | <b>X1</b> | <b>X2</b> | <b>X2</b> | <b>X3</b> | <b>X3</b> |
| +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         |
| <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  |
| <b>37</b> | <b>38</b> | <b>39</b> | <b>40</b> | <b>41</b> | <b>42</b> | <b>43</b> | <b>44</b> | <b>45</b> | <b>46</b> | <b>67</b> | <b>68</b> | <b>69</b> | <b>70</b> | <b>71</b> | <b>72</b> |
| <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  |           |           |           |           |           |           |
| <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> | <b>Z2</b> |           |           |           |           |           |           |
| +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         |           |           |           |           |           |           |
| <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  |           |           |           |           |           |           |
| <b>47</b> | <b>48</b> | <b>49</b> | <b>50</b> | <b>51</b> | <b>52</b> | <b>53</b> | <b>54</b> | <b>55</b> | <b>56</b> |           |           |           |           |           |           |
| <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  | <b>A</b>  |           |           |           |           |           |           |
| <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> | <b>Z3</b> |           |           |           |           |           |           |
| +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         | +         |           |           |           |           |           |           |
| <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  | <b>O</b>  |           |           |           |           |           |           |



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  |
| O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   |
| 145 | 146 | 147 | 148 | 149 | 150 | 151 | 152 | 153 | 154 | 175 | 176 | 177 | 178 | 179 | 180 |
| A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   |     |     |     |     |     |     |
| Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  |     |     |     |     |     |     |
| ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  |     |     |     |     |     |     |
| O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   |     |     |     |     |     |     |
| 155 | 156 | 157 | 158 | 159 | 160 | 161 | 162 | 163 | 164 |     |     |     |     |     |     |
| A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   |     |     |     |     |     |     |
| Z3  | Z3  | Z3  | Z3  | Z3  | Z3  | Z3  | Z3  | Z3  | Z3  |     |     |     |     |     |     |
| ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  |     |     |     |     |     |     |
| O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   |     |     |     |     |     |     |
| 165 | 166 | 167 | 168 | 169 | 170 | 171 | 172 | 173 | 174 |     |     |     |     |     |     |
| A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | B   | B   | B   | B   | B   | B   |
| Z1  | Z1  | Z1  | Z1  | Z1  | Z1  | Z1  | Z1  | Z1  | Z1  | X1  | X1  | X2  | X2  | X3  | X3  |
| ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  |
| O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   |
| 181 | 182 | 183 | 184 | 185 | 186 | 187 | 188 | 189 | 190 | 211 | 212 | 213 | 214 | 215 | 216 |
| A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   |     |     |     |     |     |     |
| Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  |     |     |     |     |     |     |
| ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  |     |     |     |     |     |     |
| O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   |     |     |     |     |     |     |
| 191 | 192 | 193 | 194 | 195 | 196 | 197 | 198 | 199 | 200 |     |     |     |     |     |     |
| A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   | A   |     |     |     |     |     |     |
| Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  | Z2  |     |     |     |     |     |     |
| ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  |     |     |     |     |     |     |
| O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   | O   |     |     |     |     |     |     |
| 201 | 202 | 203 | 204 | 205 | 206 | 207 | 208 | 209 | 210 |     |     |     |     |     |     |

**CLAVE:**

O = 1,5 % (color azul)

O = 5 % (color verde)

O = 10% (color rojo)

+=Saboraud

++=Micocel

A=Planta

B=Testigo

Z1= *M. gypseum*Z2= *E. floccosum*Z3= *M. rubrum*X1= *M. gypseum*X2= *E. floccosum*X3= *M. rubrum*

**ANEXO VI**

**FOTOS DE LA INVESTIGACION**