

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

**ACTIVIDAD CONTRA HONGOS CAUSALES DE MICOSIS  
SUBCUTÁNEAS DE SEIS ESPECIES HERBÁCEAS**  
*(Eupatorium odoratum, Lycopodium clavatum, Parmentiera aculeata,  
Prionosciadium thapsoides, Richardia scabra y Salvia microphylla)*

**Rosario Judith Villatoro Hernández**

**QUÍMICA BIÓLOGA**

Guatemala, julio del 2008

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

**ACTIVIDAD CONTRA HONGOS CAUSALES DE MICOSIS  
SUBCUTÁNEAS DE SEIS ESPECIES HERBÁCEAS**  
*(Eupatorium odoratum, Lycopodium clavatum, Parmentiera aculeata,  
Prionosciadium thapsoides, Richardia scabra y Salvia microphylla)*

**Informe de Tesis**

Presentado por

**Rosario Judith Villatoro Hernández**

Para Optar al Título de

**Química Bióloga**

Guatemala, julio del 2008

## **JUNTA DIRECTIVA**

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

Oscar Cóbar 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 II
Br. Mariesmeralda Arriaga Monterroso	Vocal IV
Br. José Juan Vega Pérez	Vocal V

## ÍNDICE

I.	Resumen	1
II.	Introducción	2
III.	Antecedentes	4
	A. Esporotricosis	4
	B. Cromoblastomycosis	10
	C. Micetoma	14
	D. Medicina tradicional	19
	1. Fitoterapia	19
	2. Monografía de las Plantas en Estudio	20
	a. <i>Eupatorium odoratum</i> L.	20
	b. <i>Lycopodium clavatum</i> L.	22
	c. <i>Parmentiera aculeata</i> DC.	22
	d. <i>Prinosciadium thapsoides</i> DC.	23
	e. <i>Richardia scabra</i> L.	24
	f. <i>Salvia microphylla</i> HBK.	25
IV.	Justificación	26
V.	Objetivos	27
VI.	Hipótesis	28
VII.	Materiales y métodos	29
VIII.	Resultados	37
IX.	Discusión de resultados	41
X.	Conclusiones	43
XI.	Recomendaciones	44
XII.	Referencias	45
XIII.	Anexos	49

## I. RESUMEN

Las micosis subcutáneas son infecciones de tejido cutáneo y subcutáneo asociadas a dermis y epidermis; son causadas por hongos saprobios, su hábitat es el suelo y plantas. Estas infecciones generalmente se adquieren por traumatismo de la piel con material infectado, produciéndose una lesión en el sitio de inoculación; también se denominan micosis de implantación.

Los tratamientos de estas micosis se basan en medicamentos efectivos, sin embargo por su prolongado tiempo de administración producen efectos secundarios y son altamente tóxicos para el paciente, que en algunos casos pueden llegar a ser irreversibles.

En el presente estudio se evaluó la actividad antifúngica que pudieran presentar los extractos etánolicos de hoja de *Eupatorium odoratum* L. (curarina de monte), hierba de *Lycopodium clavatum* L. (k-amchaj), hoja de *Parmentiera aculeata* DC. (cuajilote), semilla de *Prinosciadium thapsoides* DC. (Pimientillo), hierba de *Richardia scabra* L. (golondrina blanca), y hierba de *Salvia microphylla* HBK. (diente de acamaya), contra los agentes causales de micosis subcutáneas *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*, como una alternativa para la síntesis de nuevos fármacos.

Se logró adaptar el método para hongos filamentosos descrito por Brancato & Golding modificado por MacRae y se estableció que el crecimiento máximo de las colonias de *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*, se obtuvo a los 24 y 23 días de incubación a 27°C, respectivamente.

El ensayo del tamizaje antifúngico determinado a través del porcentaje de inhibición y análisis estadístico del crecimiento miceliar en los seis extractos de plantas, no presentó actividad contra la fase miceliar de los hongos estudiados, de igual forma para la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*.

Por tal razón, se recomienda realizar otros estudios de tamizaje para determinar la actividad antifúngica de otros extractos de plantas nativas guatemaltecas contra los agentes causales de micosis subcutáneas y así proporcionar mejores alternativas para la síntesis de nuevos fármacos o incluso utilizar el fitofármaco como tal.

## II. INTRODUCCIÓN

Las micosis subcutáneas son infecciones que generalmente se adquieren por traumatismo. Involucran al tejido cutáneo, subcutáneo y rara vez se disemina a órganos internos. Son infecciones de curso agudo, subagudo o crónico; siendo estas, la esporotricosis, la cromoblastomicosis y el micetoma (1).

La esporotricosis es una micosis causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*. Se caracteriza por la presencia de nódulos y según su cuadro clínico puede manifestarse como esporotricosis primaria cutánea, primaria pulmonar, linfocutánea, mucocutánea, extracutánea y multifocal extracutánea (1, 2).

La cromoblastomicosis, también llamada cromomicosis; es ocasionada por *Cladophialophora carrioni*, *Phialophora verrucosa*, *Fonsecaea compacta* y *Fonsecaea pedrosoi*, entre otros, siendo *Fonsecaea pedrosoi* el único agente reportado para Guatemala (1, 9).

El micetoma es una micosis que produce lesiones inflamatorias deformantes no dolorosas, localizadas y fístulas que afectan tejido cutáneo y subcutáneo, que pueden extenderse al hueso. Se clasifican, de acuerdo con el agente causal, en micetoma fúngico o eumicetoma y micetoma actinomicético o actinomietoma. Los agentes causales del eumicetoma son: *Madurella grisea*, *Madurella mycetomatis*, *Exophiala jeanselmei*, *Pyrenochaeta romeroi*, *Leptosphaeria senegalensis* y *Pseudallescheria boydii* (5, 6, 9).

Los tratamientos de las micosis subcutáneas se basan en medicamentos efectivos, sin embargo por su prolongado tiempo de administración producen efectos secundarios, que en algunos casos pueden llegar a ser irreversibles para el paciente (1, 2, 4, 6).

El uso de plantas medicinales para el tratamiento de ciertas enfermedades ha sido una práctica que se ha desarrollado desde tiempos inmemorables. Gran parte de la población guatemalteca utiliza plantas para mantener o recobrar la salud, basados únicamente en el conocimiento popular. Por lo anterior es importante validar científicamente la información empírica diseminada en las comunidades del país (7).

Las plantas utilizadas popularmente como medicinales proporcionan una alternativa para la elaboración de nuevos medicamentos (a partir de los compuestos presentes en ellas o incluso utilizar la planta como tal) (29, 40).

Actualmente se encuentran muy pocos antimicóticos elaborados a partir de plantas, existiendo pocos estudios que validan su uso. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad de seis extractos etanólicos de plantas nativas guatemaltecas herbáceas (*Eupatorium odoratum* L., *Lycopodium clavatum* L., *Parmentiera aculeata* DC., *Prinosciadium thapsoides* DC., *Richardia scabra* L. y *Salvia microphylla* HBK.) contra los aislamientos de *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*, por medio del método descrito por Brancato & Golding modificado por MacRae para hongos filamentosos.

### III. ANTECEDENTES

Las micosis subcutáneas son infecciones que generalmente se adquieren por traumatismo. Involucran al tejido cutáneo, subcutáneo y rara vez a órganos internos. Son infecciones de curso agudo, subagudo o crónico. Siendo estas la esporotricosis, la cromoblastomicosis y el micetoma, que a continuación se describen (1, 2).

#### A. ESPOROTRICOSIS

##### 1. Definición

Micosis de curso agudo, subagudo o crónico que afecta el tejido cutáneo y subcutáneo. Es supurativa y generalmente localizada, aunque puede extenderse a áreas adyacentes y rara vez se disemina (1, 2).

##### 2. Agente Etiológico

Su agente causal es el hongo dimórfico, *Sporothrix schenckii*. Presenta una fase saprobia o miceliar.

A lo largo del micelio se pueden presentar conidios de forma triangular, que según estudios efectuados en el Instituto Pasteur en París son los que le confieren cierto grado de virulencia a la cepa además de darle el color oscuro a la misma. En su fase parasítica o levaduriforme se presenta con forma de levaduras alargadas, ovaladas o ligeramente redondas. Con tinciones de Gram y Grocott (GMS) e incluso con Hematoxilina y Eosina (HE) puede ponerse de manifiesto como células levaduriformes (66%) con forma de navecilla de 3 - 5 $\mu$  de diámetro. Los cuerpos asteroides son escasos (18%), el típico de esporotricosis está constituido por una levadura redondeada u oval, basófila y rodeada de espículas eosinófilas en forma de estrella como de 10 - 12 $\mu$  de diámetro. La levadura central presenta reacción antígeno – anticuerpo denominado fenómeno Splendore Hoeppli, la cual se tiñe de negro con metenamina de plata (1, 9 - 11).



### 3. Epidemiología

La infección se adquiere por traumatismo con diferentes materiales punzo cortantes, espinas y escamas de peces (este último en Guatemala). Dentro del grupo de micosis subcutáneas ocupa el primer lugar de frecuencia en Guatemala (1, 5).

Se han detectado varias zonas consideradas endémicas en diferentes partes del mundo. En Guatemala la primera fue en la Laguna de Ayarza (al norte del Departamento de Santa Rosa). Actualmente se conocen varios focos endémicos: en las faldas del volcán Tacaná en el departamento de San Marcos y en el departamento de Chimaltenango. Gran cantidad de casos se presentan en la ciudad capital y en otros lugares no considerados endémicos (1).

Se han detectado zonas endémicas alrededor del mundo; Estados Unidos, Centroamérica, Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil y Uruguay. A principios del siglo XX fue muy frecuente en Francia, predomina en África del Sur, Japón y América en la zona intertropical. El mayor número de casos se ha descrito en México (al sur del Distrito Federal, Puebla, Guanajuato, Jalisco, Hidalgo, Veracruz, Michoacán, Oaxaca y San Luís Potosí) (9).

La esporotricosis cutánea puede presentarse en todas las edades y afecta principalmente a los hombres en una proporción de 3:1 por el riesgo de exposición, pero puede variar dependiendo del país (9).

### 4. Cuadro Clínico

En el sitio de inoculación se forma una lesión nodular. Los miembros inferiores y superiores son los más afectados. Los principales síntomas son dolor punzante ocasional, ligero prurito y rara vez dolor a la palpación (1, 2).

Se pueden clasificar en:

- a. Esporotricosis cutánea: Se desarrollan lesiones eritematosas, ulcerosas, infiltradas o verrucosas sin afección del sistema linfático, esta forma no se extiende localmente (12).
- b. Esporotricosis linfocutánea: Las lesiones que presentan pueden ser lisas o verrucosas con tendencia a la ulceración y supuración. Se presenta generalmente en

extremidades, pudiendo aparecer en cualquier otro lugar. La lesión inicial puede ser única, pero generalmente la tendencia es el desarrollo de otras lesiones que siguen el trayecto de los vasos linfáticos (12).

- c. Esporotricosis mucocutánea: Presenta 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 (13).
- d. Esporotricosis extracutánea: Se caracteriza por una artritis destructiva con lesiones osteolíticas, tenosinovitis y periosteítis. Las articulaciones mayores de las extremidades (mano, codo, tobillo y rodilla) son las más afectadas. Se pueden presentar lesiones cutáneas y subcutáneas (9, 12).
- e. Esporotricosis pulmonar primaria: Es muy rara, se adquiere por inhalación de las esporas del hongo. Se desarrolla en pacientes inmunocomprometidos o en pacientes con tratamiento prolongado con corticoides. La inhalación de las esporas de *Sporothrix schenckii* puede dar 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 (9, 12).
- f. Esporotricosis multifocal extracutánea: Es poco frecuente y generalmente se observa en pacientes con enfermedades de base como diabetes, tratamiento prolongado con corticoides, neoplasias, sarcoidosis, enfermedades hematológicas, infecciones por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y alcoholismo. Puede diseminarse vía linfática o hematogena. Generalmente 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 (2, 9, 12).

## 5. Diagnóstico

Se toma una muestra de material purulento (obtenido de una lesión abierta, del levantamiento de una costra, rompimiento de una pústula o punción de un nódulo cerrado) o biopsia (1, 9).

- a. Examen directo: Se pueden encontrar levaduras o cuerpos asteroides (levadura rodeada por las inmunoglobulinas del huésped presentando el fenómeno de Splendore – Hoeppli). Se observan mejor en solución salina con una gota de formol al 10% (9).
- b. Cultivo: En los medios de Sabouraud con antibióticos y Sabouraud simple, incubados a 25°C durante 15 días, descartándolos como negativos, sí después de este tiempo no hay crecimiento (5).
- c. Estudios histopatológicos: Con tinciones de Ácido Peryódico de Schiff (PAS), Gram y Grocott (GMS) e incluso con Hematoxilina - Eosina (HE) puede ponerse de manifiesto como células levaduriformes (9).
- d. Inmunología: Aglutininas, fijación del complemento, precipitinas, se pueden demostrar, pero no son pruebas de rutina en los laboratorios. La técnica serológica para el diagnóstico más rápido de esporotricosis son los anticuerpos fluorescentes los cuales son altamente específicos (9, 14).
- e. Por análisis de polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) del ácido desoxiribonucleico (ADN) se han informado métodos útiles para identificación de taxonomía, tipificación y epidemiología de *Sporothrix schenckii* (9).

## 6. Tratamiento

- a. Yoduro de potasio (KI): Es el tratamiento de elección específico de la esporotricosis cutánea y linfocutánea (15, 16).

- i) Mecanismo de acción: Se desconoce su mecanismo de acción, no tiene acción directa contra *Sporothrix schenckii*, ya que se ha demostrado que el hongo puede crecer en medios de cultivo con altas concentraciones de yoduro de potasio. Se asume que más bien su acción es indirecta, facilitando los procesos de inmunidad celular o general (16).
  - ii) Dosis: Administración vía oral de una solución saturada de yoduro de potasio (23 g/100 mL de agua) tres veces al día. Se aumenta la dosis hasta 3 - 4 mL tres veces al día durante tres a cuatro semanas, siendo la dosis óptima de 4 - 6 g/día en el adulto y de 1 - 3 g/día en los niños (17).
  - iii) Efectos secundarios: Exantema, salivación, lagrimeo, náusea, vómitos, gastritis, rinitis, faringolaringitis, bronquitis, la toxicidad por potasio se manifiesta por confusión, arritmia, adormecimiento de manos o debilidad general. Puede ocasionar hipotiroidismo, tirotoxicosis y rara vez una tiroiditis aguda (15, 17).
- b. Anfotericina B: La anfotericina B ha sido durante casi cuatro décadas el único fármaco disponible para el tratamiento de infecciones fúngicas invasivas. Sin embargo, la importante toxicidad asociada a su uso, los malos resultados con respecto a la curación de los pacientes y el incremento en el número de pacientes que están en riesgo de padecer una infección fúngica invasiva han estimulado el desarrollo de nuevos fármacos antifúngicos (18).
- Se utiliza como el tratamiento inicial para micosis diseminadas y extracutáneas, siendo posteriormente reemplazado por imidazoles. Administrado en casos de esporotricosis pulmonar o diseminada, o en aquellos en los cuales hay resistencia a otros tratamientos (17, 19).
- i) Mecanismo de acción: El fármaco se une firmemente al ergosterol en la membrana celular del hongo. La membrana de las células fúngicas se alteran y se pierden las macromoléculas celulares y los iones, lo que origina un daño irreversible. La

resistencia a la anfotericina B se puede deber a una disminución en la cantidad de ergosterol de la membrana o a una modificación en su estructura (17, 19).

- ii) Dosis: La vía de administración es intravenosa. Se debe de administrar con suero y con dextrosa al 5% durante 4 - 6 horas, iniciando con una dosis de 0.5 mg/kg de peso hasta alcanzar 1 mg/kg, durante 2 - 3 días por un período de hasta 4 meses (17, 19).
  - iii) Efectos secundarios: Fiebre, escalofríos, anorexia, cefalea, náusea, vómitos, hipotensión, hipertensión, hipotermia, arritmias ventriculares, tromboflebitis, insuficiencia respiratoria. El efecto adverso de mayor relevancia y que supone el principal factor limitante es la toxicidad renal (1, 17 - 19).
- c. 5-Fluorocitosina: Fue comercializada como antifúngico al comienzo de la década de 1970. Es un antimicótico oral de amplio espectro, también se puede encontrar disponible en presentación para su administración intravenosa y tópica (15).
- i) Mecanismo de acción: Penetra a la célula fúngica por medio de la citosina e inhibe la síntesis del ácido ribonucleico (ARN) por acción de una desaminasa de citosina. Intracelularmente es convertida en 5-fluorouracilo y en trifosfato de fluoridina. La sustitución del uracilo por 5-fluorouracilo y el fosfato de fluoridina, inhiben la síntesis del ADN y ARN respectivamente, lo que altera la síntesis proteica, llevando a la célula fúngica a la muerte (1, 19).
  - ii) Dosis: Se puede administrar en forma oral, intravenosa o tópica. Por vía intravenosa se recomienda una dosis de 100 - 150 mg/kg de peso. Tiene actividad antifúngica en una dosis de 100 mg/L (15, 19).
  - iii) Efectos secundarios: Náuseas, vómitos, enterocolitis y depresión de la médula ósea (1, 15).

## **B. CROMOBLASTOMICOSIS**

### **1. Definición**

También conocida como cromomicosis o dermatitis verrucosa. Es una micosis de curso crónico que se caracteriza por presentar lesiones verrucosas en el sitio de inoculación. Afecta piel y tejido celular; se localiza en extremidades, especialmente inferiores y sobre todo en el pie. Puede extenderse y causar deformación del área afectada y en casos raros causar elefantiasis por compresión de los vasos linfáticos (1).

### **2. Agente Etiológico**

Los agentes causales son hongos pigmentados que viven como saprobios del suelo y vegetales; incluso se han aislado en madera transportada a otros sitios diferentes al lugar de origen y en baños sauna. Contienen melanina en sus células por lo que se llaman hongos negros o feoides (9).

La clasificación y nomenclatura de los hongos causales ha sido cambiante y controvertida; siendo estos: *Phialophora verrucosa*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Fonsecaea compacta*, *Cladophialophora carrionii*, *Rinocladiella aquaspersa* y *Wangiella dermatitidis*, entre otros (9).

Estos hongos se comportan como dimórficos y en su fase parasitaria se manifiestan como células fumagoides, que según algunos es un estado intermedio entre hifas y levaduras, pues dichas células se multiplican por división directa y emiten filamentos. Las células fumagoides son una forma parasitaria de adaptación y conservan viabilidad muy prolongada *in vitro*, lo que explicaría el período prolongado de incubación y la dificultad para la curación. Este dimorfismo parece depender de la resistencia relativa del huésped (9).

### **3. Epidemiología**

Es una micosis que no tiene una zona endémica establecida, pero se sabe que son los trabajadores del campo los más afectados. Predomina en el sexo masculino mayor de 50 años. En Guatemala, el único agente causal informado es *Fonsecaea pedrosoi* (1).

Dentro del grupo de las micosis subcutáneas, ocupa el tercer lugar de frecuencia en Guatemala (1).

Es de distribución mundial; predomina en clima tropical y subtropical. Hasta 1972 se habían informado 1,800 casos en el mundo. Se observa en cualquier raza, se ha encontrado en India, Burma, Sri Lanka, Indonesia, Australia, Finlandia, Alemania, Rumania, Checoslovaquia, Rusia, Madagascar; en Asia, Japón, China, Filipinas, Malasia y en América (9).

*Fonsecaea pedrosoi* es el agente de mayor importancia en zonas tropicales y húmedas de América. Hay una frecuencia relativamente elevada en la población rural de Centroamérica, así como en América del Sur (9).

#### **4. Cuadro Clínico**

Las lesiones se caracterizan por ser de tipo papular, verrucoso dando el aspecto de floretes de coliflor, que se extienden lentamente a los tejidos vecinos, presentan un olor característico a aceite rancio. Es frecuente observar pequeños puntos negros en la superficie de las lesiones, como consecuencia de las microfistulas presentes (1).

Se han considerado las siguientes formas clínicas: nodular, tumoral, verrugosa, en placa y cicatrizal. La forma verrugosa es la más frecuentemente informada, aunque el aspecto puede depender de la etapa de evolución (9).

Los miembros inferiores, son los más afectados apareciendo las primeras lesiones después de dos o tres semanas del traumatismo o inoculación del hongo (1).

#### **5. Diagnóstico**

- a. Examen microscópico inicial: En fresco del material purulento, para buscar células fumagoides. Si son costras o biopsias es necesario adicionarle hidróxido de potasio (KOH) al 20% (1).
- b. Cultivo: En agar Sabouraud con antibióticos e incubado a 25°C, descartando como negativo si después de tres semanas no hay crecimiento (1).

- c. Identificación: Del crecimiento por observación de la morfología macro y microscópica de la colonia (1).
- d. Por microscopia electrónica, se observan las células fumagoides y la producción de filamentos (9).
- e. Biología molecular: Estudios de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (PCR-RFLP), que analizan dos regiones diferentes de ADN, pueden identificar la secuencias de *Fonsecaea pedrosoi* (9).

## 6. Tratamiento

- a. Itraconazol: Es introducido en el tratamiento de las micosis sistémicas en 1992. Compuesto triazólico de segunda generación, derivado del dioxolano (1, 16, 18).
  - i) Mecanismo de acción: En estudios *in vitro* se ha demostrado que inhibe el citocromo P-450 que interviene en la síntesis de ergosterol, afectando la permeabilidad de la membrana de la célula micótica, provocando la muerte (18, 19).
  - ii) Dosis: 200 mg una o dos veces al día durante cuatro a ocho meses, ha resultado eficaz en casos por *Fonsecaea pedrosoi* y *Cladophialophora carrionii*; se ha utilizado con magníficos resultados en dosis de 300 mg/día. Si bien no se conoce con exactitud el tiempo de tratamiento, se recomienda el triple de tiempo necesario para obtener la negatividad clínica y micológica (9, 19).
  - iii) Efectos secundarios: Puede causar prurito, cefalea, diarrea, vértigo, carcinogénesis y efectos teratógenos (7, 18, 19).
- b. Terbinafina
  - i) Mecanismo de acción: Este medicamento obstruye la biosíntesis de los esteroides de la célula fúngica inhibiendo la escualeno-epoxidasa, lo que lleva a un déficit de



ergosterol y a una acumulación intracelular de escualeno, que conlleva a la muerte celular (7, 21, 22).

- ii) Dosis: A dosis de 500 mg/día se observa mejoría en el 41% de los casos, a los cuatro meses de tratamiento y de 82% a los 12 meses. La dosis recomendada varía según la edad del paciente, la indicación y la gravedad de la infección. Se recomiendan 250 mg/día en personas adultas y en menores dosis a niños (13, 21 - 23).
- iii) Efectos secundarios: Pérdida de apetito, dispepsia, náuseas, dolor abdominal, diarrea, exantema, artralgia, mialgia y disfunción hepatobiliar, entre otras (8, 19, 20).

c. Anfotericina B

- i) Mecanismo de acción: El mecanismo de acción de este antibiótico ya es citado en la sección de esporotricosis (7, 17, 19).
- ii) Dosis: La dosis depende de cada paciente, puede darse 0.2 mg/kg de peso al día, pudiendo aumentarse progresivamente a 0.4 mg, 0.6 mg, 0.8 mg/kg de peso al día. Siendo la dosis óptima de 35 mg/kg de peso al día, en un tiempo de seis a doce semanas hasta cuatro meses (1, 7, 17, 19).
- iii) Efectos secundarios: Además de las reacciones adversas ya mencionadas en la sección de esporotricosis; en cromoblastomicosis el daño más importante es la vasoconstricción y lesión de membranas lisosómicas de las células de los túbulos renales (1, 17, 19).

d. 5-Fluorocitosina

- i) Mecanismo de acción: Su mecanismo de acción ya es citado en la sección de esporotricosis.

- ii) Dosis: La dosis oral recomendada es de 100 - 150 mg/kg de peso al día, divididas en cuatro dosis, durante cuatro o más semanas, se absorbe bien y se distribuye en los tejidos, incluyendo el líquido cefalorraquídeo en donde la concentración del fármaco es de 60 - 80% (1, 20).
- iii) Efectos secundarios: Además sus efectos secundarios mencionados en el tratamiento de esporotricosis puede causar alteración de las pruebas de la función hepáticas, leucopenia y trombocitopenia (20).

## C. MICETOMA

### 1. Definición

Lesión aguda, subaguda o crónica que afecta el tejido cutáneo, subcutáneo y puede extenderse al hueso. Se origina después de un traumatismo y la lesión se inicia en el sitio de inoculación, extendiéndose a áreas adyacentes, presentando la tríada de tumefacción, fistula y gránulos (1).

### 2. Agentes Etiológicos

Los agentes causales del micetoma pueden ser actinomicetos (Actinomicetoma) y hongos (Eumicetoma). Los causantes del eumicetoma son hongos de los géneros *Madurella*, *Pseudallescheria*, *Pyrenochaeta* y *Lepthosphaeria*, entre otros (1, 9).

El actinomicetoma es causado por bacterias filamentosas, pertenecientes a los Actinomicetales, especialmente a los géneros: *Nocardia*, *Actinomadura* y *Streptomyces* (1).

#### a. *Madurella grisea*

- i) Epidemiología: Este agente del micetoma se encuentra principalmente en el Hemisferio Occidental, aunque hay algunos informes de otras partes del mundo, en 1949 se han reportado casos de grano negro en Argentina, Chile, Paraguay y Venezuela. Ahora se han registrado unos 60 casos en todo el mundo, cuatro en

Estados Unidos, alrededor de 30 casos en Sudamérica y los demás distribuidos en forma errática en cualquier parte (2).

- ii) Granos: Los granos son negros, redondos o lobulados. Su tamaño es hasta de 1 mm; la consistencia es suave en un principio, luego se vuelve dura y quebradiza. La sustancia de cemento es de color pardo, está limitado a los bordes externos del gránulo. El centro se ve hueco, en secciones, y está compuesto de una red micelial laxa, hialina. Estas células son pequeñas (1 - 3  $\mu\text{m}$ ) y su aspecto es el de una cadena de células en gemación (2).
- iii) Morfología de la colonia: Las colonias son de crecimiento lento, a temperatura de 30°C. Son oscuras, plegadas, con desarrollo veloso, de color canela a gris en la superficie. Puede desarrollar picnidios cuando se cultiva en medios pobres en nutrientes como el agar Czapek-Dex o agar papa-zanahoria, que simulan *Pyrenochaeta romeroi* (1, 2).

b. *Pyrenochaeta romeroi*

- i) Epidemiología: Este microorganismo fue aislado de micetoma de grano negro por Borelli en Venezuela en el año 1959 (2).
- ii) Granos: Los gránulos son blandos, negros y de forma tubular, su tamaño varía, de 0.5 - 1.5 mm. Hay una red central de hifas y una gruesa banda de células poligonales infladas en las áreas periféricas. El borde externo está compuesto de células negras, hinchadas (2).
- iii) Morfología de la colonia: La colonia es vellosa, lanosa y de color negro grisáceo; la periferia es de color claro. El hongo crece con rapidez a temperatura de 30°C. Se producen picnidios osteolados de color negro parduzco, cuyo tamaño es de 40 - 100 X 50 - 130  $\mu\text{m}$ . Están cubiertos de un sombrerillo rígido, redondo, oscuro. Las picnidiosporas son elípticas, de hialinas a color amarillo oscuro y su tamaño

promedio es de 1.5 - 2  $\mu\text{m}$ . Nacen cadenas en cadenas o en fiálides únicas dentro de los picnidios (1).

### 3. Epidemiología

En Guatemala el actinomicetoma es más frecuente que el eumicetoma. El principal causante es *Nocardia brasiliensis*, que la mayoría de veces se asocia a lesiones en miembros inferiores y tórax. Afecta principalmente a la población masculina entre 20 - 40 años (1).

El principal causante de eumicetoma es *Madurella grisea* y en menor frecuencia *Madurella mycetomatis*, *Pseudallescheria boydii* y *Pyrenochaeta romeroi* (1).

El eumicetoma predomina en África y Asia, especialmente en India, mientras que el actinomicetoma es más común en Latinoamérica; en México el eumicetoma representa menos del 2% del micetoma (9).

Predomina en el sexo masculino, con proporción de 4:1; se presenta en más de 60% en campesinos que están expuestos a los agentes causales, la edad promedio de presentación es entre los 16 - 45 años (9).

### 4. Cuadro Clínico

El eumicetoma tiende a ser más localizado, con curso crónico. Los actinomicetomas son de evolución rápida y con tendencia a diseminarse al hueso. Si el causante es un miembro del género *Nocardia*, puede extenderse al sistema nervioso central, pudiendo causar la muerte (1).

Suele afectar una región específica; el sitio más frecuente son las extremidades inferiores. Predomina en el pie aunque puede observarse en cualquier otra localización (pierna, rodilla, muslo, mano, antebrazo, brazo, hombro, pared abdominal, región preesternal, dorso y rara vez la cara o cabeza) (9).

El síndrome se caracteriza por aumento de volumen, deformación de la región y muchos orificios fistulosos, sitios de salida de exudado seropurulento donde se encuentran los llamados “granos” (9).

## 5. Diagnóstico

- a. Análisis de laboratorio: Se inicia con una buena toma de muestra. Esta puede ser material purulento o una biopsia (1).
- b. Examen microscópico inicial: Directo o en fresco para buscar gránulos. Se debe observar las características de éstos (color, grosor de los filamentos que los forman, presencia de clavos, clamidoconidios). El grosor de los filamentos es lo que hace la diferencia entre los gránulos actinomicéticos y los gránulos fúngicos (1).
- c. Cultivo: Se realiza en agar Sabouraud con antibióticos, Sabouraud simple y agar Lowenstein Jensen, incubados a 30°C. Los cultivos deben observarse cada semana y descartarse como negativos si después de tres semanas de incubación no hay crecimiento (1, 2).
- d. Cortes histopatológicos: Para colorearlos con PAS ya que de esta manera se puede apreciar mucho mejor la morfología y características del gránulo. Deben cultivarse pequeños fragmentos de biopsia en los medios antes mencionados (1).
- e. La ultrasonografía pueden demostrar lesiones tempranas y dar cierta información sobre los tejidos inflamados y la extensión del micetoma (9).

## 6. Tratamiento

Si el agente causal es un hongo, la respuesta terapéutica es nula por lo que el tratamiento de elección es la cirugía, una extirpación completa elimina el proceso y no da metástasis ni recidivas (1).

- a. Ketoconazol: Este medicamento se usa para tratar infecciones fúngicas que pueden diseminarse a diferentes partes del cuerpo. El ketoconazol pertenece a los antifúngicos llamados imidazoles (24 - 26).
  - i) Mecanismo de acción: Inhibe la C-14  $\alpha$  demetilación del lanosterol de la membrana citoplasmática fúngica al unirse a una de las enzimas del citocromo P-450 (C-14  $\alpha$

desmetilasa), que lleva a la acumulación de C-14  $\alpha$  metil esterol y reducen la concentración de ergosterol, un esterol esencial para la integridad de la membrana citoplasmática fúngica (25, 26).

ii) Dosis: 200 - 400 mg/día, durante 12 - 18 meses (9, 25).

iii) Efectos secundarios: Hipersensibilidad, daño en el hígado, depresión, salpullido, urticarias, prurito, dificultad para respirar (7, 25).

b. Itraconazol

i) Mecanismo de acción: Este mecanismo ya es citado en la sección de cromoblastomycosis (7, 28).

ii) Dosis: Se utiliza la misma dosis que cromoblastomycosis de 300 mg/día (7, 28).

iii) Efectos secundarios: A diferencia de cromoblastomycosis puede causar pérdida de apetito, salpullido, urticarias, insuficiencia cardiaca congestiva (7, 26, 28).

c. Miconazol: Es un derivado imidazólico surgido al principio de 1970, está disponible en forma parenteral (26).

i) Mecanismo de acción: Inhibe la C-14  $\alpha$  demetilación del lanosterol de la membrana fúngica al unirse a una de las enzimas del citocromo P-450 llevando a la acumulación de C-14  $\alpha$  metil esterol y reducen la concentración de ergosterol, un esterol esencial para la integridad de la membrana citoplasmática fúngica (9, 18).

ii) Dosis: Se usan dosis de 15 mg/kg por día y está disponible en solución parenteral al 1% (26).

iii) Efectos secundarios: Puede causar náuseas, vómitos, diarreas, prurito, flebitis, taquicardia y arritmias (26).

## D. MEDICINA TRADICIONAL

### 1. Fitoterapia

#### a. Definición

Es el estudio del interés terapéutico de las plantas, las cuales contienen componentes activos utilizados para el tratamiento de diversas enfermedades. Estos principios activos han sido estudiados y extraídos por diferentes métodos. Para que una planta común tenga propiedades medicinales se deben respetar ciertas reglas de recogida, desecación, almacenamiento y la presentación final en infusiones, extractos, etc. (30).

#### b. Historia

La palabra fitoterapia proviene del griego “phyton”, que significa planta y “therapeia” que significa tratamiento. Como su nombre lo indica utiliza plantas para curar (31).

El uso de plantas y vegetales como medicina es la más antigua terapia del hombre. La medicina India se basa en el uso de plantas, igual que la China, donde conviven esta medicina milenaria y los más modernos remedios científicos. En la Edad Media la sabiduría herbolaria se guardó en los monasterios, los monjes cultivaban plantas en sus huertos o iban a recogerlas al campo. A partir del siglo XVII, con el auge de la medicina científica, la fitoterapia se relegó, tachándola de superchería y práctica de curanderos, debido a esto la fitoterapia vivió en la oscuridad durante siglos, tomando auge en nuestros días. Hoy, incluso los científicos más reticentes a esta práctica, no pueden negar los efectos beneficiosos de las plantas. Es precursora de la medicina moderna, y como ella usa remedios que producen efectos contrarios a los síntomas de una enfermedad (29 - 31).

#### c. Fitoterapia en Guatemala

La demostración de la actividad contra hongos levaduriformes, filamentosos (*Aspergillus flavus*, *Epidermophyton floccosum*, *Microscorum gypseum*, *Trichophyton rubrum*), *Fonsecaea pedrosoi* y *Sporothrix schenckii* se ha logrado establecer a través

de modelos de dilución en líquido y posteriormente en agar adaptando el procedimiento descrito por Brancato & Golding modificado por McRae *et al.* (32, 33).

Durante más de 20 años se han investigado más de 250 especies vegetales, que han demostrado diversas actividades contra diferentes microorganismos utilizados, comprobándose la actividad con respecto al uso popular en un 6 - 15% (32).

Entre las especies vegetales nativas de Mesoamérica que se ha demostrado actividad antimicrobiana, ninguna o poca toxicidad y evidente potencialidad clínica, podemos mencionar que las diez más importantes son: *Byrsonima crassifolia* (nance), *Cornutia pyramidata* (jorokté), *Lippia graveolens* (orégano de monte), *Jatropha curcas* (piñón), *Neurolaena lobata* (tres puntas), *Piper aeruginosibaccum* (cordoncillo), *Psidium guajava* (guayaba), *Smilax domingensis* (zarzaparrilla), *Solanum americanum* (macuy) y *Tagetes lucida* (pericón) (32, 33).

#### d. Familia Herbáceas

Son especies de consistencia no leñosa. Una vez instaladas en su lugar, crecen y florecen durante muchos años sin demasiadas exigencias. Existen para cada tipo de clima, época del año, exposición, humedad, suelo. Su multiplicación es rápida. Muchas de estas plantas suelen perder su follaje en otoño e invierno, poseen un rebrote en primavera. Algunas especies de esta familia cumplen la función de cubre suelos. Son invasoras y se extienden rápidamente (33).

## 2. Monografía de las Plantas en Estudio

### a. *Eupatorium odoratum* L.

i) Familia: Compositae

ii) Nombres comunes: Curarina de monte, canutillo, cruz-quen, crucetilla, suplicio, cruz de campo, chimuyo, crucito, mejorana, tocaban, yaxthatz (34).

iii) Descripción botánica: Es un arbusto de crecimiento rápido, de 7 m. de alto, con una gruesa raíz primaria; muchas ramas de color café rojizo, semileñosas, usualmente caídas o trepables. Las hojas son muy delgadas, muy variadas en tamaño y forma,



lanceoladas, ovaladas o triangulares, con un punto corto o largo, punta agujada, y algunas veces la base es lobular: los márgenes son fenestrados o dentados, la cara de las hojas es áspera, el envés es de color amarillo o rojo; su tamaño es de 6 - 12 cm de largo y 3 - 7 cm de ancho, y con un tallo de 2 cm de largo. Las flores aparecen en diciembre; son tubulares, blancas, rosadas, de 10 - 35 flores, agrupadas en cabezas cilíndricas, conformadas en ramo, de 1 cm de largo. Los frutos o semillas son delgados, angulados, de color café oscuro, de 4 - 5 cm de largo con un penacho en la punta. Cuando las hojas se rompen huele fuertemente a cumarina (34, 35).

- iv) Descripción geográfica: Se encuentra generalmente en lugares secos, rocosos, como Alta Verapaz, El Progreso, Izabal, Zacapa, Chiquimula, Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Guatemala, Sacatepéquez, Suchitepéquez, Retahuleu, San Marcos, El Quiché, Huehuetenango. Crece en los campos abandonados desde México hasta Panamá, El Salvador y el sur de Argentina, también en el norte de Florida, Estados Unidos, las Bahamas, Cuba, Haití, Republica Dominicana, Jamaica, Granada, Barbados y Trinidad. Introducida en los trópicos del Viejo Mundo; ahora una de las mayores cizañas en los campos de cosecha y los bosques (34).
- v) Usos medicinales: Las flores son hervidas y el té se toma para aliviar la tos y como tratamiento en la diabetes. En Barbados, Panamá y Trinidad, la decocción de las hojas es un remedio para los resfriados y la tos; En Jamaica y Cuba para la fiebre. Los cubanos también la ponen en baños como tratamiento de enfermedades de la piel. En Barbados, las hojas trituradas son aplicadas sobre las cortaduras. En Guatemala, se utiliza la amarga raíz, que contiene aceite volátil, a la cual se le atribuyen propiedades como digestión; los indígenas mayas valoran la cocción de una hoja en tratamiento para dolores de estomago y para problemas renales. En los tiempos de la colonia, fue usado como remedio para malaria y gonorrea. La infusión del follaje se emplea como expectorante y contra dolores de pecho y pulmón. Las ramas se emplean contra el mal de aire y mal de ojo (34, 35).

b. *Lycopodium clavatum* L.

- i) Familia: Lycopodeaceae
- ii) Nombres comunes: K-Amchaj, pie de lobo, pezuña de lobo, musgo de trébol, musgo de cuerno de ciervo, licopodio, polvo de gato (36).
- iii) Descripción botánica: Planta que está cubierta de pequeñas hojas que acaban en una punta capilar y se ramifica abundantemente de modo que llega a constituir alfombras densas. Los ramos erectos alcanzan una altura de 10 - 15 cm. En su extremo se forman bifurcadas las espiguillas fructíferas que contienen las esporas, que floran sobre el agua sin mojarse y que constituyen la droga (36, 37).
- iv) Descripción geográfica: Se encuentra generalmente en lugares húmedos, habita en climas cálidos, semicálidos y templados. Crece en lugares acuáticos (36, 37).
- v) Usos medicinales: El polvo de la hoja se emplea para evitar escoceduras, se utiliza para afecciones genitourinarias (cistitis, uretritis, pielonefritis, oliguria, urolitiasis), hiperazotemia, hiperuricemia, gota, hipertensión arterial, edemas, sobrepeso acompañado de retención de líquidos (36, 37).

c. *Parmentiera aculeata* DC.

- i) Familia: Bingoniaceae
- ii) Nombres comunes: El nombre usual en Guatemala es cuajilote es de origen Nahuatl, y significa árbol de oreja de maíz. Cuajilote es el nombre en el valle de Jalapa, caiba, cosluto (Chimaltenango), ixlut (Huehuetenango), pepino de árbol, en Honduras llamada cowokra (36).
- iii) Descripción botánica: Arbusto pequeño y algunas veces largos, con una gruesa y densa copa, con tronco corto y grueso, con corteza pálida, las ramas con espinas cortas gruesas y a veces en curvadas. Hojas de forma entera, elíptica u ovalada, con

punta aguda u obtusa, cuneiforme en la base de 4 - 8 cm, de tronco grueso con corteza agrietada y hojas divididas con espinas. Sus flores salen del tronco o en los extremos de las ramas, y originan frutos alargados (36, 38).

iv) Descripción geográfica: Habita en climas cálido, semicálido y templado. Crece en huertos y está asociado con la selva tropical caducifolia y perennifolia; matorral xerófilo, bosques mesófilo de montaña, de encino y pino. Crecen en bosques húmedos, secos y de tierras bajas; casi siempre a lo largo de la corriente de agua y terreno rocoso, principalmente a 1200 m. o menos. Plantada comúnmente en las regiones secas: Petén, Alta Verapaz, Baja Verapaz, El Progreso, Chiquimula, Santa Rosa, Guatemala, Suchitepéquez, Retahuleu, San Marcos, El Quiché, el sur de México, Honduras, El Salvador, Honduras (36, 38).

v) Usos medicinales: Se utiliza como laxante, diurético, se recomienda para tratar padecimientos del riñón. En otros casos se utiliza para tratar cálculos, enfermedades como asma, garraspera, gripa y tos (36, 38).

d. ***Prionosciadium thapsoides* DC.**

i) Familia: Apiaceae

ii) Nombres comunes: Pimientillo (39).

iii) Descripción botánica: Es una planta tosca y fuerte, aproximadamente de 3 m de alto, su tronco no es ondulado, las hojas debajo y con un número reducido de hojas en la base. Hojas radicales muy largas, con pecíolo largo, las hojas miden 35 cm, o mas y lo mismo de ancho, cuneiformes, obtusas, bastante delgadas, crenadas o aserradas con pequeños dientes, el pecíolo de las hojas tiene unas alas muy anchas y envainadas, la inflorescencia es muy larga y muy ramificada, las ramas escabrosas. La umbela es de 7 cm de ancho, con numerosos rayos alrededor, la fruta cuando esta totalmente madura mide alrededor de 13 mm de largo y 8 mm de ancho (39).

iv) Descripción geográfica: Se localiza en lugares húmedos, fríos como Huehuetenango, Guatemala (37)

v) Usos medicinales: Planta que se utiliza para bajar la fiebre, dolor de cabeza y cuerpo en general (39).

e. *Richardia sacabra* L.

i) Familia: Rubiaceae

ii) Nombres comunes: Ipecacuana blanca, golondrina blanca, crucito, botoncillo, tabaquillo, clavelito montés (34, 40).

iii) Descripción botánica: Herbácea anual, tallo postrado, formando macoyas. Hojas brácteas florales, y el tallo posee una pubescencia blanquecina. Las flores son pequeñas de color blanco dispuestas en cabezuelas terminales, sostenidas por un pedúnculo largo (34, 40).

iv) Descripción geográfica: Es una planta común en las partes cálidas de Guatemala, especialmente en las planicies de las costas, proviene comúnmente de regiones con una altura de 1500 m o más, en algunas áreas de 2000 m, y en el Volcán de Pacaya a 2500 m; planta común de los maizales, es un desperdicio de los pastizales o de los bosques de Petén, Alta Verapaz, Izabal, Sacatepéquez, Chiquimula, Jalapa, Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Guatemala, Quiché, Chimaltenango, Suchitepéquez, Quetzaltenango, Huehuetenango. Extensamente distribuido en la zonas cálidas de América, México, Honduras, El Salvador, Panamá, el sur de Perú y Argentina (34, 40).

v) Usos medicinales: Las hojas se utilizan para dolores de estómago (40).

f. *Salvia microphylla* HBK.

- i) Familia: Lamiaceae
- ii) Nombres comunes: Mirto, flor de morada, Hierba del mirto, mirto, ramoncillo, sirani tsitsiki (purépecha), diente de acamaya, mastranzo, mirto chico, mirto cultivado, mirto de castilla, toronjil, verbena (41, 42).
- iii) Descripción botánica: Herbácea o arbusto con hojas perennes, aromático, de 1 - 1.5 m de alto, con muchas ramas, vellosos, pegajoso, en el tronco. Las hojas esta opuestas en troncos vellosos de 5 - 8 mm de largo elípticas, oblongadas y ovaladas con forma de cuñas en la base, de 1 - 2.5 cm de largo, 4 - 9 mm de ancho, despuntadas, totalmente o parcialmente dentadas, un poco peludas. Las flores son rosa - rojizas o rojo - violeta, tubulares, 2 - 2.5 cm de largo; dos labios, el labio inferior es más ancho y más grueso, en forma inclinada, el cáliz en forma de campana es verde o azulado, peludo, de 7 - 15 mm de largo; generalmente opuesta o sobre los racimos de 2 - 6 en la ramas de 7 - 15 cm de largo, usualmente peludas y pegajosas (41, 42).
- iv) Descripción geográfica: Especie de hábitat terrestre en asociación con bosques de pino, pino encino y otras latifoliadas, a una altitud de 1400 - 2500 m. Cultivada ocasionalmente para ornamentación en los jardines de Jalapa, Alta Verapaz y ciudad de Guatemala, nativa de México (posiblemente nativa de la ciudad desde que fue colectada en el sur de Oaxaca) (41, 42).
- v) Usos medicinales: La parte aérea en infusión se usa contra dolores de estómago, diarrea, contra la tos y problemas menstruales, el follaje en infusión se utiliza para lavados de heridas y en baños para aliviar bronquios, el cocimiento de las hojas con otras plantas en baños se utiliza para granos, salpullido, y escarlatina con calentura. Las hojas directamente sobre el orificio auditivo para el dolor (42).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Las micosis subcutáneas se encuentran ampliamente distribuidas alrededor del mundo con focos endémicos en distintos países, dentro de los cuales se encuentra Guatemala. Estas micosis pueden desarrollarse desde una forma aguda hasta llegar a una fase crónica, que puede afectar diferentes órganos del cuerpo.

El limitado número de antimicóticos utilizados, actualmente suelen ser efectivos, sin embargo son altamente tóxicos e irritantes; por su tiempo prolongado de administración, llegando a ocasionar efectos irreversibles en algunos pacientes.

La búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento para estas micosis se fundamenta en la necesidad de un medicamento que reduzca o elimine todo efecto secundario a su uso prolongado, la falta de diferentes opciones de tratamiento y a la necesidad de un medicamento seguro.

Las plantas pueden proporcionar una alternativa para nuevos modelos de medicamentos, a partir de compuestos presentes en ellas o utilizar la planta en sí. Guatemala es un país con una amplia variedad en su flora, hecho que proporciona una ventaja en la búsqueda de nuevos antifúngicos contra los agentes causales de las micosis subcutáneas.

Por lo tanto, la búsqueda de la actividad antifúngica en plantas herbáceas es de importancia, ya que en ellas puede encontrarse una opción terapéutica adecuada, que además tendría la ventaja de una mayor disponibilidad del producto y un precio más accesible al paciente. En vista que la época actual se caracteriza por una severa crisis económica, es imprescindible buscar alternativas para el tratamiento de estas infecciones y que sean accesibles para la mayoría de la población.

Actualmente se han realizado varios estudios contra dermatofitos y hongos causales de micosis subcutáneas, encontrándose dentro de estos; tesis, trabajos de investigación y proyectos internacionales; sin embargo no existe un estudio que evalúe la actividad antifúngica contra los agentes causales del micetoma y existen muy pocos para los agentes etiológicos de esporotricosis y cromoblastomicosis.

## V. OBJETIVOS

### A. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antifúngica de seis extractos de especies herbáceas nativas guatemaltecas contra los agentes causales de micosis subcutáneas (*Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*)

### B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Adaptar el método de tamizaje *in vitro* para dermatófitos a través de la estandarización para el crecimiento de *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*
2. Determinar la actividad antifúngica *in vitro*, de extractos etanólicos de seis especies herbáceas contra *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*.
3. Determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos que tengan actividad en la fase de tamizaje contra *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*.

## VI. HIPÓTESIS

Por lo menos uno de los extractos de las seis especies herbáceas tiene actividad antifúngica contra *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*.



## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. UNIVERSO DE TRABAJO

Plantas herbáceas nativas guatemaltecas de uso medicinal.

Aislamientos de *Sporothrix schenckii* (S.1), *Fonsecaea pedrosoi* (F.1), *Madurella grisea* (M.1) y *Pyrenochaeta romeroi* (P.S.1); proporcionadas por el Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología y el Cepario del Servicio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

### Muestra

Seis extractos etanólicos de seis plantas herbáceas guatemaltecas, cuya actividad antifúngica contra micosis subcutáneas aún no han sido estudiadas, que se han seleccionado en base a:

- Plantas utilizadas popularmente como medicinales y que no se tiene registro de actividad antifúngica, pero efectivas para el tratamiento de otras afecciones (ver tabla 1).

**Tabla 1**  
**Plantas de Estudio**

Nombre de la Planta	Parte Utilizada	Nombre Común	Procedencia
<i>Eupatorium odoratum</i> L.	Hoja	Curarina de monte	Suchitepéquez
<i>Lycopodium clavatum</i> L.	Hierba	K- Amchaj	Samayac
<i>Parmentiera aculeata</i> DC.	Hoja	Cuajilote	Peten
<i>Prionosciadium thapsoides</i> DC.	Semilla	Pimientillo	San Marcos
<i>Richardia scabra</i> L.	Hierba	Golondrina blanca	Peten
<i>Salvia microphylla</i> HBK.	Hierba	Diente de acamaya	San Marcos

Fuente: Registro del Laboratorio de Bioensayos

## **B. RECURSOS**

### **1. Humanos**

- a. Tesista: Br. Rosario Judith Villatoro Hernández
- b. Asesor: Lic. Armando Cáceres
- c. Asesor: Licda. Isabel Gaitán Fernández

### **2. Institucionales**

- a. Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC).
- b. Servicio de Micología, del Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.
- c. Área de Microbiología del Hospital Roosevelt
- d. Laboratorio de Productos Naturales FARMAYA, S.A.
- e. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

### **3. Materiales**

- a. Equipo
  - Autoclave
  - Balanza Analítica
  - Cabina de Bioseguridad Nivel II
  - Estufa
  - Incubadora a 37°C
  - Incubadora a 27°C
  - Mechero
  - Microscopio
  - Refrigeradora a 5°C
  - Sonicador
  - Vortex (agitador)

## b. Reactivos

- Agar - agar
- Agar Sabouraud
- Agar Mueller Hinton
- Agua desmineralizada
- Dextrosa
- Etanol al 50%
- Etanol al 70%
- Fosfato diácido de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
- Peptona
- Solución salina estéril al 85%
- Sulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )
- Anfotericina B
- Ketoconazol

## c. Materiales

- Asas en argolla
- Asas en espátula
- Asas en punta
- Cajas de Petri simples
- Cajas de Petri cuadriplate
- Cámara de Neubauer
- Campanillas de Durham
- Ependorf
- Matraces de 50 mL
- Matraces de 250 mL
- Matraces de 500 mL
- Fósforos
- Frascos de 5 mL con tapón de rosca
- Gradillas

- Pipetas automáticas de 10 - 100  $\mu\text{L}$
- Pipetas automáticas de 100 - 1000  $\mu\text{L}$
- Tips amarillos de 200  $\mu\text{L}$
- Tips azules de 1000  $\mu\text{L}$
- Tubos de vidrio con tapadera de rosca de 15 mL
- Pipetas
- Pipetores

## 1. Procedimiento

### a. Obtención del extracto de las plantas

Los extractos etanólicos de las plantas utilizados en el estudio fueron proporcionados por el Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Estos extractos fueron obtenidos por percolación y concentración en rotavapor de material de la planta seca en etanol al 95%.

Se utilizó el método para hongos filamentosos descrito por Brancato & Golding modificado por MacRae *et al.* para evaluar la actividad antifúngica (43).

### b. Estandarización de la metodología para hongos filamentosos descrito por Brancato & Golding modificado por MacRae *et al.* para evaluar la actividad antifúngica de la fase micelial de *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*, con el objetivo determinar el crecimiento óptimo de las colonias.

Se realizó una curva de crecimiento, utilizando agar Sabouraud con etanol al 50%, se inoculó una suspensión de esporas preparada en solución salina de 100 esporas/ $\mu$  (10 esporas por cuadrante); para evaluar el desarrollo óptimo de los hongos *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*. Para *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi* su curva de crecimiento se determinó según estudios anteriores (23, 24)

### c. Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de las plantas contra la fase micelial de *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*.

## i) Preparación del inóculo

- El medio Takashio para esporulación del hongo se preparó con 0.6 g de dextrosa, 0.3 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.3 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.3 g de peptona y 0.6 g de agar-agar disuelto en 300 mL de agua desmineralizada.
- Se sirvió 6 mL de medio preparado en tubos con tapón de rosca, y luego se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 121°C y dejando solidificar con el mayor declive posible.
- Para descartar contaminación el medio se incubó durante 24 horas a 37°C.
- Los hongos se sembraron con un asa de nicromo en L y fueron incubados a 27°C para *Sporothrix schenckii* 21 días, *Fonsecaea pedrosoi* y *Pyrenochaeta romeroi* 23 días y para *Madurella grisea* 24 días hasta obtener un crecimiento homogéneo de la colonia.
- Se agregó a cada tubo 2 mL de solución salina estéril al 85% y se desprendió cada hongo con el asa de nicromo.
- El material obtenido se trasvasó a tubos con tapón de rosca estériles, y luego se agitó durante 2 minutos en vortex para luego hacer un conteo de esporas en cámara de Neubauer.
- La suspensión de esporas preparada en solución salina fue de 100 esporas/μL (10 esporas por cuadrante).

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

- Se prepararon tubos con 13.5 mL de agar Sabouraud, los cuales se esterizaron en autoclave a 121°C durante 15 minutos, dejando enfriar a 50°C para luego agregar 1.5 mL de extracto de la planta a ensayar (concentración de 10 mg/mL) y obtener una concentración final del extracto de 1 mg/mL.
- El medio de cultivo se sirvió en cajas de petri estériles, dejando solidificar e incubándolos a 37°C durante 24 horas para comprobar esterilidad. Las cajas se guardaron en refrigeración hasta el momento de usarlas.

## iii) Inoculación del hongo

- Se abrieron agujeros en las cajas de agar-planta con campanillas de Durham estériles de 5 mm de diámetro.
- De la suspensión de esporas se tomaron 30  $\mu$ L y se depositaron en los agujeros, las cajas se incubaron a 27°C de 21 - 24 días según el hongo, haciendo un total de cuatro repeticiones para cada ensayo.
- Como control negativo se utilizó una caja con agar Sabouraud y etanol al 50%, donde los hongos crecieron en un 100%; y como control positivo una caja con agar Sabouraud más antibiótico (anfotericina B para *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*; Ketoconazol para *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*) para cada hongo a una concentración determinada (1 mg/mL), la cual inhibiría el crecimiento total de los hongos.

## iv) Interpretación de resultados

Los diámetros de las colonias de los hongos se midieron en milímetros y la actividad se determinó de la siguiente manera:

Actividad positiva: extractos en los cuales el diámetro de la colonia sea de 75% o menor respecto al control negativo.

Actividad negativa: extractos en los cuales la colonia crezca más del 25% respecto al control negativo.

- d. Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de las plantas contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*.
  - i. Preparación del inóculo para la fase levaduriforme
    - Se prepararon cajas con 20 mL agar Mueller Hinton (MH) con sangre al 10%, se incubaron a 37°C durante 24 horas para comprobar esterilidad.

- Para estimular la conversión del hongo de su fase miceliar a levaduriforme se sembró en agar MH con sangre durante 5 días a 37°C, ambiente de CO<sub>2</sub> y humedad hasta obtener un crecimiento uniforme.
  - Se prepararon tubos con 5 mL de solución salina estéril y se inoculó la levadura hasta obtener una turbidez de 0.5 del estándar de MacFarland.
- ii. Preparación del medio de cultivo (agar- planta)
- Se prepararon agar MH con 10% de sangre. Se sirvió en cada caja 18 mL de agar y 2 mL de extracto (10 mg/mL) para una concentración final de 1 mg/mL
  - El medio se dejó solidificar, se incubó a 37°C por 24 horas para comprobar esterilidad. Las cajas se guardaron en refrigeración hasta el momento de su uso.
- iii. Inoculación de levaduras en placa
- En las cajas con agar - planta se inoculó con el asa de nicromo en argolla la suspensión de levaduras, haciendo ocho estrías en el medio.
  - Se incubó a 36°C durante 5 días.
  - Para el control negativo se sembró por estrías la levadura en una caja de agar MH sin extracto y como control positivo una caja con anfotericina B para este hongo.
- iv. Interpretación de resultados
- Se observó el crecimiento de la levadura en el medio y se determinó como:
- Actividad antilevadura positiva: Ausencia del crecimiento de la levadura en el agar planta.
- Actividad antilevadura negativa: Presencia de crecimiento de la levadura en el agar planta.

## 2. Diseño estadístico

### a. Tipo de estudio

Experimental. Muestreo no probabilístico, por conveniencia con un total de cuatro repeticiones para un nivel  $\alpha = 0.05$ . La determinación de la actividad antifúngica de los extractos tuvo una concentración igual a 1 mg/mL.

### VARIABLES DE INTERÉS

Variable independiente: plantas herbáceas nativas guatemaltecas consideradas como medicinales.

Variable dependiente: Actividad antifúngica o antilevadura de los extractos etanólicos de seis plantas seleccionadas.

#### b. Validez del Método

Actividad antifúngica de la fase miceliar. Se utilizó como control positivo agar saboraud con anfotericina B para *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*; Ketoconazol para *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi* en concentración de 1 mg/mL, la cual presentó un 100% de inhibición de los hongos; y como control negativo agar saboraud con etanol al 50% donde hubo crecimiento óptimo de los hongos. Se realizaron cuatro repeticiones de cada ensayo (43).

#### c. Análisis de datos

Los datos fueron tabulados y posteriormente analizados de acuerdo con el parámetro anteriormente descrito. Se realizó una prueba de hipótesis binomial donde:

$H_0: P \leq 0.05$  (el extracto no tiene efecto).

$H_0: P \geq 0.05$  (el extracto si tiene efecto).

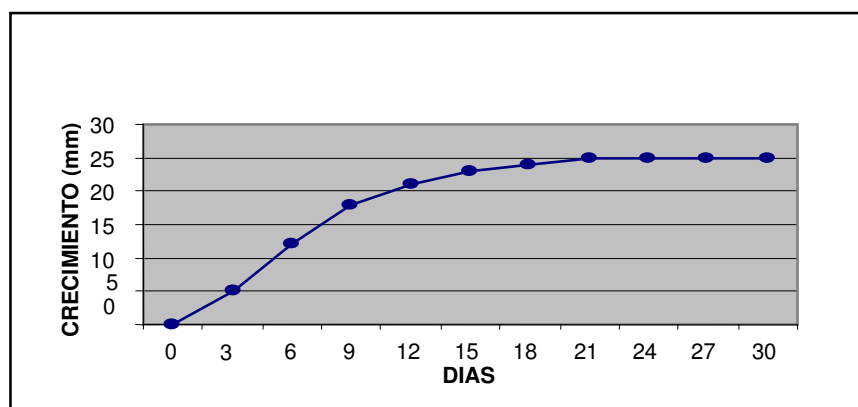


## VIII. RESULTADOS

### A. ESTANDARIZACIÓN DE LA METODOLOGÍA

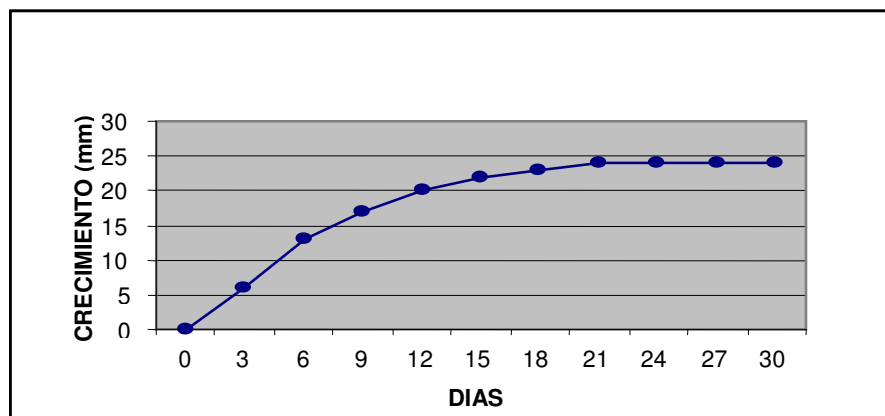
El método para hongos filamentosos descrito por Brancato & Golding modificado por MacRae fue adaptado para el crecimiento de *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*, determinándose que el desarrollo máximo de las colonias del primero de ellos fue a los 24 días de incubación a 27°C y (Gráfica 1) del segundo fue a los 23 días a la misma temperatura (Gráfica 2).

**Gráfica 1**  
**Curva de Crecimiento de la fase miceliar de *Madurella grisea***



Fuente: Datos experimentales \*

**Gráfica 2**  
**Curva de crecimiento de la fase miceliar de *Pyrenochaeta romeroi***



Fuente: Datos experimentales \*

\* Los valores utilizados para graficar fueron las medias de los diámetros obtenidas por las colonias.

## B. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

El tamizaje antifúngico para la fase miceliar de los hongos estudiados no demostró actividad antifúngica para los extractos a una concentración de 1 mg/mL. La ausencia de actividad fue demostrada al no existir diferencia estadísticamente significativa entre el diámetro de las colonias respecto al control ( $p \geq 0.05$ ), así como por el porcentaje de inhibición.

Al respecto, se indica que para la fase miceliar de *Sporothrix schenckii*, los extractos seleccionados no presentaron actividad positiva, sin embargo, el extracto que presentó mayor porcentaje de inhibición del hongo fue *Richardia scabra* L. (Tabla 2).

**Tabla 2**  
**Tamizaje antifúngico de los 6 extractos contra la fase miceliar de**  
***Sporothrix schenckii***

Especie	Diámetro (mm)	%Inhibición	Actividad	Valor p*
<i>Eupatorium odoratum</i> L.	30	6.2	-	0.853
<i>Licopodium clavatum</i> L.	29	9.4	-	0.771
<i>Parmentiera aculeata</i> DC.	29	9.4	-	0.073
<i>Prionosciadium thapsoides</i> DC.	27	15.6	-	0.312
<i>Richardia scabra</i> L.	25	21.9	-	0.816
<i>Salvia microphylla</i> HBK.	28	12.5	-	0.707

*Fuente: Datos Experimentales*

(-) Actividad negativa a una concentración de 1 mg/mL. El control presentó un diámetro de 32 mm equivalente al 100% de crecimiento del hongo el cual fue incubado a 27°C durante 21 días.

\*Valor de la probabilidad con el análisis ANOVA ( $\alpha = 0.05$ ), de acuerdo con el diámetro de la colonia del hongo, respecto al control.

En cuanto a la fase miceliar de *Fonsecaea pedrosoi* y *Madurella grises*, el extracto que presentó mayor porcentaje de inhibición de las colonias fue *Eupatorium odoratum* L. (Tabla 3 y 4), mientras que para la fase miceliar de *Pyrenochaeta romeroi* el extracto que presentó el mayor porcentaje de inhibición fue *Prionosciadium thapsoides* DC. (Tabla 5).

**Tabla 3**  
**Tamizaje antifúngico de los 6 extractos contra la fase miceliar de**  
*Fonsecaea pedrosoi*

<b>Especie</b>	<b>Diámetro (mm)</b>	<b>%Inhibición</b>	<b>Actividad</b>	<b>Valor p*</b>
<i>Eupatorium odoratum</i> L.	19	34.5	-	0.122
<i>Lycopodium clavatum</i> L.	26	10.3	-	0.667
<i>Parmentiera aculeata</i> DC.	28	3.4	-	0.338
<i>Prionosciadium thapsoides</i> DC.	24	17.2	-	1.000
<i>Richardia scabra</i> L.	28	3.4	-	0.667
<i>Salvia microphylla</i> HBK.	21	27.6	-	0.635

*Fuente: Datos Experimentales*

(-) Actividad negativa a una concentración de 1 mg/mL. El control presentó un diámetro de 29 mm equivalente al 100% de crecimiento del hongo el cual fue incubado a 27°C durante 23 días.

\*Valor de la probabilidad con el análisis ANOVA ( $\alpha = 0.05$ ), de acuerdo con el diámetro de la colonia del hongo, respecto al control.

**Tabla 4**  
**Tamizaje antifúngico de los 6 extractos contra la fase miceliar de**  
*Madurella grisea*

<b>Especie</b>	<b>Diámetro (mm)</b>	<b>%Inhibición</b>	<b>Actividad</b>	<b>Valor p*</b>
<i>Eupatorium odoratum</i> L.	12	53.8	-	0.707
<i>Lycopodium clavatum</i> L.	26	0	-	0.632
<i>Parmentiera aculeata</i> DC.	25	3.8	-	0.316
<i>Prionosciadium thapsoides</i> DC.	23	11.5	-	0.795
<i>Richardia scabra</i> L.	25	3.8	-	0.155
<i>Salvia microphylla</i> HBK.	19	26.9	-	0.316

*Fuente: Datos Experimentales*

(-) Actividad negativa a una concentración de 1 mg/mL. El control presentó un diámetro de 26 mm equivalente al 100% de crecimiento del hongo el cual fue incubado a 27°C durante 24 días.

\*Valor de la probabilidad con el análisis ANOVA ( $\alpha = 0.05$ ), de acuerdo con el diámetro de la colonia del hongo, respecto al control.

**Tabla 5**  
**Tamizaje antifúngico de los 6 extractos contra la fase miceliar de**  
*Pyrenochaeta romeroi*

<b>Especie</b>	<b>Diámetro (mm)</b>	<b>%Inhibición</b>	<b>Actividad</b>	<b>Valor p*</b>
<i>Eupatorium odoratum</i> L.	16	42.9	-	0.130
<i>Licopodium clavatum</i> L.	24	14.3	-	0.919
<i>Parmentiera aculeata</i> DC.	22	21.4	-	0.667
<i>Prionosciadium thapsoides</i> DC.	13	53.6	-	0.868
<i>Richardia scabra</i> L.	20	28.6	-	0.199
<i>Salvia microphylla</i> HBK.	17	39.3	-	0.497

*Fuente: Datos Experimentales*

( - ) Actividad negativa a una concentración de 1 mg/mL. El control presentó un diámetro de 28 mm equivalente al 100% de crecimiento del hongo el cual fue incubado a 27°C durante 23 días.

\*Valor de la probabilidad con el análisis ANOVA ( $\alpha= 0.05$ ), de acuerdo con el diámetro de la colonia del hongo, respecto al control.

En el tamizaje de los seis extractos contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii* a una concentración de 1 mg/mL, ninguno de los extractos presento actividad a la concentración estudiada (Tabla 6).

**Tabla 6**  
**Tamizaje antifúngico de los seis extractos contra la fase**  
**levaduriforme de *Sporothrix schenckii***

<b>Especie</b>	<b>Parte</b>	<b>Actividad</b>
<i>Eupatorium odoratum</i> L.	Hoja	-
<i>Licopodium clavatum</i> L.	Hierba	-
<i>Parmentiera aculeata</i> DC.	Hoja	-
<i>Prionosciadium thapsoides</i> DC.	Semilla	-
<i>Richardia scabra</i> L.	Hierba	-
<i>Salvia microphylla</i> HBK.	Hierba	-

*Fuente: Datos Experimentales*

( - ) Actividad negativa a una concentración de 1 mg/mL

## IX. DISCUSIÓN

En las curvas de crecimiento se observó que para *Madurella grisea* el crecimiento óptimo fue a los 24 días de incubación y para *Pyrenochaeta romeroi* fue a los 23 días, a 27°C, temperatura de incubación, lo cual permitió estandarizar el tiempo de crecimiento máximo de los hongos. El bioensayo de la fase miceliar fue una adaptación de la metodología de Brancato & Golding modificado por MacRae para hongos filamentosos.

Es importante mencionar que la literatura reporta 12 días para el crecimiento máximo de *Madurella grisea*; por lo que se considera prolongado el tiempo reportado en el estudio, probablemente se debió a factores aleatorios como condiciones ambientales, niveles de nutrientes en los medios de cultivo, la cantidad de suspensión de esporas inoculada, entre otros (45).

La ausencia de actividad antifúngica de los seis extractos contra la fase miceliar de *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi* y también para la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*, difieren con lo encontrado en otros estudios, en los que se ha reportado un porcentaje bajo de actividad antifúngica de extractos de otras plantas para los mismos hongos. Los agentes causales de micosis subcutáneas, son patógenos de difícil tratamiento, pues no responden a los antifúngicos de elección y por ser *Sporothrix schenckii* un hongo dimórfico, es difícil encontrar extractos de plantas que los inhiban (23, 24, 46).

Estudios realizados en otros países, como Perú, 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, no incluyendo ninguna de las plantas investigadas en este trabajo. En dicho estudio los extractos se ensayaron a una concentración de 25mg/mL, la cual es considerada muy alta para el tratamiento de estas micosis subcutáneas, tampoco se indica si existen riesgos por el consumo de altas concentraciones de los extractos de estas plantas en humanos (47).

La actividad contra *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi* no había sido evaluada previamente para los extractos *Salvia microphylla* y *Prionosciadium thapsoides*. Dichos extractos ya habían sido estudiados para

determinar su actividad antibacteriana y antifúngica contra *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium smegmatis* y *Bacillus subtilis*; presentando actividad solamente contra *Mycobacterium smegmatis* y *Trichophyton rubrum* (46).

En el presente estudio ambos extractos fueron evaluados en *Candida albicans*, sin embargo, no se encontró ninguna actividad. Por lo que es importante destacar que todas las plantas estudiadas poseen registro de uso medicinal popular para otras afecciones (infecciones respiratorias, infecciones digestivas, infecciones renales, etc.) y los resultados obtenidos efectivamente demostraron que no poseen actividad antifúngica contra los agentes causales *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi* evaluados *in vitro* (34-42).

Es importante indicar que el tamizaje antifúngico se realizó en fase miceliar con excepción de *Sporothrix schenckii* que si se evaluó su fase parasítica, debido a que puede penetrar en los tejidos del ser humano constituyéndose en la fase causante de la enfermedad. En este sentido, existe evidencia que *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi* pueden desarrollar cambios adaptativos *in vivo*, como duplicación de pared celular, crecimiento, proliferación del citoesqueleto de carbohidratos y desarrollo de exotoxinas, lo cual puede ser un factor que influyó en la ausencia de actividad de los extractos contra dichos hongos (9).

Por lo que es necesario realizar otros estudios que evalúen la fase parasítica de *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*, debido a que esta fase es la patógena para el ser humano (9)

Los agentes causales de micosis subcutáneas, son patógenos de difícil tratamiento, pues no responden a los antifúngicos de elección, de allí la importancia de encontrar extractos de plantas que sirvan como una nueva alternativa para su tratamiento.

Si bien, en esta investigación no se encontró actividad en los extractos y los hongos estudiados, se aportó la estandarización del crecimiento miceliar de *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*.

## X. CONCLUSIONES

1. El crecimiento óptimo para *Madurella grisea* fue a los 24 días de incubación y para *Pyrenochaeta romeroi* fue a los 23 días a 27°C a través del método de Brancato & Golding modificado por MacRae para el tamizaje de hongos filamentosos.
2. Los seis extractos del estudio no presentaron actividad antifúngica contra la fase miceliar de *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*.
3. Los seis extractos del ensayo no presentaron actividad antifúngica contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*.

## XI. RECOMENDACIONES

1. Adaptar la metodología utilizada en este estudio para el tamizaje de otros hongos, debido a que es confiable y reproducible.
2. Realizar estudios de tamizaje con otras plantas nativas guatemaltecas para determinar la actividad antifúngica contra *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi* en su fase miceliar; que permitan la síntesis de otras opciones de tratamiento para micosis subcutáneas.
3. Hacer estudios en donde se utilice la fase parasítica de *Fonsecaea pedrosoi* (células fumagoides o esclerotes de Medlar) para establecer si los extractos actúan de forma similar en la fase miceliar que en la levaduriforme.
4. Evaluar otros solventes orgánicos para la extracción del principio activo de estas plantas que permitan determinar si existe actividad antifúngica contra los agentes causales de micosis subcutáneas.



## XII. REFERENCIAS

1. Logeman HK. Manual Práctico de Micología Médica. Guatemala: Bayer, 1995. 227p.
2. Rippon JW. Micología Médica; Hongos y Actinomicetos Patógenos. 3 ed. México: Interamericana, McGraw Hill, S.A. de C.V., 1990. 854p.
3. Dubos R. Bacterial and Mycotic of Microorganism. 3 ed. USA: Lippincott Company, 1998. 820p.
4. Jawetz E. Melnick J. Adelberg E. Review of Medical Microbiology. USA: Lange Medical Publications, 1982. 553 p.
5. Arango M. Castañeda E. Micosis Humanas. Corporación para Investigaciones Biológicas CIB, Medellín. Bogota D.C., 1995. 195p.
6. MacGinnis M. D' Amato T. Geoffery A. Pictorial Handbook of Medically Important Fungi and Aerobic Actinomycetes. USA: Land Praeger Publishers, 1982. 160p.
7. Physicians GebRX. The complete drug referente. USA: Mosby, 1996. 2130p.
8. Flores R. Atlas de las Plantas Medicinales y Curativas. Barcelona: Cultural, S. A. 1997. 110 p.
9. Arenas R. Micología Médica Ilustrada. 2 ed. México: Interamericana, McGraw Hill, S.A. 2003. 352 p.
10. Gobernado M. Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. Revista Iberoamericana de Micología 2001; ISBN: 84-607-3050-6; 10-19p.
11. Larone DH. Medically Important Fungi. 4<sup>TH</sup> edition Washington, D.C. USA., 2002, 409p.
12. Anaissi EJ. McGinnis MR. Pfaller MA. Clinical Mycology. USA: Churchill Livingstone, 2003. 608p.
13. Zamarrita 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.

14. Stites D. *et al.* Inmunología Básica y Clínica. 9 ed. México: Manual Moderno, S.A. de C.V., 1998. 1080p.
15. Smith CM. Reyard AM. Farmacología. Argentina: Médico Panamericano, 1995. 1135p.
16. Torres BM. Vázquez E., González A. Efecto del yoduro de potasio sobre la respuesta inmune en la esporotricosis en México. *Rev Iberoam Micol* 1997; 14:98-100.
17. Teixidor JR. *et al.* Medicina Interna. Barcelona: Masson, S.A., 1998. 1938p.
18. Lumbreras C. Lizasoain M. Aguado JM. Antifúngicos de uso Sistémico en Madrid. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21(7):366-80.
19. Dartzung BG. Farmacología Básica y Clínica. 8 ed. México: El Manual Moderno, 2002. 1346p.
20. Dartzung BG. Farmacología Básica y Clínica. 6 ed. México: Manual Moderno, 2002. 1346p.
21. Perez A. Terbinafine: broad new spectrum of indications in several subcutaneous and systemic and parasitic diseases. *Mycoses*. 1999; 42:111-114.
22. Gupta AK. Taborda PR. Sanzovo AD. Alternate web and combination itraconazole and terbinafine therapy for chromoblastomycosis caused by *Fonsecaea pedrosoi* in Brazil. *Med Mycol*. 2002; 40(5):529-534.
23. Del Cid NE. Actividad de diecisiete extractos de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Fonseca pedrosoi*. Guatemala: Universidad de San Carlos. (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2005. 52p.
24. Gaitán IC. Actividad de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii*. Guatemala: Universidad de San Carlos. (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2005. 59p.
25. Wiley J. Antifungal Chemotherapy Review of Bacteriology. USA: D.C.E: Speller, 1980. 446p (p.8, 22-25).
26. Martínez CA. *et al.* Tratamiento de las Micosis Profundas. Estado actual. Cuba. *Acta Médica* 1998; 8(1):80-5.

27. Wiley J. Antifungal Chemotherapy Department of Bacteriology. USA: D.C.E. Speller, 1980. 446p.
28. Alio AB, *et al.* Cromomycosis: Uso del tratamiento combinado de itraconazol y 5 fluorouracilo en *Fonseca pedrosoi* e itraconazol y criospray en *Exophiala jeanselmei* var *lecanii*-Corni. Derm. Venez, 2001; 39:11-15.
29. Morton JF. Atlas of Medicinal Plants of Middle América. Springfield: Charles C. Thomas Publisher, 1981. 1420p.
30. Cáceres A. Saravia A. Actividad antifúngica de plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria (Cuaderno de investigación 7-92, Dirección General de Investigación DIGI, UDAC) 1993. 89p.
31. Comerford SC. Medicinal Plants of two Mayan healers from San Andres, Petén. Guatemala. Econ Bot 1996; 50:327-336.
32. 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.
33. Guevara CL. Plantas medicinales utilizadas por los Itzaes, San José Petén. Guatemala: Asociación Biotzá, 2001. 118p.
34. Nash D. Williams LO. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana: Botany 24(12): 1976. 603p.
35. Martínez JV. *et al.* Fundamentos de agrotecnología, de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas. Bogotá: CYTED 2000,524p.
36. Standley PC. Williams LO. Nash D. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany 24(10): 1974. 465p.
37. INI. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, 1994. 1:16
38. House PR. Plantas Medicinales Comunes en Honduras. Tegucigalpa: UNAH/CIMN-/H/CID/CHR/GTZ. 1995.407 p.
39. Standley PC. Williams LO. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany 24(9): 1973. 417p.
40. Cáceres A. Plantas de uso medicinal em Guatemala. Guatemala: Editorial Universitária, 1996. 402 p.

41. Standley PC. Williams LO. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany 24(12): 1970. 236p.
42. Naranjo P. Medicina Indígena y Popular de América Latina y Medicina Contemporánea. Guatemala. Instituto Indigenista Nacional. (13): 1978.617p.
43. Brancato FP, Golding NS. The Diameter of the Mold Colony as a Reliable Measure of Growth J. of Mycol 1953 45:848-863.
44. Mac Rae WD. *Et al* Studies of the pharmacological activity of Amazonian euphorbiaceae. J. Ethnopharmacology. 1988; 22:147-142.
45. Larone H. Medically Important Fungi A Guide to Identification. 4ed. Washington, DC. USA. 2002. 409pp.
46. Lorenzana L. *et al*. Actividad Biocida de seis plantas de uso medicinal en el municipio de Tacaná, San Marcos, Guatemala. Revista Científica 2005. Vol. 3: 8-13. 48p.
47. Rojas R. *Et al*. Antimicrobial Activity of selected Peruvian medicinal plants. J. Of Ethnopharmacology, 2003. 88:99-204.

### XIII. ANEXOS

#### ESPOROTRICOSIS



*Sporothrix shenckii*  
(Agente causal)

**Esporotricosis**

#### CROMOBLASTOMICOSIS



*Fonsecaea pedrosoi*  
(Agente Causal)

**Cromoblastomycosis**

#### MICETOMA



*Madurella grisea*  
*Pyrenochaeta romeroi*  
(Agente causal)

**Micetoma**