

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



SANDRA PAOLA MARCHORRO RIVERA

Para optar al título de

QUÍMICA BIÓLOGA

Guatemala, junio de 2007

DL
06
T(2523)

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cobar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Ángel Damián Reyes Valenzuela	Vocal IV
Br. Ángel Jacobo Conde Pereira	Vocal V

ACTO QUE DEDICO

A DIOS: Por ser mi guía, fuerza y luz de mi vida, y gracias a Él compartir este triunfo con las personas que más amo.

A mis Padres: Darío y Sonia. Por ser tan maravillosos conmigo y darme todo su amor, su apoyo y su confianza; ya que con sus consejos me han hecho la persona que soy ahora. Gracias por todo lo que han hecho por mí, los amo muchísimo.

A mis Abuelitos: Jorge Rivera (+) y Salomé de Rivera. Gracias porque han sido y seguirán siendo mis padres también, porque con su amor, su ejemplo y sus consejos me han hecho una mejor persona. Los amo muchísimo. Y a mis abuelos Amancio Marchorro (+) y Concepción Villanueva, con cariño.

A mis Hermanas: Sussan y Silvia. Por ser mis mejores amigas, estar siempre conmigo, darme su cariño y apoyo incondicional. Las quiero muchísimo.

A mi Familia: Mis tíos Erwin, Sandra, Lesbia y Blanca; mis primos Erwin, Mónica y Jessica; mis cuñados Augusto y Nestor; mis sobrinos Jorge Eduardo (+), David Alejandro y Erwin José; por su amor, su apoyo, sus consejos y estar siempre conmigo. Los quiero mucho. A mi novio Walter, por estar siempre a mi lado, dándome su amor, su apoyo, ser muy especial y formar parte de mi vida. Te amo.

A mis Amigas y Amigos: Majo Rivera, Wendy, Paty, Jessica, Majo Aguilar, Rosibel, Vinicio, William, Erick, mis amigas de EPS Carmen María y Paty; gracias por su amistad, cariño y apoyo. Y a mis compañeros de promoción con cariño.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, especialmente a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

A mi asesor Lic. Armando Cáceres, por toda su colaboración y apoyo en la realización de este trabajo de tesis.

A mis revisores Licda. María Luisa García de López y Dr. Roberto Flores, por su importante ayuda y apoyo en esta investigación.

Al personal docente y administrativo del Departamento de Citohistología, por su colaboración en esta investigación, en especial a la Licda. Isabel Gaitán por su apoyo y amistad.

Al Laboratorio FARMAYA, por su colaboración en la obtención de las plantas estudiadas en este trabajo de tesis.

A la Organización de Estados Americanos OEA a través del Proyecto Flora Regional de Centro América, por su apoyo económico en la realización de esta investigación.

ÍNDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCIÓN	3
III.	ANTECEDENTES	5
	A. ESPOROTRICOSIS	5
	B. CROMOBLASTOMICOSIS	9
	C. MEDICINA TRADICIONAL	12
IV.	JUSTIFICACIÓN	18
V.	OBJETIVOS	19
VI.	HIPÓTESIS	20
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	21
VIII.	RESULTADOS	28
IX.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	30
X.	CONCLUSIONES	33
XI.	RECOMENDACIONES	34
XII.	REFERENCIAS	35

I. RESUMEN

Las micosis subcutáneas son producidas por hongos que se introducen en la piel como consecuencia de un traumatismo y afectan los tejidos subcutáneos, los vasos linfáticos y los tejidos vecinos. Las principales afecciones son la esporotricosis, la cromoblastomycosis y el micetoma.

La esporotricosis es una micosis fúngica crónica causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*. La cromoblastomycosis es una micosis subcutánea crónica de naturaleza granulomatosa, causada por hongos saprófitos del suelo o dermatiáceos. Ambas se presentan en regiones tropicales y subtropicales. En el tratamiento de la esporotricosis se utilizan los yoduros por ser una terapia eficaz y barata para la forma cutánea, aunque producen muchas reacciones secundarias; también se usa la anfotericina B pero es demasiado tóxica y se utiliza en la forma diseminada. En la cromoblastomycosis, el hongo es bastante resistente al tratamiento, por lo que se utilizan fármacos como la 5-fluorocitocina y la anfotericina-B, pero ambos presentan efectos secundarios y deben usarse por tiempo prolongado.

Considerando la toxicidad y efecto de los fármacos que se emplean en la actualidad, es importante la búsqueda de nuevas alternativas para el tratamiento de las micosis subcutáneas como una opción de terapéutica más saludable. Además, debido a que Guatemala es un país rico en recursos naturales, en el que muchas de sus plantas tienen un uso etnomédico, conviene analizar la capacidad antifúngica de especies locales que presenten alguna función antibiótica.

En el presente estudio se seleccionaron seis plantas (hoja de *Bixa orellana*, corteza de *Byrsonimia crassifolia*, hoja de *Eupatorium odoratum*, hoja de *Guazuma ulmifolia*, hoja de *Litsea guatemalensis* y corteza *Rhizophora mangle*), con el objeto de demostrar si extractos etanólicos de estas plantas poseen actividad antifúngica contra los hongos *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*.

El ensayo demostró que los resultados del tamizaje de la actividad antifúngica fue negativa por parte de los seis extractos contra la fase micelial de *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*, considerando como punto de corte una concentración de 0.2 mg/mL. Además, el resultado del tamizaje de la actividad antifúngica contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii* resultó igualmente negativa.

Con los resultados anteriores queda demostrado que estas plantas nativas, seleccionadas por su referencia antibacteriana y antifúngica, y en una concentración de 0.2 mg/mL no poseen actividad antifúngica contra *S. schenckii* y *F. pedrosoi*. Acorde a resultados de investigación sobre actividad antifúngica con plantas nativas, se ha visto conveniente reducir la concentración de extracto a niveles inferiores a 1.0 mg/mL, para determinar principios activos altamente eficaces y que funcionen en bajas concentraciones del extracto vegetal. En este estudio se utilizó la concentración de 0.2 mg/mL por haberse determinado como efectiva en otras investigaciones similares con plantas locales (48,49). Por otro lado, los hongos subcutáneos son patógenos de difícil tratamiento, pues no responden a los antibióticos más frecuentes y se requiere de medicamentos más fuertes y con efectos secundarios. Esta tesis es un aporte para el conocimiento de plantas con actividad antifúngica, que no han sido estudiadas, y que pueden mejorar el tratamiento de afecciones dérmicas.

Se recomienda seguir realizando otros estudios con extractos de plantas nativas guatemaltecas contra hongos que provocan micosis subcutáneas, para obtener nuevas alternativas para el tratamiento de las mismas.

II. INTRODUCCIÓN

Las micosis subcutáneas son producidas por hongos que se introducen a través de la piel como consecuencia de un traumatismo, afectando los tejidos subcutáneos, los vasos linfáticos y los tejidos vecinos. Las enfermedades que provocan son la esporotricosis, la cromoblastomicosis y el micetoma.

La esporotricosis es una micosis fúngica crónica causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*, en la que puede haber diseminación hematógena con posterior localización osteoarticular, aparato genitourinario, sistema nervioso central, en los ojos del huésped inmunocompetente y enfermedad multifocal en el huésped inmunodeprimido. La esporotricosis puede presentarse en todas las edades y afecta principalmente a varones. Es una infección característica de regiones tropicales y subtropicales. La utilización de yoduros es una terapia eficaz y barata para la forma cutánea, aunque producen muchas reacciones secundarias; además la anfotericina B es demasiado tóxica y se utiliza en la forma diseminada (1-3, 8,10, 20-22).

La cromoblastomicosis es una micosis subcutánea crónica de naturaleza granulomatosa, causada por hongos saprófitos del suelo o dermatiáceos, y se produce en regiones tropicales y subtropicales. Existen cuatro especies que causan la cromoblastomicosis. En Guatemala *Fonsecaea pedrosoi* ha sido la única especie reportada, afectando principalmente a hombres entre la tercera y quinta década de la vida. Se han descrito casos de extensión al sistema nervioso central y lesiones de la piel que originaron linfangitis y linfadenitis bacterianas. El hongo es bastante resistente al tratamiento, por lo que se utilizan fármacos como la 5-fluorocitocina y la anfotericina-B, pero ambos presentan efectos secundarios y deben usarse por tiempo prolongado (15, 20, 21, 25).

Desde hace siglos se han utilizado a las plantas como materia prima para la realización de remedios caseros para diversos padecimientos. Hoy día, la fitoterapia está siendo aceptada como una herramienta médica en el uso de materia vegetal

como tratamiento curativo. En el presente estudio se han escogido seis plantas (hoja de *Bixa orellana*, corteza de *Byrsonima crassifolia*, hoja de *Eupatorium odoratum*, hoja de *Guazuma ulmifolia*, hoja de *Litsea guatemalensis* y corteza *Rhizophora mangle*) con el objetivo de demostrar si poseen actividad antifúngica en extractos etanólicos contra los hongos *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*. Estas plantas fueron seleccionados por referencia de su uso etnomédico en afecciones cutáneas y con base en su actividad antimicrobiana en investigaciones previas (25-41).

III. ANTECEDENTES

A. ESPOROTRICOSIS

1. Definición de la enfermedad

La esporotricosis es una micosis de curso subagudo o crónico, caracterizada por lesiones nodulares en el tejido cutáneo y nódulos linfáticos adyacentes que casi siempre son ascendentes, ulcerosos y supurativos. Se puede diseminar, en raras ocasiones, a huesos, articulaciones, músculos y órganos internos, afectando pulmones, sistema genitourinario y sistema nervioso (1).

2. Agente etiológico

La esporotricosis es causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*, el cual se adquiere por traumatismo de la piel con material infectado. La forma más común de adquirir la enfermedad es por heridas con espinas, astillas, cortadoras con púas o al manipular tierra de alfarería, musgo o pasto; además se han reportado casos por manipular pescado, rasguños de gato, mordeduras de loro, perro o picaduras de insecto. El personal de mayor exposición ocupacional son los jardineros, trabajadores de la salud y mineros (1,2,3,4).

El hongo puede presentar dos fases: una fase miceliar o saprofitica, que se encuentra en la naturaleza en forma de micelio septado, hialino y fino, con conidias de dos tipos: una globosa formando rosetas (conidióforos) y otro con conidias solitarias que terminan al final de la hifa. Cultivado a temperatura ambiente es de color blanco cremoso que luego se oscurece hasta un color negro característico (3,5,6).

La fase parasítica (encontrada en el material de las lesiones), son levaduras redondas a ovaladas. Se puede cultivar *in vitro* en agar Infusión cerebro-corazón, con o sin sangre, en anaerobiosis, durante una a tres semanas a 37°C. La colonia de la levadura es pastosa, pequeña, de color crema (3,5).

Una variedad de hongos sintetiza distintivos pigmentos cafés oscuros o negros llamados melaninas. En estudios recientes, las melaninas parecen ser un

importante factor de virulencia, aunque su mecanismo todavía es incierto. El pigmento oscuro de *S. schenckii* se ha encontrado exclusivamente en los conidios, que son las estructuras infectantes de estos organismos. Algunos resultados demuestran que la melanina protege a *S. schenckii* contra ciertos compuestos oxidativos bacterianos y contra el ataque de macrófagos. Se ha sugerido que las melaninas previenen que *S. schenckii* sea aniquilado y, durante la infección, afecta los mecanismos de defensa del hospedero reduciendo la fagocitosis; estos descubrimientos fundamentan la posibilidad de que los pigmentos oscuros sean un factor de virulencia (7).

3. Epidemiología

Sporothrix schenckii se ha observado en todos los continentes, pero tiene mayor incidencia en zonas templadas y subtropicales, tanto en climas secos como en húmedos, ya que la humedad y la temperatura juegan un papel importante en su hábitat (8,9).

S. schenckii se encuentra ampliamente distribuido alrededor del mundo. En Guatemala la predisposición para adquirir la enfermedad se asocia a la agricultura, pero en otras latitudes se debe a exposición ocupacional por jardinería y agricultura. La esporotricosis puede presentarse en todas las edades pero afecta principalmente a los varones por el riesgo de exposición, aunque puede variar dependiendo de la región (1,10).

En Guatemala, la enfermedad fue descrita por primera vez en 1931, y Wyss en 1937, describió nueve casos adicionales, de los cuales cuatro provenían del departamento de Santa Rosa (13). Posteriormente, Solórzano Mota (14) informó de 34 casos atendidos en un hospital de la ciudad de Guatemala. Se han reportado casos en la laguna de Ayarza, en el departamento de Santa Rosa, área endémica de *Sporothrix schenckii*. Además, se han establecido algunos focos endémicos en los departamentos de San Marcos y Chimaltenango, además de la Capital y casos esporádicos en zonas consideradas no endémicas (2,11-15).

Se han realizado varios estudios epidemiológicos donde se ha determinado que la esporotricosis es la micosis subcutánea más frecuente en Guatemala, con predominio del sexo masculino, siendo la agricultura el principal riesgo de exposición (15-17). El dato más reciente es de 1994, cuando se reportaron 285 casos confirmados por el Laboratorio de Micología de la Policlínica del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) y el Servicio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala (15). Aunque no existan datos más recientes, se considera que el número de casos ha ido en aumento (16-17).

4. Cuadro clínico

La esporotricosis se caracteriza por la aparición típica de un nódulo pequeño y duro en el lugar de inoculación o con la forma de un dedo que aumenta de tamaño lentamente y luego se transforma en una úlcera. Durante los días o semanas siguientes, la infección se propaga a través de los vasos linfáticos del dedo, la mano y el brazo y llega a los ganglios, formando nódulos y úlceras a lo largo del trayecto. Por lo general, no hay otros síntomas. Ciertos factores del huésped como malnutrición, alcoholismo, alteración de la inmunidad, pueden predisponer a infección (18).

5. Tipos de esporotricosis

a) Esporotricosis mucocutánea

Se presenta como lesiones eritematosas supurativas y ulcerativas que se convierten posteriormente en granulomatosas, vegetativas o papilomatosas. Se localizan en la boca, faringe, cuerdas vocales y nariz. Estas lesiones son dolorosas y con tendencia al sangrado (1).

b) Esporotricosis linfocutánea

Se inicia con la aparición de una lesión papulonodular eritematosa, generalmente indolora, que crece durante días o semanas. El tiempo de incubación es de aproximadamente tres semanas, pero en algunos casos puede llegar a ser de meses. Las lesiones pueden ser lisas o verrucosas

pero con tendencia a la ulceración, supuración y desarrollo de bordes eritematosos. La localización más frecuente es en las extremidades inferiores, aunque pueden presentarse en cualquier lugar. Pueden desarrollarse adenopatías regionales o locales. A pesar que la lesión inicial puede persistir como única, la tendencia es al desarrollo de otras lesiones que siguen el trayecto de la diseminación linfática. En los días posteriores a la aparición de la lesión primaria, aparecen múltiples nódulos a lo largo de los vasos linfáticos con una evolución similar a la inicial, pero con tendencia a ser más granulomatosas y persistir durante más tiempo (19).

c) Esporotricosis extracutánea

La forma más frecuente es la osteoarticular, que se caracteriza por una artritis destructiva. Las articulaciones mayores de las extremidades (mano, codo, tobillo y rodilla) son las más frecuentemente afectadas; además se puede presentar lesiones cutáneas y subcutáneas (19).

La esporotricosis pulmonar es muy rara y se adquiere al inhalar las esporas del hongo. Se desarrolla en pacientes con alguna enfermedad inmunosupresora como el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), tuberculosis pulmonar, diabetes, alcoholismo o en pacientes con tratamiento prolongado con corticosteroides. El hongo da lugar a una enfermedad asintomática, que sin tratamiento puede progresar hacia necrosis caseosa, alteración de la función pulmonar y en ocasiones a diseminarse a otros órganos (20).

La afección meníngea es una localización poco frecuente. Clínicamente se manifiesta como una meningitis crónica con cefalea, confusión y pérdida de peso, pleocitosis en el líquido cefalorraquídeo, aumento de las proteínas e hipogluorraquia. El diagnóstico diferencial debe establecerse con tuberculosis, criptococosis e histoplasmosis (19).

d) Esporotricosis multifocal extracutánea

Es poco frecuente y generalmente se observa en pacientes con enfermedades de base como diabetes, tratamiento prolongado con corticosteroides, neoplasias, sarcoidosis, enfermedades hematológicas,

infecciones por el Sida y alcoholismo. Puede diseminarse de vía linfática o hematológica; las lesiones se localizan en la piel, huesos y músculos, pero puede afectar otros órganos tales como tracto genitourinario, sistema nervioso central, hígado, bazo, páncreas, miocardio y tiroides (3,20).

5. Diagnóstico

En el diagnóstico, una buena toma de muestra es importante para obtener por aspiración el material de las lesiones purulentas (nódulos, úlceras o pústulas) y en los casos que fuese necesario, tejido por medio de una biopsia. Se hace una evaluación del material obtenido con un examen en fresco (observando cuerpos asteroides) y una coloración de Giemsa (levaduras). El diagnóstico se confirma por medio de un cultivo. También se pueden realizar estudios histológicos e inmunológicos (15,19).

6. Tratamiento

Todas las formas de esporotricosis requieren de tratamiento. El tratamiento clásico para la esporotricosis cutánea es la ingestión de una solución saturada de yoduro de potasio. En la esporotricosis pulmonar y diseminada se utiliza la anfotericina-B como tratamiento de elección, ya que es un antimicótico más agresivo y que produce mejor respuesta pero produce efectos secundarios como fiebre, escalofríos, anorexia, cefalea, náusea, vómitos e insuficiencia renal. Se puede utilizar 5-fluorocitocina, sola o en combinación de anfotericina-B, pero también se producen efectos secundarios y no siempre con los resultados deseados (20-22).

B. CROMOBLASTOMICOSIS

1. Definición de la enfermedad

La cromoblastomicosis es una micosis crónica granulomatosa producida por hongos dermatiáceos, que afectan la piel y los tejidos blandos, que se caracteriza

por lesiones cutáneas de curso crónico y aspecto nodular, papilomatoso, hiperqueratósico o aplanado (20).

2. Agente etiológico

Esta micosis subcutánea es provocada por hongos de la familia *Dematiaceae*; los principales agentes etiológicos son *Fonsecaea pedrosoi*, *F. compactum*, *Phialophora verrucosa* y *Cladophialophora carrionii*. En Guatemala, *Fonsecaea pedrosoi* es la única especie reportada. Todos ellos viven en el suelo, en los vegetales y sobretodo en la pulpa de la madera. La penetración del hongo en la piel ocurre a través de una herida o traumatismo por astillas de madera, lo que es más frecuente en campesinos y leñadores principalmente del sexo masculino, entre la tercera y quinta década de la vida, quienes se exponen durante sus labores diarias (15,20).

El cultivo crece lentamente dando una colonia color pardo negruzco, negro grisáceo, verde oliva grisáceo o negro. Su textura es aterciopelada-vellosa, su superficie varía de plana a apilada y plegada. Algunas cepas presentan radiación o disposición en zonas. En su morfología microscópica, puede presentar tres tipos de esporulación: a) tipo *Cladosporium*, b) tipo *Rinocladiella* y c) algunas veces tipo fialófora, dependiendo del medio de cultivo (3).

Mientras que no todos los hongos patógenos son melanóticos, hay un grupo grande de hongos invasivos potenciales que tienen en común la producción de melaninas, que son pigmentos complejos de alto peso molecular formados por polimerización oxidativa de compuestos fenólicos y son usualmente cafés oscuros o negros. Las melaninas son también las más estables, insolubles y resistentes de los materiales bioquímicos, por lo que claramente promueven la virulencia (23).

3. Epidemiología

Fonsecaea pedrosoi se encuentra en la vegetación en descomposición, madera en putrefacción y en el humus de los bosques, de donde se ha aislado. Se encuentra tanto en climas tropicales y subtropicales húmedos. No tiene zona

endémica establecida, pero afecta principalmente a los trabajadores del campo, tal y como se ha mencionado anteriormente (15,20).

Dentro de las micosis subcutáneas en Guatemala, ésta ocupa el tercer lugar con *Fonsecaea pedrosoi* (15, 24).

4. Cuadro clínico

En el sitio de la inoculación aparece una pápula o placa que se desarrolla en semanas o meses, adquiriendo forma verrucosa. Las lesiones antiguas se aclaran en su parte central y pueden ulcerarse; se localizan preferentemente en los miembros inferiores, aunque también puede aparecer en miembros superiores, la cara u otra parte del tegumento. La mayoría de lesiones son solitarias o pueden estar agrupadas, evolucionan en forma moderada o severa, sin tendencia a curarse espontáneamente y pueden infectarse secundariamente, provocando linfoedema y elefantiasis dando lugar, ocasionalmente, a carcinoma epidermoide (25).

5. Diagnóstico

En el examen directo se puede hacer presión sobre las lesiones y obtener un poco de material seropurulento en el cual se encuentran las células fumagoides, que son estructuras unicelulares de pared gruesa y tabicadas, ya que se reproducen por gemación interna. Estas estructuras se agrupan en forma de racimo o "mora" (ésta es la fase parasitaria de la enfermedad). En el cultivo con medio de Sabouraud, se producen colonias negras o azuladas, lodosas y aterciopeladas. En la biopsia se encuentran granulomas tuberculoides y van a estar presentes las células fumagoides. En estudios de bioquímica fúngica *in vitro*, se ha demostrado que el factor activador de las plaquetas favorece la conversión de la fase miceliar del hongo a células fumagoides. Estos estudios han logrado contribuir a una diferenciación en el diagnóstico, y conocer la patogenicidad del hongo en el hospedero (25,26).

6. Tratamiento

El hongo es bastante resistente al tratamiento. En casos localizados se puede emplear la cirugía, extirpando completamente la lesión, electrodesecación o criocirugía. Además se utilizan los fármacos Itraconazol, 5-fluorocitocina y anfotericina B, algunas veces combinándolos; los cuales pueden presentar efectos secundarios como náuseas, vómitos, enterocolitis y depresión de la médula ósea, y no siempre se obtiene el resultado esperado (21).

C. MEDICINA TRADICIONAL

1. Fitoterapia

La fitoterapia es el tratamiento de las enfermedades con plantas medicinales. La parte activa de la planta medicinal está formada por numerosos componentes y su acción farmacológica la mayoría de las veces es superior a la que se obtiene con los principios activos aislados, es decir sus componentes actúan sinérgicamente. Desde sus inicios, la fitoterapia no ha dejado de progresar gracias a los avances de la ciencia, y hoy en día ocupa el lugar que merece dentro del marco de la salud. En muchos países las plantas representan una herramienta terapéutica de la medicina tradicional, ya que producen diversos compuestos químicos que pueden ser activos contra patógenos del hombre; sin embargo, hay muy pocos estudios de actividad antibiótica contra *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi* por medio de extractos vegetales (27). En Perú, se estudiaron 36 extractos de 24 plantas contra diferentes bacterias y hongos, por el método de difusión en agar, encontrándose actividad de algunos extractos contra *Sporothrix schenckii* (28).

En Guatemala, existen diversas instituciones dedicadas a realizar estudios *in vitro*, para determinar las propiedades antibacteriana, antifúngicas, antiparasitarias, efectos antitumorales y de toxicidad celular de los extractos de plantas. Entre estas instituciones se encuentran la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, la

Universidad del Valle de Guatemala, el Centro de Estudios Mesoamericanos sobre Tecnología Apropriada (CEMAT) y el Laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos (FARMAYA) (29).

2. Monografía de las plantas en estudio

a) *Bixa orellana* L.

i) Familia

Bixaceae

ii) Nombres comunes

Achiote, Aneto, Bija, Ox

iii) Descripción taxonómica

Árbol pequeño hasta 5 m de altura. Hojas alternas acorazonadas, flores grandes con pétalos de color blanco o rosado. Estambres numerosos de color morado. El fruto es una cápsula de 3 cm, color café y completamente cubierto con espinas. En la cápsula se encuentran muchas semillas rodeadas de una pulpa de color rojo (25).

iv) Distribución geográfica

Es nativa de América Tropical, originaria de Centroamérica que se encuentra en las montañas y lugares frescos. En Guatemala se cultiva en: Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chiquimula, El Progreso, Escuintla, Izabal, Jutiapa, Quetzaltenango, Sacatepéquez, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (25-26).

v) Usos populares y medicinales

Se utiliza para disentería, sarampión, resaca, diarrea, erupciones en la piel, caspa en el cabello, caída del cabello, vómitos, cefalea, hepatitis, fiebre, gripe, dolor de oídos, dolor del estómago, erisipela, debilidad (27).

vi) Estudios realizados

Los extractos etanólicos de fruto y hoja muestran actividad

antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhi* (29).

b) *Byrsonima crassifolia* L. (HBK)

i. Familia

Malpighiaceae

ii. Nombres comunes

Nance, Chi, Carbo, Nanche, Nanzín, Tapal, Zacpah

iii. Descripción taxonómica

Árbol de 3-10 m de alto, copa redondeada o extendida, tronco recto, corteza café oscuro, rugosa y rosada por dentro. Hojas siempre verdes, opuestas, ovaladas o elípticas, coriáceas. Flores de 5 pétalos, amarillas o anaranjadas. Fruta en drupa, piel delicada, amarilla, tiene una semilla negra muy dura(27) .

iv. Distribución geográfica

Nativo de México a Sur América y Caribe en bosques secos y tropicales. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Chiquimula, El Progreso, El Quiché, Escuintla, Huehuetenango, Izabal, Jalapa, Jutiapa, Petén, Quetzaltenango, Retalhuleu, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (29).

v. Usos populares y medicinales

Se utiliza para afecciones respiratorias, digestivas, dolor de muelas, hemorragias, mordedura de serpientes, parásitos, disentería (31).

vi. Estudios realizados

Además, hay estudios que demuestran que tiene actividad antibacteriana contra *E. coli*, *Streptococcus pneumoniae* y *S. pyogenes*; y actividad antifúngica contra *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. stellatoidea* (32-34) .

c) *Eupatorium odoratum* L.

i. Familia

Compositae

ii. Nombres comunes

Ciguapate, curarina de monte, canutillo, mejorana

iii. Descripción taxonómica

Arbusto muy ramificado de 1-3 ms, ramas recurvas, extendidas, velloso y variando de pubescente a casi liso; hojas membranáceas, peciolo delgado, variables en tamaño y formas; las hojas superiores angostas, dentadas gruesas, variando de lisas a tomentosas; florescencia abundante y extensa, convexas o con corona plana; flores azules o blancas, generalmente pediceladas, aquenios pardos o negros, escabrosos (27).

iv. Distribución geográfica

Es una maleza en campos abandonados, crece en matorrales húmedos o secos desde el sur de México a Panamá y el sur de Argentina; también al sur de Florida y el Caribe (27).

v. Estudios realizados

Estudios demuestran que presenta actividad antibacteriana contra *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *S. aureus* y *Aspergillus niger* (33).

d) *Guazuma ulmifolia* Lam.

i. Familia

Sterculiaceae

ii. Nombres comunes

Caulote, Chicharrón, Guacimillo, Guácimo blanco, Tablote, Tapaculo, Coco.

iii. Descripción taxonómica

Arbusto o árbol de 2-20 metros, hojas oblongas a anchamente aovadas, agudas a acuminadas, aserradas, estrellado-tomentosas; flores amarillentas, fragantes, en cimas axilares

pequeñas; cáliz estrellado-tomentoso, fruto leñoso, globoso u oval, con tubérculos duros (27).

iv. Distribución geográfica

Es nativa y abundante de regiones húmedas y secas de México y Centro América, Perú y Paraguay. En Guatemala se ha descrito en los departamentos de: Zacapa, Chiquimula, El Progreso, Guatemala, Petén, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Izabal, Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Suchitepéquez, Retalhuleu, San Marcos y Huehuetenango (35).

v. Usos populares y medicinales

Se usa como antigripal, para la fiebre, depurativo, antidisentérico, diurético, antidiarreico, para sarampión. Remedio contra malaria, sífilis, enfermedades de la piel, calvicie y gonorrea, afecciones del hígado y riñones, afecciones gastrointestinales (36).

vi. Estudios realizados

Se ha demostrado que tiene actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus* (36).

e) *Litsea guatemalensis* Mez.

i. Familia

Lauraceae

ii. Nombres comunes

Laurel, Aguardel, Laurelillo, Sufricalla, Zit-zuch

iii. Descripción taxonómica

Árbol pequeño hasta 6 metros de alto, ramas delgadas, caféas. Hojas coriáceas, peciolo elíptico-lanceoladas, agudas en la base, lustrosas, glabras. Flores axilares, solitarias (30).

iv. Distribución geográfica

Nativo de México y Centro América en terrenos húmedos y secos. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja

Verapaz, Chiquimula, Huehuetenango, Jutiapa, Quetzaltenango, San Marcos y Zacapa (38).

v. Usos populares y medicinales

Se utiliza en afecciones respiratorias, hinchazón, enfermedades gastrointestinales y mordeduras de perro y culebra; por vía tópica se usa en úlceras, piernas hinchadas y epilepsia (37).

vi. Estudios realizados

Estudios han demostrado actividad antifúngica *in vitro* contra *C. albicans* (38).

f) *Rhizophora mangle* L.

i. Familia

Rhizophoraceae

ii. Nombres comunes

Mangle, Mangle colorado

iii. Descripción taxonómica

Árbol pequeño de 4-7 m o más de altura, siempre verde, con tronco erecto de 20 cm pulgadas o más de diámetro. (39).

iv. Distribución geográfica

Abunda en manglares o pantanos a lo largo de la costas del centro y sur de Florida, y a través de las Antillas hasta Trinidad y Tobago. Se encuentra en la zona tropical en ambas costas del continente desde México hasta el sur de Ecuador y Noroeste de Perú hasta Brasil (39).

v. Usos medicinales

Se utiliza en afecciones gástricas (úlceras), antiséptico y como promotor de cicatrización (40,41).

IV. JUSTIFICACIÓN

Las micosis subcutáneas se caracterizan por afectar la dermis, el tejido subcutáneo, vasos linfáticos y tejidos vecinos. Los micro o macrotraumatismos de la piel o de las mucosas, facilitan la penetración de las esporas de los hongos que participan en la infección y que habitualmente se encuentran en el medio ambiente.

En la actualidad la búsqueda de alternativas para el tratamiento de las micosis subcutáneas se ha convertido en una necesidad para reducir o eliminar todo efecto secundario por el uso prolongado y la necesidad de medicamentos más seguros. Actualmente, la fitoterapia usa como herramienta los preparados de partes de árboles como tratamientos curativos.

Dentro de las micosis subcutáneas de importancia médica en el país, se encuentran la esporotricosis y la cromoblastomicosis, que son características de regiones tropicales y subtropicales, producen infecciones crónicas y pueden llegar a afectar varios órganos. Existen algunos medicamentos para el tratamiento, como yoduro de potasio, anfotericina-B y 5-fluorocitocina que son los de elección, pero producen muchas reacciones secundarias, como daño renal.

Por lo anterior, es importante buscar nuevos productos con actividad antifúngica como una opción de terapéutica adecuada. Las plantas seleccionadas por referencia de su uso etnomédico y en base a investigaciones previas, han demostrado que poseen capacidad antibacteriana y que podrían llegar a ser efectivas contra hongos para el tratamiento de afecciones subcutáneas, con la ventaja de mayor disponibilidad del producto y de producirse a un precio más accesible para las personas de escasos recursos.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Establecer si existe actividad antifúngica en seis extractos de plantas guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*.

B. Objetivos Específicos

1. Determinar si existe actividad antifúngica *in vitro*, en extractos etanólicos de *Bixa orellana*, *Byrsonimia crassifolia*, *Eupatorium odoratum*, *Guazuma ulmifolia*, *Litsea guatemalensis* y *Rhizophora mangle* contra la fase micelias de *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*.
2. Determinar si existe actividad antifúngica *in vitro* de los seis extractos etanólicos anteriores contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*.
3. Determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos etanólicos de las plantas que presenten actividad antimicótica.

VI. HIPÓTESIS

Por lo menos un extracto etanólico posee actividad antifúngica *in vitro* contra la fase miceliar de *Sporothrix schenckii* o *Fonsecaea pedrosoi*, y uno contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. UNIVERSO DE TRABAJO

1. Universo

Plantas de uso popular y medicinal en Guatemala.

2. Muestra

- a) Hongos: Cepas de *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi* aisladas de muestras clínicas y proporcionadas por el Servicio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- b) Árboles: Extractos etanólicos de seis árboles nativos de Guatemala, cuya actividad antimicótica contra la esporotricosis y la cromoblastomycosis no ha sido estudiada con anterioridad, pero que han sido seleccionadas por su uso medicinal reportado para enfermedades cutáneas o que poseen propiedades antibacterianas o antiparasitarias que las hacen efectivas para el tratamiento de otras afecciones. Los extractos en estudio son: *Bixa orellana* (hoja), *Byrsonima crassifolia* (corteza), *Eupatorium odoratum* (hoja), *Guazuma ulmifolia* (hoja), *Litsea guatemalensis* (hoja) y *Rhizophora mangle* (corteza).

3. Materiales

- a) Equipo
 - Autoclave OMRON Miny Manual Timer STMW Y222
 - Balanza analítica Mettler AE 200 y Mettler PM 600
 - Cabina de Bioseguridad Labconco Purifies Class II Biosafety Cabinet
 - Incubadora Fisher Scientific Isotemp 37°C
 - Mechero Bunsen

- Microscopio Olympus MAX B 201
- Refrigeradora de 4-8°C ADMIRAL dualtemp
- Vortex Thermolyne Maxi Mix II 27600

b) Reactivos

- Agar Sabouraud
- Agar Mueller Hinton
- Agua desmineralizada
- Anfotericina B
- Etanol al 50%
- Etanol al 70%
- Fenol al 5%
- Medio Takashio
- Sangre de carnero
- Solución salina estéril

c) Materiales

- Asa de nicromo en espátula o en L
- Beakers de 250 y 500 ml
- Cajas de Petri
- Cámara de Newbauer
- Campanillas de Durham
- Erlenmeyer con tapón de rosca de 250 ml
- Erlenmeyer de 250 y 500 ml
- Espátula
- Fósforos
- Frascos con tapón de rosca
- Pipetas automáticas de 10-1000 μ l
- Probeta de 100 ml
- Tips amarillos de 10-100 μ l
- Tips azules de 100-1000 μ l

- Tubos de vidrio con tapadera de rosca de 15 ml

4. Procedimiento

a) Obtención del extracto de las plantas

- Los extractos etanólicos de las plantas a utilizar fueron proporcionados por el Laboratorio de Preparación de extractos y bioensayos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Dichos extractos se obtuvieron por percolación y concentración en rotavapor del material de la planta.

b) Tamizaje o evaluación de la actividad antifúngica de los extractos contra la fase miceliar de *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*.

ii) Preparación del medio de cultivo (agar-planta)

- Preparar tubos con 13.5 ml de agar Sabouraud.
- Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos, dejar enfriar a 50°C y agregar 1.5 ml del extracto de la planta a probar. Agitar.
- Verter el medio de cultivo en cajas de Petri plásticas estériles, dejar solidificar e incubar a 36°C durante 24 horas para comprobar su esterilidad. Guardar en refrigeración hasta el momento de su uso.

iii) Preparación del inóculo

- Preparar medio Takashio para la esporulación del hongo con 0.6 g de dextrosa, 0.3 g de sulfato de sodio, 0.3 g de fosfato diácido de potasio, 0.3 g de peptona y 0.6 g de agar-agar.
- Agregar 300 ml de agua desmineralizada y disolver.
- Servir 6 ml del medio preparado en tubos con tapón de rosca,

esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121°C y dejar solidificar con el mayor declive posible. Incubar 24 horas a 25°C para descartar contaminación.

- Sembrar en este medio el hongo con un asa de nicromo en L o en espátula e incubar a 27°C durante 21 días hasta obtener un crecimiento homogéneo.
- Agregar a cada tubo 2 ml de agua destilada estéril y desprender el hongo con una varilla o asa de nicromo.
- Trasvasar el material obtenido a tubos con tapones de rosca estériles. Agitar 1 minuto en vórtex y hacer un conteo de esporas en cámara de Neubauer.
- Preparar una suspensión de esporas de 100 esporas/ μ l (10 esporas por cuadrante) con agua estéril o solución salina estéril.

iv) Inoculación del hongo

- Se abre un agujero en las cajas con agar-extracto vegetal con campanillas de Durham estériles de 5 mm de diámetro.
- Tomar 30 μ l de la suspensión de esporas y depositarlos en los agujeros; incubar a 27°C por 14 días. Hacer un total de 4 repeticiones.
- Usar como control negativo una caja con agar Sabouraud y etanol al 50% (donde el hongo crece en un 100%), y como control positivo una caja con agar Sabouraud y anfotericina B (1.0 mg/ml, el cual inhibe totalmente el crecimiento del hongo).

v) Interpretación de resultados

- Medir el diámetro de la colonia del hongo en milímetros.
- Calcular el porcentaje de inhibición comparando el diámetro contra el de la colonia de la caja control negativo. Tomar como positivos los extractos que reducen el diámetro de la colonia en un 75% respecto al control negativo (100% de crecimiento); y

como negativos aquellos en los cuales la colonia crece más del 25%.

c) Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de las plantas contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*.

i) Preparación del medio de cultivo (agar-planta)

- Preparar agar Mueller Hinton. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121°C, dejar enfriar y agregarle sangre de carnero al 10%. Agitar.
- Servir 9 ml del medio de cultivo en cajas de Petri estériles y agregar 1.0 ml del extracto de la planta a probar; homogenizar y dejar solidificar. Incubar a 36°C por 24 horas para comprobar esterilidad. Guardar en refrigeración hasta el momento de su uso.

ii) Preparación del inóculo para hongos levaduriformes

- De la cepa en caja de agar Sabouraud se siembra en una caja con agar Mueller Hinton con sangre de carnero y se incuba a 36°C por 4 días para recuperar la levadura.
- Al recuperarse la levadura, se siembra en otra caja con agar Mueller Hinton con sangre de carnero a 36°C por 48 horas.
- Tomar un inóculo del cultivo fresco y sembrar en 5 ml de caldo Trypticase soya e incubar 24-48 horas.
- Tomar con una pipeta estéril 0.5 ml y suspender en 4.5 ml de solución salina estéril.

iii) Inoculación de levaduras en placa

- En las cajas con agar-extracto vegetal, inocular con un asa de nicromo, la suspensión de levaduras, haciendo cuatro estrías en medio de la caja.

- Incubar a 36°C durante 7 días.
- Para el control negativo sembrar por estrías la levadura en una caja de agar Mueller Hinton con sangre de carnero.

iv) Interpretación de resultados

- Observar el crecimiento de la levadura en el medio.
- Actividad antifúngica positiva: si no existe crecimiento en el medio.
- Actividad antifúngica negativa: si hay crecimiento de la levadura.

5. Diseño del estudio

a) Tipo de estudio

El estudio es experimental, con diseño completamente al azar. De acuerdo a la tabla de la función de distribución acumulada de la probabilidad binomial, el número mínimo de réplicas para cada caso fue 4, para un nivel $\alpha=0.10$.

b) Variables de interés

Variable independiente: plantas nativas guatemaltecas.

Variable dependiente: actividad antifúngica de los extractos etanólicos de las seis plantas seleccionadas.

c) Validez del método

Actividad antifúngica de la fase micelial: se utilizó como control positivo agar Sabouraud con anfotericina B de 1mg/ml, que presenta un 100% de inhibición en ambos hongos y como control negativo agar Sabouraud con etanol al 50%, con un crecimiento óptimo del hongo. Se realizaron 4 repeticiones por cada ensayo.

Actividad antifúngica de la fase levaduriforme: se utilizó como control positivo agar Mueller Hinton con sangre de carnero y anfotericina B (inhibición

de la levadura) y como control negativo, agar Mueller Hinton con sangre de carnero y etanol al 50% (crecimiento óptimo de la levadura). Se realizaron 4 repeticiones por cada ensayo.

d) Análisis de datos

Se realizó una prueba de hipótesis binomial donde:

$$H_0: p \leq 0.5$$

$$H_a: p \geq 0.5$$

VIII. RESULTADOS

En este estudio se cultivó la fase miceliar de *Sporothrix schenckii* y de *Fonsecaea pedrosoi* obteniéndose una inducción de esporas de ambas especies, que luego se inocularon en cajas con agar-extracto vegetal y se incubaron durante 27 días. Se determinó que el crecimiento miceliar óptimo fue a los 21 días. Además se realizó un control negativo con agar y etanol al 50%, y un control positivo con agar y anfotericina B, para la validación de la fase miceliar. De la fase miceliar de *Sporothrix schenckii*, se recuperó la fase levaduriforme mediante cambio de agar (agar Mueller Hinton con sangre de carnero al 10%) y de un aumento en la temperatura (36°C), resemebrándose cada semana para purificar la levadura. Ésta se utilizó para el ensayo, sembrando un inóculo de la levadura en cajas con agar sangre-extracto e incubando durante 7 días; se realizó un control negativo y un control positivo de igual forma que en la fase miceliar, para la validación de la fase levaduriforme.

El tamizaje antifúngico para la fase miceliar de *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi* mostró que los extractos de *Bixa orellana* (hoja), *Byrsonima crassifolia* (corteza), *Eupatorium odoratum* (hoja), *Guazuma ulmifolia* (hoja), *Litsea guatemalensis* (hoja) y *Rhizophora mangle* (corteza) no presentaron actividad a dicha concentración (Tabla 1 y 2). En el tamizaje de los extractos contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii* tampoco se observó actividad antifúngica de parte de todos los extractos (Tabla 1). Además, se utilizó la técnica de difusión en agar para corroborar los resultados del procedimiento escogido, en el cual se utilizó el mismo agar con la levadura sembrada en toda la caja y se colocaron discos impregnados del extracto para dar como resultado un halo de inhibición del hongo, aunque en este caso ningún extracto presentó inhibición (Tabla 3).

Tabla 1

Tamizaje antifúngico de los 6 extractos seleccionados contra la fase miceliar y fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*

Especie	Parte	Fase Miceliar	Fase Levaduriforme
<i>Bixa orellana</i>	hoja	-	-
<i>Byrsonima crassifolia</i>	corteza	-	-
<i>Eupatorium odoratum</i>	hoja	-	-
<i>Guazuma ulmifolia</i>	hoja	-	-
<i>Litsea guatemalensis</i>	hoja	-	-
<i>Rhizophora mangle</i>	corteza	-	-

(-) Actividad negativa a una concentración de 0.2 mg/mL

Tabla 2

Tamizaje antifúngico de los 6 extractos seleccionados contra la fase miceliar de *Fonsecaea pedrosoi*

Especie	Parte	Actividad Antifúngica
<i>Bixa orellana</i>	hoja	-
<i>Byrsonima crassifolia</i>	corteza	-
<i>Eupatorium odoratum</i>	hoja	-
<i>Guazuma ulmifolia</i>	hoja	-
<i>Litsea guatemalensis</i>	hoja	-
<i>Rhizophora mangle</i>	corteza	-

(-) Actividad negativa a una concentración de 0.2 mg/mL

Tabla 3

Tamizaje antifúngico de los 6 extractos seleccionados contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii* con la técnica de difusión en agar

Especie	Parte	Fase Levaduriforme
<i>Bixa orellana</i>	hoja	-
<i>Byrsonima crassifolia</i>	corteza	-
<i>Eupatorium odoratum</i>	hoja	-
<i>Guazuma ulmifolia</i>	hoja	-
<i>Litsea guatemalensis</i>	hoja	-
<i>Rhizophora mangle</i>	corteza	-

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las micosis subcutáneas son producidas por hongos que se introducen en la piel a través de traumatismos, afectando los tejidos subcutáneos, vasos linfáticos y tejidos vecinos. En el presente estudio se analizó la capacidad antifúngica de seis extractos provenientes de seis plantas nativas guatemaltecas contra los hongos subcutáneos *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*. El ensayo se realizó tanto para la fase miceliar de ambos, fase en la que se encuentran en la naturaleza, como para la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii* por ser éste un hongo dimórfico, cuya fase levaduriforme se encuentra en el material de lesiones.

En el ensayo para la fase miceliar, se obtuvo el crecimiento de los hongos en medio Takashio para la inducción de esporas. Posteriormente se sembraron las esporas en agar Saboraud, para luego realizar mediciones del diámetro periódicas durante 27 días. Los hongos se desarrollaron adecuadamente según la metodología, obteniéndose un crecimiento óptimo de la colonia después de 21 días de incubación. Para la fase levaduriforme, se recuperó la levadura en medio Mueller Hinton con sangre de carnero, y en este mismo medio, adicionado con los diferentes extractos vegetales se sembró la levadura en estrías e incubó durante 7 días. Para ambas fases, se corrieron controles negativos y positivos para validar la fase miceliar y la fase levaduriforme.

Las seis plantas nativas fueron seleccionadas basándose principalmente en sus registros de actividad antibacteriana y antifúngica (*Byrsonima crassifolia*, *Eupatorium odoratum* y *Litsea guatemalensis*), además de su uso en afecciones dérmicas. Las plantas ensayadas fueron hoja de *Bixa orellana* con actividad antibacteriana sobre *S. aureus*, *E. coli* y *S. typhi* (29); corteza de *Byrsonimia crassifolia* con actividad antibacteriana contra *E. coli*, *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*; y actividad antifúngica contra *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. stellatoidea* (32-34); hoja de *Eupatorium odoratum* con actividad antibacteriana contra *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *S. aureus* y *A. niger* (33); hoja de *Guazuma ulmifolia* con actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus* (36); hoja de *Litsea*

guatemalensis con actividad antifúngica *in vitro* contra *C. albicans* (38); y corteza *Rhizophora mangle*; ensayándose un total de seis extractos etanólicos.

En las tablas 1 y 2 se muestran los resultados del tamizaje de la actividad antifúngica de los extractos contra la fase miceliar de *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*, considerando como punto de corte una concentración de 0.2 mg/mL. Se utilizó esta concentración ya que resultados recientes sobre actividad antifúngica con plantas nativas (48,49), indican la conveniencia de reducir la concentración a niveles inferiores a 1.0 mg/mL, para poder determinar principios activos altamente eficaces y que funcionen en bajas concentraciones. En este estudio se utilizó la concentración de 0.2 mg/mL, por haberse determinado como una concentración efectiva con algunas plantas locales (48,49). Además, una concentración baja reduce gastos innecesarios y resulta más saludable al ingerir una cantidad mínima del extracto vegetal.

Además, en la tabla 1 se muestran los resultados del tamizaje de los extractos contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*, que tampoco fue susceptible a ninguno de los seis extractos.

La ausencia de actividad antifúngica por parte de los seis extractos (tanto para la fase miceliar como levaduriforme) contra ambos hongos, resulta interesante ya que algunas referencias señalan capacidad antifúngica, pero especialmente una actividad antibacteriana de las plantas escogidas. Otro factor, es la concentración utilizada (0.2 mg/mL) de los extractos, que es baja en comparación a otros estudios con 1 mg/mL (28,48,49).

Por el simple hecho de ser hongos que provocan micosis subcutáneas, y que uno de ellos es dimórfico, es difícil encontrar extractos de plantas que los inhiban. Además en otros estudios se ha encontrado un porcentaje bajo de extractos con capacidad antifúngica para estos hongos o en concentraciones muy altas del extracto (28,48,49).

Existen estudios en otros países, como en Perú, en donde se investigaron 36 extractos de 24 plantas contra diferentes bacterias y hongos, entre ellos *Sporothrix schenckii*, en el cual 9 extractos de 7 plantas tuvieron actividad contra éste. Los extractos que tuvieron actividad antifúngica fueron *Croton ruizianus*, *Iryanthera lancifolia*, *Oenothera multicaules*, *Ophryosporus peruvianus*, *Senecio culcitioides*, *Wigandia urens* y *Cestrum auriculatum*, siendo éste último el que tuvo la mayor actividad (28). En dicho estudio los extractos se ensayaron a una concentración de 25 mg/mL, siendo ésta muy alta. Además, a los extractos positivos no se les realizó la CIM, la cual es muy importante para determinar una concentración menor para la inhibición de los hongos. Tampoco se indica si existen riesgos por el consumo abundante de los extractos de estas plantas en humanos.

Para la fase levaduriforme del presente estudio se trabajó según la metodología escogida, pero para respaldar los resultados, se empleó también la técnica de difusión en agar, obteniéndose el mismo resultado, ya que no se encontró ningún halo de inhibición alrededor de los discos impregnados por el extracto. Con esta otra técnica se corroboró el dato que ya se tenía de la fase levaduriforme.

X. CONCLUSIONES

1. La metodología utilizada en este estudio para el tamizaje de hongos es confiable y reproducible, a pesar de que ningún extracto tuvo actividad inhibitoria.
2. El tamizaje antifúngico para la fase miceliar de *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi* demostró que los extractos de *Bixa orellana* (hoja), *Byrsonima crassifolia* (corteza), *Eupatorium odoratum* (hoja), *Guazuma ulmifolia* (hoja), *Litsea guatemalensis* (hoja) y *Rhizophora mangle* (corteza) no presentaron actividad a la concentración de 0.2 mg/mL.
3. El tamizaje antifúngico para la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii* demostró que todos los extractos no presentaron actividad a dicha concentración.
4. La actividad antifúngica negativa se debe a que los extractos ensayados poseían únicamente actividad antibacteriana.
5. La concentración utilizada es relativamente baja en comparación con estudios anteriores que eran de 1mg/mL, siendo éste un punto de corte alto, pero los resultados a una concentración más baja se consideran significativos como una alternativa eficaz para el tratamiento.

XI. RECOMENDACIONES

1. Determinar la actividad antifúngica de otros extractos de plantas nativas guatemaltecas contra la fase miceliar como levaduriforme de *Sporothrix schenckii*, para contar con otras opciones para el tratamiento de la esporotricosis.
2. Determinar la actividad antifúngica de otros extractos de plantas nativas guatemaltecas contra la fase miceliar de *Fonsecaea pedrosoi*, que permitan otras opciones para el tratamiento de la cromoblastomicosis.

XII. REFERENCIAS

1. Esporotricosis. Disponible en <www.seime.org/control/revi-Micol/espоро.htm>
2. Medciclopedia. Diccionario ilustrado de términos médicos. Clasificación internacional de las enfermedades CIE-10. Disponible en <www.iqb.es/Patologia/espороtricosis.htm>
3. Rippon JW. Micología Médica; Hongos y Actinomicetos Patógenos. 3.ed. México: Interamericana, McGraw-Hill, S.A. de C.V, 1990. 854p.
4. Madigan M.T, Martinko J.M, Parker J. Brock Biología de los Microorganismos. 8.ed. Madrid: Prentice Hall Iberia, 2000. 1064p.
5. Zamarripa A. *Sporothrix schenckii*: Aspectos bioquímicos y morfológicos. IV Congreso de Micología: Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de México (UNAM), Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guanajuato. México D.F., 1990. 86p.
6. Larone D. Medically important fungi. A Guide to identification. 4.ed. Washington, D.C.: ASM Press, 2002. 409p.
7. Romero R. Biosynthesis and Functions of Melanin in *Sporothrix schenckii*. American Society for Microbiology. Infection and Immunity. Vol 68, 2000. 6:3696 – 3703.
8. Arenas Guzmán R. Micología Médica Ilustrada. 2.ed. México: Interamericana, McGraw-Hill, S.A. de C.V, 2003. 352p.
9. Esporotricosis. Disponible en <<http://www.latinsalud.com/articulos>>

10. Mesa AC. *et al.* Tipificación de aislados clínicos de *Sporothrix schenckii* de diferentes orígenes geográficos. IV Congreso Nacional de Micología; Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de México (UNAM). México D.F., 1993. 87p.
11. Mayorga R, Cáceres A, *et al.* Investigación de una zona endémica de esporotricosis en la región de la Laguna de Ayárza, Guatemala. *Bol Of Sanit Panam* 87(1), 1979.
12. Morales R. Un cas de lymhangite sporotrichosique au Guatemala. *Ann Parasitol* 9:366-367, 1931.
13. Wyss J. La esporotricosis en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1937. 56p.
14. Solórzano Mota A. Estudio analítico de 34 casos de esporotricosis en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1963. 42p.
15. Logemann H. Manual Práctico de Micología Médica. Guatemala: Bayer, 1995. 227p.
16. Gambony ER. Esporotricosis en el Hospital Nacional de Occidente. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1982. 22p.
17. Ortiz JL. Prevalencia de Micetomas, esporotricosis y cromomicosis en el Hospital Nacional Pedro Betancourt de la Antigua Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias

- Médicas) 1992. 25p.
18. Infecciones por hongos. Manual Merck de información médica para el hogar. Disponible en http://www.msd.es/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_17/seccion_17_185.html>
 19. Ayats Ardite J. *Sporothrix schenckii*. Disponible en [www.seimc.org/cpmtrp:redy/Myco/esporo.htm](http://www.seimc.org/cpmtrp/redy/Myco/esporo.htm)>
 20. Anaissi EJ, McGinnis MR. Pfaller MA. Clinical Mycology. USA: Churchill Livingstone, 2003. 608p.
 21. Datzung BG. Farmacología básica y clínica. 8ed. México: El Manual Moderno, 2002. 1346p.
 22. Da Rosa M. et al. Epidemiology of sporotrichosis: A study of 304 cases in Brazil. J Am Acad Dermatol. Vol 52, 2005. 3:451-459.
 23. Jacobson E. Pathogenic Roles for Fungal Melanins. Clinical Microbiology Review. Vol 13, 2000. 4:708-717.
 24. Ortiz JL. Prevalencia de micetoma, esporotricosis y cromoblastomicosis: Estudio retrospectivo, realizado en la Clínica de Dermatología del Hospital Nacional Pedro de Betancourt de la Antigua Guatemala, Enero 1990- Agosto 1992. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1992. 25p.
 25. Zuño Burstein A. Cromomicosis. Disponible en http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/Medicina_Experimental/Vol21_N3_2004/Pdf/a08.pdf>

26. Alviano DS. *et al.* Differentiation of *Fonsecaea pedrosoi* mycelial forms into sclerotic cells is induced by platelet-activating factor. *Research in Microbiology*, 2003. 154:689-695.
27. Mizzau D. El arte de curar con plantas en el hombre. Disponible en www.fundacer.com.arg
28. Rojas R. *et al.* Antimicrobial Activity of selected Peruvian medicinal plants. *J of Ethnopharmacology*, 2003. 88:199-204.
29. Cáceres A, Jauregui E, López B, Logemann H. Actividad antifúngica de plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria (cuaderno de investigación 7-92, Dirección General de Investigación DIGI, USAC) 1993.89p.
30. House P, Lagos-Witte S. Manual Popular de 50 plantas medicinales de Honduras. Honduras: Litografía López, 1989. 134p.
31. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria, 1996. 402p.
32. Robineau-Germosen L. Farmacopea Caribeña. Martinico: Emile Désormeaux, 1996. 113-114p.
33. Iwu MM, Chiori C. Antimicrobial activity of *Eupatorium odoratum* extracts. *Fitoterapia. Volume IV.* Nigeria: Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Nigeria, Nsukka, 1984. 354-356.
34. Ronquillo FA *et al.* Especies vegetales de uso actual y potencial en alimentación y medicina de las zonas subáridas del nororiente de Guatemala. Guatemala, DIGI/USAC, 1988. 7-88:37.

35. Standley PC, Steyemark JA. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany, 1946. 24(5):478-479.
36. Cáceres A, Samayoa B. Tamizaje de la actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Cuadernos de Investigación No. 6-89. Guatemala, DIGI/USAC, 1989. 138p.
37. Cáceres A, Samayoa B, Fletes L. Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de Infecciones. Cuadernos de Investigación No. 4-90. Guatemala, DIGI/USAC, 1990. 98p.
38. Cáceres A. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *J. Ethnopharmacol.* 1990. 30:55-73.
39. Cáceres A, *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 plants against Gram-positive bacteria. *J. Ethnopharmacol.* 1991. 31:193-208.
40. FAO. Especies forestales productoras de fruta y otros alimentos. 3. Ejemplos de América Latina. Roma: FAO, 1987. 49p.
41. Morton JF. Atlas Of Medicinal Plants of Middle America. Springfield: Charles C. Thomas Publisher, 1981. 1420p.
42. Herrera JJ. Recopilación botánica y análisis químico cualitativo de algunas especies de plantas consideradas medicinales de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1981. 91p.
43. Cáceres A. *et al.* Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in

Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. *J. Ethnopharmacol.* 1987. 20:223-237.

44. Little, E. Árboles comunes de Puerto Rico y las Islas Vírgenes, Vol. 2. Puerto Rico: Editorial UPR, 1967. 827p.

45. Perera LMS. *et al.* Gastric antiulcer effect of *Rhizophora mangle*. *J Ethnopharmacol*, 2001. 77:1-3

46. Fernandez O. *et al.* Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. *J Ethnopharmacology*, 2002. 73:564-568.

47. Cáceres A, *et al.* Manual de Procedimientos del proyecto Biodiversidad tropical Centroamericana (Organización de Estados Americanos –OEA-) Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos, 1999. 17p.

48. Gaitán, IC. Actividad de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2005. 59p.

49. Del Cid, NE. Actividad de diecisiete extractos de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Fonsecaea pedrosoi*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2005. 52p.



Sandra Paola Marchorro Rivera

Autora



Lic. Armando Cáceres

Asesor



Licda. María Luisa García de López

Revisora



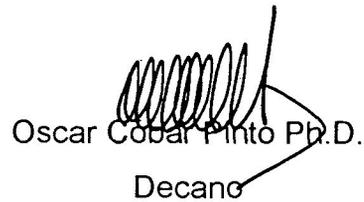
Dr. Roberto Flores

Revisor



MSc. Vivian Matta de García

Directora



Oscar Cobari Pinto Ph.D.

Decano