

## I. RESUMEN

Las micosis subcutáneas se definen como infecciones de curso agudo, subagudo o crónico, que involucran al tejido cutáneo, subcutáneo y pueden extenderse a órganos adyacentes (huesos, médula ósea y pulmones). La infección se adquiere por traumatismo con espinas de plantas y materiales punzo cortantes. La más frecuente de estas micosis es la esporotricosis, seguida de micetoma y por último la cromoblastomicosis (1).

Los tratamientos utilizados para estas micosis, aunque son muy efectivos, tienen el inconveniente que por su prolongado tiempo de administración, producen efectos secundarios muy severos y pueden llegar a dañar algunos órganos, principalmente riñones y médula ósea (1-3).

El objetivo del presente estudio fue la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas contra los agentes causales productores de micosis subcutáneas (*Sporotrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*), por medio del tamizaje de seis extractos de árboles de uso medicinal en Guatemala; *Bocconia arborea* Wats. (sangre de chucho), *Pimenta dioica* L. (pimenta gorda), *Ternstroemia tepezapote* Schlect. & Cham. (barajillo), *Vernonia deppeana* Less. (siquinay), *Cassia grandis* L. (carao) y *Pouteria viridis* Pitt. Cronq. (zapote verde), evaluando así la actividad antifúngica *in vitro* que pudieran presentar dichos extractos.

La evaluación del tamizaje antifúngico en los seis extractos etanólicos de especies de árboles de uso medicinal en Guatemala, determinado a través del porcentaje de inhibición del crecimiento de la colonia en su fase miceliar, no presentó actividad antifúngica significativa ( $p > 0.10$ ), contra los agentes causales estudiados, de igual manera para la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*.

Por lo anterior, se recomienda realizar más estudios de tamizaje, con otras plantas utilizadas popularmente por la población guatemalteca, con el fin de determinar su actividad antifúngica *in vitro* contra los agentes causales de micosis subcutáneas y así, aportar más alternativas terapéuticas.

## II. INTRODUCCIÓN

Las micosis subcutáneas se definen como infecciones de curso agudo, subagudo o crónico, que involucran al tejido cutáneo, subcutáneo y pueden extenderse a órganos adyacentes (huesos, médula ósea y pulmones). La infección se adquiere por traumatismo con espinas de plantas y materiales punzo cortantes. Se asocia a trabajadores de campo, con predominio del sexo masculino sobre el femenino. La más frecuente de estas micosis es la esporotricosis, seguida de micetoma y por último la cromoblastomicosis (1).

La esporotricosis es una micosis causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*, el cual se encuentra en la naturaleza en forma micelial y en el hospedero en forma de levadura. Las lesiones se presentan principalmente en la cara y extremidades inferiores. Para su tratamiento, los medicamentos de elección son el yoduro de potasio y la anfotericina B. Estos, aunque son muy efectivos, tienen el inconveniente que por su prolongado tiempo de administración, producen efectos secundarios muy agresivos y pueden llegar a dañar algunos órganos, principalmente riñones y médula ósea (1-3).

El micetoma causa lesiones agudas, subagudas o crónicas, extendiéndose algunas veces desde el tejido subcutáneo hasta los huesos. Existen dos tipos de micetoma; el eumicetoma y el actinomicetoma. Entre los agentes causales de eumicetoma se encuentran *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi* (1, 2).

La cromoblastomicosis es una micosis subcutánea de evolución extremadamente crónica con formación de nódulos y placas verrucosas, que pueden ulcerarse y dar lugar a masas tumorales papilomatosas que presentan un aspecto característico de coliflor, que afecta principalmente a miembros inferiores. Sus principales agentes causales son *Phialophora verrucosa*, *Cladophialophora carrionii*, *Fonsecaea compacta* y *F. pedrosoi*; siendo este último, el único agente causal reportado en Guatemala. El tratamiento consiste en procedimientos invasivos quirúrgicos y en drogas poco selectivas como la anfotericina B, sola o en combinación con 5-fluorocitosina (1, 4, 5).

Desde la antigüedad, se han preparado pócimas o remedios utilizando como materia prima plantas para el tratamiento de enfermedades. El uso de éstas con fines

medicinales es tradicional en Guatemala. Los padecimientos de la piel constituyen un grupo importante de enfermedades que se tratan con plantas medicinales o sus productos y se conocen varias que se usan para el tratamiento de dermatofitosis (6-9).

En el Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Cáceres y colaboradores ha investigado la actividad antifúngica de los agentes causales de micosis subcutáneas contra varias plantas de uso medicinal en Guatemala, encontrándose actividad interesante. Se han realizado tesis de graduación, sobre plantas con actividad antifúngica contra *S. schenckii*, y *F. pedrosoi*, sin embargo no se habían evaluado plantas contra los agentes causales de micetoma (3,5).

El objetivo del presente estudio fue la búsqueda de la actividad antifúngica de seis extractos etanólicos de árboles de uso medicinal en Guatemala: *V. deppeana*, *B. arborea*, *T. tepezapote*, *C. grandis*, *P. dioica* y *P. viridis*, contra agentes causales de micosis subcutáneas *S. schenckii*, *F. pedrosoi*, *M. grisea* y *P. romeroi*. Los seis extractos etanólicos fueron incluidos en este estudio, ya que algunos de ellos son utilizados popularmente para el tratamiento de afecciones dérmicas, sin embargo ninguno había sido estudiado para el tratamiento de micosis subcutáneas.

### III. ANTECEDENTES

#### A. ESPOROTRICOSIS

##### 1. Definición

Micosis subcutánea que se caracteriza por lesiones que se localizan principalmente en cara y extremidades así como por la presencia de nódulos que dan lugar a lesiones fijas verrugosas o linfangíticas, de evolución subaguda o crónica. En raras ocasiones es extracutánea o sistémica y entonces afecta pulmones, huesos o articulaciones (2).

##### 2. Agente etiológico y forma de contagio

La esporotricosis es una infección micótica causada por el hongo dimórfico, *Sporothrix schenckii*, cuyo hábitat natural son los suelos, el agua y las plantas. A temperatura ambiente se presenta bajo la forma de micelio y en los tejidos del hospedero se desarrolla como levadura. La infección se adquiere por inoculación directa del hongo. Es una enfermedad usualmente benigna que se manifiesta principalmente por lesiones en la piel y el tejido celular subcutáneo. En algunos casos compromete, también articulaciones y huesos. No hay diferencias con respecto a la edad. Generalmente hay antecedentes ocupacionales de trabajo con plantas, agua o tierra (2).

La forma más frecuente de adquirir la enfermedad es por trauma directo con fragmentos vegetales, herramientas de labranza o agujas contaminadas, además por arañazos de gatos y por mordedura de animales. Los casos sistémicos de la infección ocurren por inhalación o por vía digestiva y generalmente, se presentan en pacientes inmunocomprometidos. La enfermedad puede presentarse en animales domésticos, hay transmisión de persona a persona y de animales a persona. Las lesiones se localizan principalmente en los miembros superiores e inferiores y en los niños las lesiones pueden ser faciales (10).

*S. schenckii* presenta una fase saprobia o micelial que se encuentra en la naturaleza o en medios de cultivo a nivel del laboratorio. Microscópicamente presenta micelio fino, septado y conidióforos largos y delgados, denominados simpodios, los que dan origen a los simpodioconidios. Es un hongo de crecimiento rápido. En el

medio de Sabouraud, se puede apreciar una pequeña colonia crema, radiada, de apariencia pastosa, la que posteriormente (después de una semana), se torna café en el centro y más claro en la periferia, hasta adquirir un tono más oscuro casi negro. La forma levaduriforme se puede obtener cuando el hongo se siembra en agar infusión de cerebro y corazón (BHI) con sangre al 10 % y se incuba a 37°C en una atmósfera de CO<sub>2</sub>. Después de una semana de incubación, se puede observar una colonia pequeña, pastosa, de superficie irregular y de color crema (1, 2).

La fase parasítica o forma levaduriforme, se presenta en las muestras clínicas con forma de levaduras alargadas, ovaladas o ligeramente redondas. En muestras en fresco, se pueden visualizar con el fenómeno llamado Splendore-Hoeppli (2).

### **3. Epidemiología**

Es una enfermedad cosmopolita, excepto en los polos. El mayor número de casos se ha descrito en Norteamérica. También se ha observado en otros países tropicales y subtropicales como México, Guatemala y Colombia. En la mayoría de países endémicos, es la micosis subcutánea más frecuente. En Guatemala, la primera zona endémica fue la Laguna Ayarza (al norte del departamento de Santa Rosa). En este lugar se comunicó un brote en 53 varones pescadores de tilapia. Actualmente se conocen varios focos endémicos, tales como el departamento de San Marcos, las faldas del volcán Tacaná y Chimaltenango. Aproximadamente hasta 1994 el número de casos diagnosticados tanto en el Laboratorio de Micología de la Policlínica del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS), como en el Servicio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC) era de 285. Esta es la micosis subcutánea más frecuente en nuestro país (1, 2).

La frecuencia según el sexo no está muy clara, algunas estadísticas indican que se encuentra en ambos sexos por igual; en otras predomina en varones (3:1) y, recientemente en México se ha observado en mujeres en un 62%. Se presenta a cualquier edad, predomina en niños y jóvenes de 16 a 30 años. El caso más temprano fue informado en Guadalajara en un niño de dos días de edad mordido por una rata, el paciente de edad más avanzada era un anciano de 117 años. El hongo se ha aislado muchas veces del suelo. En Uruguay se ha aislado a partir de madrigueras de

armadillos y también ha sido demostrado en gatos, camellos, caballos, zorros, burros, mulas, ratas, perros, delfines, chimpancés, pollos, armadillos y jabalíes entre otros. En caballos es frecuente la forma fija y linfangítica y en perros y gatos las formas diseminadas (2, 11, 12).

#### **4. Cuadro clínico**

En el sitio de inoculación se forma una lesión nodular, aproximadamente después de una semana a 15 días de haber sufrido un traumatismo. Clínicamente la esporotricosis presenta varias formas. La clásica o linfocutánea, así como la fija, se encuentran en proporciones similares. También existen formas cutáneas diseminadas, mucocutáneas, multifocales y extracutáneas con tendencia a la diseminación hematogena, las cuales se presentan en pacientes inmunosuprimidos (1, 10, 13).

##### **a) Esporotricosis linfocutánea**

Es la más común, se inicia una a dos semanas después del trauma con la aparición de una lesión gomosa que se caracteriza por el desarrollo de múltiples ulceraciones profundas bien definidas, en muñecas, piernas o antebrazos, que ponen en peligro las aponeurosis, tendones y hueso. Se presenta similarmente al pioderma gangrenoso y se ha sugerido que pueda ser una forma rara de hipersensibilidad (13, 14).

Semanas después aparecen nódulos violáceos, móviles, que siguen el tracto de los nódulos linfáticos que drenan el área, sin comprometerlos directamente. Los nódulos suelen ulcerarse con el tiempo y drenan material seropurulento y serohemático. En ausencia de tratamiento específico, la actividad local persiste por lo que se pueden observar en el mismo paciente lesiones en diferentes estados (nodulares y ulcerados). Puede haber compromiso de más de una cadena linfática. Las lesiones pueden tener diferentes presentaciones; la más común es el chancro con el rosario de lesiones secundarias (13, 14).

##### **b) Esporotricosis fija**

Tiene ausencia de lesiones a distancia. El chancro de inoculación es de mayor tamaño, se implanta más profundamente en el tejido subyacente o se rodea de pequeñas lesiones satélites. El aspecto es variable, puede ser verrugoso, seco, exudativo, costroso o popular. En todos los casos hay inflamación del tejido y su aspecto es granulomatoso.

Es de curso más crónico. La localización más frecuente de esta forma de presentación es la cara, el cuello, el tronco y las piernas (10).

c) Esporotricosis con diseminación cutánea

Es rara. Esta forma se suele desarrollar como resultado de la diseminación hematológica de lesiones primarias o linfáticas, pero también puede resultar de una autoinoculación. Clínicamente se observan múltiples lesiones cutáneas en varias partes del cuerpo (10, 15).

d) Esporotricosis extracutánea

Ocurre con menos frecuencia. Puede ser por diseminación hematológica, pero, usualmente, se sugiere que la primoinfección es la pulmonar que pasa desapercibida. Los sitios frecuentemente afectados son pulmón, los huesos, las articulaciones, las meninges, las mucosas, los ojos y el sistema nervioso central. El cuadro sistémico, generalmente, es grave y puede ser fatal. Se considera una enfermedad oportunista en pacientes con anomalías en la inmunidad celular. Puede haber lesiones oculares por implantación traumática directa y se desarrolla queratitis (15).

e) Esporotricosis mucocutánea

Se presenta como lesiones eritematosas supurativas y ulcerativas que se convierten posteriormente en granulomatosas, vegetativas o papilomatosas. Se localiza en la boca, faringe, cuerdas vocales y nariz. Estas lesiones son dolorosas y con tendencia al sangrado (3).

## 5. Diagnóstico

Se basa en características clínicas de las lesiones, así como en la historia clínica. El análisis de laboratorio se inicia con una buena toma de muestra, la que puede ser material purulento (obtenido ya sea de una lesión abierta, del levantamiento de una costra, rompimiento de una pústula o punción de un nódulo cerrado) o biopsia. Se hace una evaluación del material obtenido con un examen en fresco y una coloración de Giemsa; confirmándose el diagnóstico por medio de un cultivo. También se pueden realizar estudio histológicos e inmunológicos (1, 16).

a) Examen en fresco

Observación microscópica de las levaduras en forma alargada, ovalada o ligeramente redondas. Permite orientar firmemente el diagnóstico de esporotricosis (16).

b) Coloración de Giemsa

Se observan levaduras alargadas, intra y extracelularmente, con un diámetro de 2-10  $\mu\text{m}$  (17).

c) Cultivo

Es fácil de cultivar en medios simples como el de Sabouraud y Micosel. Generalmente es el método que permite confirmar el diagnóstico. Las colonias crecen en cinco a siete días, a temperatura promedio de 26 a 27°C. En las formas diseminadas se pueden realizar hemocultivos (2, 10).

d) Estudio histopatológico

No es muy efectivo ya que las levaduras se observan en muy pocos casos. Se pueden observar granulomas piógenos con necrosis central, hiperplasia pseudoepiteliomatosa, microabscesos y epidérmicos (10).

e) Inmunohistoquímica y ELISA

La seroaglutinación con látex puede detectar anticuerpos. Usualmente, es de ayuda en la esporotricosis extracutánea (10, 17).

## 6. Diagnóstico diferencial

Debe realizarse el diagnóstico diferencial con tularemia, leishmaniasis, tuberculosis o micobacteriosis gomasas linfagíticas, tuberculosis verrugosa, articular y ósea, complejo cutáneo nervioso en lepra tuberculoide, nocardiosis primaria cutánea, micetoma y cromoblastomicosis (2, 15).

## 7. Histología de la enfermedad

En casos verrugosos crónicos puede haber hiperplasia pseudoepiteliomatosa con formación de microabscesos o ulceración del epitelio. El granuloma se caracteriza por



una zona central o supurativa crónica con polimorfonucleares, a veces verdaderos microabscesos con necrosis, con algunas células plasmáticas o linfocitos (2).

## 8. Complicaciones

En formas verrugosas, linfostasis. En casos muy crónicos, carcinoma espinocelular (2).

## 9. Tratamiento

Generalmente, la esporotricosis se trata con antifúngicos administrados oralmente en forma de gotas, los que deben ser recetados por un médico. El tratamiento suele extenderse por varias semanas, el uso de imidazoles es recomendado como tratamiento antimicótico alternativo para la mayoría de casos (18).

### a) Yoduro de potasio (KI)

Es el tratamiento de elección específico de la esporotricosis cutánea y linfocutánea (19).

i) Mecanismo de acción: Se desconoce, pues sólo actúa *in vitro* a altas concentraciones; al parecer estimula la proteólisis, el sistema de mieloperoxidasa o el sistema leucocitario favoreciendo la fagocitosis (2).

ii) Dosis: Las formas cutáneas, sobre todo las localizadas, responden bien con 3 a 6 g al día por vía oral divididos en tres dosis durante dos a cuatro meses (en adultos). En niños se administra 50 o 33% de la dosis. Con la preparación de 20 g en 300 mL de agua destilada, cada cucharada sopera tiene aproximadamente 1 g. También se usan soluciones saturadas en dosis progresivas de cinco a seis gotas al día en tres dosis. Cada semana se aumentan cinco gotas hasta llegar a 25 o 40 gotas en menores de 10 años y hasta 40 o 50 gotas en adultos; se mantiene por 6 a 12 semanas (2).

iii) Efectos secundarios: Náuseas, vómito, gastritis, rinitis, faringoamigdalitis, bronquitis, exantema, edema laríngeo, hipotiroidismo (2).

### b) Anfotericina B (ANB)

Es un antibiótico macrólido polieno derivado del *Streptomyces nodosus*. Permanece como la droga de elección para la mayoría de las micosis profundas. Aparece en su forma parenteral en 1956 y sigue teniendo como principal inconveniente su toxicidad, sobre todo renal. Ésta ha tratado de paliarse con el uso de metilésteres de

ANB, pero éstos producen leucoencefalopatía, con la utilización de perfusión de manitol, con niveles salinos adecuados y últimamente con el empleo de la ANB liposomal, evidentemente menos tóxico. Se puede emplear para las formas cutáneas extensas y para las diseminadas con compromiso pulmonar (10, 20).

i) Mecanismo de acción: La ANB actúa alterando la permeabilidad de la membrana celular de los hongos sensibles y se une a los esteroides celulares de la misma, principalmente al ergosterol (20).

ii) Dosis: El tratamiento se inicia con una dosis diaria de 0,25 mg/Kg de peso administrado en seis horas. Las dosis siguientes se aumentan paulatinamente hasta lograr un máximo de 1 mg/Kg, aunque en pacientes severamente enfermos hasta 1,5 mg/kg puede necesitarse. Algunos centros realizan una prueba de infusión previa con 1 mg/Kg administrado en veinte minutos, cuatro horas antes de comenzar el esquema clásico. El tratamiento puede durar desde semanas hasta meses en dependencia de la infección (20).

iii) Efectos secundarios: Cefaleas, náuseas, vómitos, fiebre, escalofríos, malestar, dolores musculares y articulares, anorexia, diarreas, cólicos, hipertensión arterial, arritmias cardíacas, fibrilación auricular, paro cardíaco, rash cutáneo, reacciones anafilácticas, visión borrosa, tinnitus, sordera, vértigo, alteraciones hepáticas, neuropatía periférica y convulsiones (2, 20, 21).

c) Otras alternativas antimicóticas

Algunos pacientes han sido tratados con 5-fluorocitosina a dosis de 100 mg/Kg de peso al día, y con ketoconazol a dosis de 200 mg dos veces al día. Otra alternativa es administrar griseofulvina, esporotricina en dosis progresivas, trimetoprim-sulfametoxazol 160 a 400 mg al día; o los imidazoles orales como ketoconazol, 400 mg al día, itraconazol, 200 mg diarios, o fluconazol 150 mg en dosis diarias; todos durante tres, cuatro o seis meses. También es efectiva la terbinafina a dosis de 250 a 500 mg, incluso 1 g al día, durante tres a seis meses; se recomienda administrarla un mes más después de la curación clínica. Algunos enfermos mejoran con la administración de calor local (2, 15).

En el Síndrome de Inmunodeficiencia Humana (SIDA) se ha usado con éxito el itraconazol. La infección puede suprimirse, pero no curarse, se debe mantener terapia antifúngica de por vida para evitar la recaída (2).

### **11. Pronóstico**

Con el tratamiento se espera una recuperación total. La esporotricosis diseminada es más difícil de tratar y requiere agentes quimioterapéuticos; además, esta última puede ser mortal para personas inmunocomprometidas (22).

### **12. Prevención**

Las personas inmunocomprometidas deben tratar de minimizar la exposición al hongo, tomando medidas como el uso de guantes gruesos al practicar la jardinería (22).

## **B. CROMOBLASTOMICOSIS**

### **1. Sinonimia**

Cromomicosis, dermatitis verrugosa, enfermedad de Pedroso y Lane, enfermedad de Fonseca (2).

### **2. Definición de la enfermedad**

Es una micosis profunda de localización subcutánea en miembros predominantemente inferiores, de evolución extremadamente crónica, con formación de nódulos y placas verrucosas, que pueden ulcerarse y dar lugar a masas tumorales papilomatosas que presentan un aspecto característico colifloriforme, causando atrofia de evolución lenta. Una característica importante es que forman microfístulas (2, 23).

### **3. Agentes etiológicos**

Los agentes causales son hifomicetos (*Hyphomycetes*) de la familia Dematiaceae que viven como saprobia del suelo y los 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. Las especies que principalmente producen Cromoblastomicosis son: *Fonsecaea pedrosoi*, *F. compacta*, *Phialophora verrucosa* y *Cladophialophora carrionii* (2).

Los agentes causales presentan una fase saprobia o micelial, por la cual tienen micelio septado y se diferencian entre si por el tipo de esporulación que presentan. Son de crecimiento lento y su temperatura óptima es a 25°C. En el medio de agar Sabouraud desarrollan una colonia negra, aterciopelada con ligeras variantes dependiendo de la especie (1).

En la fase parasítica se multiplican en los tejidos, no producen esporulación ni formación de yemas; presentan células café pardo con división en varios planos; conocidas como células fumagoides, células escleróticas o esclerotes de Medlar (1, 23).

a) Tipos de esporulación

i) *Phialophora*: Se caracteriza por fiálides de 3 a 4 por 4 a 8  $\mu\text{m}$ ; tienen forma de florero o botella, son sésiles, de base ancha y cuello estrecho, con collarete terminal, en el cual se encuentran las fialosporas, que son ovaladas, hialinas y de pared delgada, miden de 1 a 3 por 2 a 4  $\mu\text{m}$ . Las fialosporas se unen por un material adhesivo y se aglutinan en forma de ramillete (2).

ii) *Rhinocladiella* o *Acrotheca*: Está constituido por conidióforos alargados y pigmentados, que muestran cierta similitud con las hifas vegetativas; tienen formación acropleurógena de conidios, es decir, a los lados y en la parte terminal; adoptan distribución simpodial, miden 4 a 8  $\mu\text{m}$ , son alargadas u ovoides, tienen un pequeño denticulo y dejan en el conidióforo una pequeña cicatriz (1, 2).

iii) *Cladosporium* u *Hormodendrum*: Está dado por conidióforos cortos y pigmentados, con formación acrópeta de conidios, y cada conidio produce al subsecuente por gemación, de manera que forman cadenas; si se separan se observa una pequeña cicatriz u órgano disyuntor. Las cadenas pueden ser cortas, de tres a cuatro esporas y son muy ramificadas, o pueden ser cadenas largas, hasta de 35 conidios, poco ramificadas y con conidios elípticos de tamaño constante (2).

iv) *Fonsecaea compacta*: Es similar al tipo *Cladosporium* pero con menos conidios, y éstos son más compactos (2).

#### 4. Epidemiología

Es de distribución mundial; predomina en clima tropical y subtropical (80%). Se observa en cualquier raza, afectando preferentemente adultos de 30 a 60 años de edad (67%). Predomina en varones (70 a 91 %); es rara en mujeres (9%) o en menores de 15 años de edad. Predomina en el medio rural y en campesinos (80%), sobre todo si andan descalzos o usan sandalias. No se transmite de una persona a otra la infección natural se encuentra en perros, gatos, caballos, ranas, sapos y lobos marinos (*Bufo marinus*) (1, 2).

En Guatemala el único agente causal informado es *Fonsecaea pedrosoi*. La cromoblastomicosis a través de los años se ha colocado en los tres primeros lugares de frecuencia dentro de las micosis subcutáneas (1,5).

#### 5. Cuadro clínico

Se desconoce el periodo de incubación. La lesión consiste en absceso con tejido granulomatoso que no es contagioso. El granuloma y el componente supurativo consisten en linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos. Las lesiones que se desarrollan en el sitio de inoculación, ocasionalmente, pueden propagarse por vía linfática o autoinoculación a sitios remotos, presentan un aspecto polimórfico pudiendo mostrar tipos nodulares, papilomatosos, colifloriforme, verruciforme, hiperqueratósico, cicatricial, en placas o combinaciones. En el sitio de 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. La mayoría de lesiones son solitarias o pueden estar agrupadas y evolucionan en forma moderada o severa, sin tendencia a curarse espontáneamente. Pueden infectarse secundariamente, provocando ulceraciones y linfostasis consecutiva a fibrosis, y después, elefantiasis. Este aspecto se engloba dentro del síndrome del pie musgoso (23, 24).

#### 6. Diagnóstico

##### a) Examen directo

Se basa en una buena toma de muestra, los elementos parasitarios deben buscarse en pus, fragmentos de tejidos y sobre todo en las escamas que presentan “puntos negros”. Si la muestra es material purulento, se realiza una observación en fresco, para buscar células fumagoides. Si son costras o biopsia, es necesario

adicionarle hidróxido de potasio (KOH) al 20%, en busca de hifas pigmentadas de color pardo, ramificadas (de 2 a 6  $\mu\text{m}$  de ancho) y cuerpos escleróticos (de 4 a 12  $\mu\text{m}$ ) (1, 2, 24).

#### b) Cultivo

Los cultivos se realizan en los medios habituales como Sabouraud sin antibióticos o con antibióticos (cloranfenicol y cicloheximida). Crecen más rápido en agar papa y fructifican mejor en agar harina de maíz. Se desarrolla a la temperatura ambiente o a 37°C, descartando como negativo si después de tres semanas no hay crecimiento (1, 2, 24).

#### c) Identificación

Por observación de la morfología macro y microscópica de la colonia, se define la especie, con base en la identificación de los tipos de reproducción: *Phialophora*, *Rhinocladiella* y *Cladosporium* (2).

### 7. Diagnóstico diferencial

Se debe hacer el diagnóstico diferencial con tuberculosis verrugosa, esporotricosis, carcinoma espinocelular, psoriasis, coccidioidomicosis, leishmaniasis, blastomicosis, micetoma, linfostasis verrugosa, tiña del cuerpo y linfedema crónico tropical con hiperplasia (“pie musgoso”). En el estudio microscópico no debe confundirse con feohifomicosis (2).

### 8. Histopatología de la enfermedad

En epidermis se observa hiperqueratosis con paraqueratosis, acantosis notoria, hiperplasia pseudoepiteliomatosa y en ocasiones abscesos intraepidérmicos, que se forman por la eliminación transepidérmica de material extraño y explican los puntos oscuros. En dermis media y superficial se encuentra infiltrado inflamatorio con polimorfonucleares, histiocitos y células plasmáticas y casi siempre un granuloma tuberculoide con células gigantes tipo Langhans. En dermis o epidermis se pueden encontrar las células fumagoides, de 4 a 8  $\mu\text{m}$  de diámetro. Su pigmentación café permite observarlas con facilidad, por lo que no se requieren tinciones especiales (2).

## 9. Complicaciones

Se puede desarrollar una infección bacteriana agregada. En casos muy crónicos, linfostasis verrugosa y degeneración a carcinoma epidermoide. Por diseminación hematológica se pueden originar abscesos cerebrales; si el hongo causal es *Cladophialophora bantiana* (*Cladosporium trichoides*) se denomina cladosporiosis cerebral (2).

## 10. Tratamiento

El tratamiento plantea muchas dificultades y a menudo resulta ineficaz; en casos muy avanzados ninguno es útil. Hay formas que mejoran inicialmente y dan remisiones prolongadas, pero sobrevienen recaídas durante el tratamiento o al suspenderlo. En casos avanzados casi siempre es indispensable la combinación de antisépticos locales o antibióticos sistémicos si hay infecciones bacterianas secundaria (2).

El tratamiento de elección actualmente es la 5-fluorocitosina, aunque ha fracasado en la enfermedad de curso crónico; como monoterapia presenta con frecuencia resistencia, sin embargo, en combinación con anfotericina B, puede ser usada para el tratamiento de micosis profunda (25).

En lesiones pequeñas, la medida más adecuada es la extirpación quirúrgica o puede practicarse electrodesecación, criocirugía con nitrógeno líquido, láser de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) o radioterapia, solas o combinadas. También se puede utilizar tratamiento médico y quirúrgico a la vez e incluso cirugía micrográfica de mohos (2).

### a) 5-Fluorocitosina

Es una pirimidina fluorada sintética que aparece en 1994. Es convertida en 5-Fluoracilo por la enzima citosina desaminasa, se incorpora al ácido ribonucleico (ARN) del hongo e interfiere en la síntesis del ácido desoxiribonucleico (ADN) fúngico. Es esencialmente un agente antilevaduras. Se difunde al líquido cefalorraquídeo y se elimina en su forma activa por la orina (19, 20).

i) Mecanismo de acción: Se convierte en el hongo en ácido 5-fluorouridílico, que se incorpora al ARN, donde interfiere la síntesis normal de las proteínas (19).

ii) Dosis: Se absorbe en su mayoría por vía oral, se distribuye por los tejidos, incluso sistema nerviosos central (SNC), el 63 a 84% se excreta intacta por la orina, con vida media de dos horas y media a ocho horas. Se recomienda administración oral de 100 a 150 mg/Kg de peso corporal al día divididos en cuatro dosis, durante seis a 12 meses.

iii) Efectos secundarios: Náuseas, vómitos, enterocolitis y depresión de la médula ósea, leucopenia y trombocitopenia (21).

#### b) Terbinafine

Es un compuesto alilamino sintético (10).

i) Mecanismo de acción: Obstruye la biosíntesis de los esteroides de la célula fúngica inhibiendo la escualeno-oxidasas, en un estadio temprano, lo que lleva a un déficit de ergosterol y a una acumulación intracelular de escualeno, que conlleva a la muerte celular (19).

ii) Dosis: Se recomienda 500 mg por día y se observa mejoría de 41% a los cuatro meses y de 82% a los 12 meses de tratamiento. La dosis varía según la edad del paciente, de la indicación y la gravedad de la infección (19).

iii) Efectos secundarios: Causa pérdida de apetito, náuseas, dolor abdominal, dispepsia, diarrea, artralgia, exantema, mialgia y disfunción hepatobiliar (19).

#### c) Miconazol

Antifúngico perteneciente a la familia de los imidazoles, fungistático a dosis baja, mientras que a dosis más elevadas se comporta como fungicida (26).

i) Mecanismo de acción: Interfiere la biosíntesis de ergosterol, principal constituyente de la membrana celular, causando problemas en la viabilidad del hongo (26).

ii) Dosis: De 200 a 400 mg al día por vía intravenosa (2).

iii) Efectos secundarios: Irritación local, efectos colaterales gastrointestinales y hepatotóxico (2, 26).



#### d) Ketoconazol

Es el imidazol de referencia al ser uno de los de mayor empleo entre los de la familia de los azoles. Presenta una buena absorción oral y los niveles plasmáticos más altos se alcanzan entre hora y media y dos horas. Se elimina por la orina de forma activa 2 a 4% (27).

i) Mecanismo de acción: Interfiere la biosíntesis de ergosterol, principal constituyente de la membrana celular, causando problemas en la viabilidad del hongo (26).

ii) Dosis: 200 mg dos veces al día por vía oral durante periodos no menores de seis meses (2).

iii) Efectos secundarios: Hepatotoxicidad, nauseas, vómitos, prurito y calambres abdominales (19).

### 11. Pronóstico

Enfermedad crónica y benigna. La respuesta al tratamiento es mejor en *C. carrionii*. La gran extensión en algunos pacientes causa minusvalidez funcional y las consecuentes implicaciones socioeconómicas. Puede requerirse amputación (2).

### 12. Prevención

Uso de calzado en campesinos, empleo de guantes si se manejan maderas, higiene adecuada y mejor nutrición (26).

## C. MICETOMA

### 1. Sinonimia

Pie de Madura, maduromicosis (2).

### 2. Definición de la enfermedad

Síndrome anatomoclínico de tipo inflamatorio crónico, que depende de inoculación traumática exógena de hongos o actinomicetos aerobios. Esta constituido por aumento de volumen, deformación de la región y lesiones con formación de fístulas, por donde drena un exudado, que contiene las formas parasitarias llamadas “granos”.

Afecta principalmente la piel y tejido celular subcutáneo, pero puede afectar músculo y hueso subyacente (2, 28).

### 3. Agente etiológico

Existen dos tipos de micetoma. El micetoma fúngico o eumicetoma y el micetoma actinomicético o actinomicetoma (1). El actinomicetoma es causado por bacterias filamentosas, pertenecientes a los actinomicetales. Los principales agentes etiológicos de eumicetoma son *Madurella grisea*, *M. mycetomatis*, *Pseudallescheria boydii*, *Exophiala jeanselmei* y *Pyrenochaeta romeroi*. En Guatemala los actinomicetomas son más frecuentes que los eumicetomas, siendo el principal causante *Nocardia brasiliensis* (1).

#### a) *Madurella grisea*

En la fase saprobia o micelial presenta micelio septado y en ocasiones se observan cadenas de células redondeadas semeando un proceso de gemación. Es un hongo de crecimiento lento a una temperatura óptima de 25°C. Su colonia en agar Sabouraud es de color canela a gris, aterciopelada y el reverso de la misma se ve oscuro (1).

La fase parasítica en muestras clínicas se presenta como un gránulo compacto irregular de color negro, formado por maraña de micelio verdadero y clamidoconidios (1, 2).

#### b) *Madurella mycetomatis*

En la fase saprobia presenta micelio delgado y tabicado, y cuando la colonia se cultiva en medios pobres en nutrientes, puede formar clamidioconidios intercalares y pequeñas fiálides. Es de crecimiento lento a temperatura óptima de 37°C. Su colonia es pardo-ocre con micelio gris evidente al inicio, posteriormente se torna café-amarillento, que con el tiempo se vuelve negro (1).

La fase parasítica en muestras clínicas se presenta en forma de granos claros con el centro oscuro casi negro o de granos negros formados de micelio verdadero. Son lobulados y compactos (1).

c) *Pseudallescheria boydii*

La fase saprobia presenta hifas hialinas delgadas con aneloconidios que nacen directamente de la hifa o de un conidióforo. Pueden presentar penachos de conidióforos con aneloconidios individuales, formando un sinema. Es de crecimiento rápido en todos los medios de cultivo a 25°C. Su colonia se observa con abundante micelio aéreo y lobar. Gris pardusco; el reverso de la misma es gris o negra (1).

La fase parasítica en muestras clínicas, se presenta en forma de gránulos blancos o ligeramente amarillos, de consistencia suave, formados por micelio verdadero (1).

d) *Pyrenochaeta romeroi*

En la fase saprobia se presenta con micelio septado y picnidios osteolados de color negro, cubiertos de un sombrero redondo. Sus picnidiosporas son elípticas y nacen de fiálides únicas. Crece rápidamente a una temperatura de 30°C. En el medio de Sabouraud presenta una colonia con micelio aéreo de color negro-grisáceo con la periferia clara, el reverso es negro (1).

La fase parasítica en muestras clínicas presenta un gránulo lobulado, suave y de color oscuro con el centro hialino. Está formado por micelio verdadero (1).

e) *Exophiala jeanselmei*

La fase saprobia presenta células levaduriformes y al madurar produce hifas con fiálides y abundantes fialoconidios ovalados. Es de crecimiento lento, al inicio presenta una colonia de aspecto levaduriforme que se va transformando en colonia aterciopelada, verde oscura y con un pigmento negro poco difusible en el reverso de la misma (1).

La fase parasítica en muestras clínicas presenta un gránulo irregular, suave y de color negro formado de micelio verdadero y clamidoconidios (1).

#### 4. Epidemiología

Existe en todo el mundo. Su distribución depende de condiciones geográficas y ecológicas; se encuentra sobre todo en una banda transversal que sigue el trópico de Cáncer entre los 14 y 33°C de latitud norte, principalmente en Asia y África. En 1963 se obtuvieron datos de la distribución geográfica mundial de 854 casos. La distribución

de las especies causales varía según el clima, el relieve del suelo, la precipitación pluvial y otros factores ecológicos (2).

Hasta el año 1,995 se han diagnosticado aproximadamente 195 casos de micetoma, tanto en el Laboratorio de Micología de la Policlínica del IGSS, como en el Servicio de Micología de la USAC. El principal causante de eumicetoma es *Madurella grisea* y en menor grado *M. mycetomatis*, *Pseudallescheria boydii*, *Pyrenochaeta romeroi*, *Aspergillus* y *Fusarium* (1).

Predomina en el sexo masculino, con proporción 4:1, se presenta en más de 60% en campesinos que andan descalzos o usan sandalias, quienes están más expuestos a los agentes de micetoma y a los traumatismos. La edad promedio de presentación es entre los 16 y 45 años. Antes de los 15 años, ambos sexos parecen tener igual predisposición, 11.5% de los afectados lo adquiere a esta edad. El tiempo de evolución puede ser muy variable y se han visto casos de menos de dos meses y hasta de 54 años (2).

## **5. Cuadro clínico**

Aparece con mayor frecuencia en pies, piernas, manos y antebrazos, pero pueden presentarse en toda zona expuesta a inoculaciones con material contaminado como espinas y ramas. Puede iniciar como una pápula que con el tiempo se transforma en nódulo que se abre y drena exudado seropurulento, luego aparecen otras lesiones iguales que se inflaman, fistulizan y liberan el exudado. La evolución es lenta, presentándose un aumento progresivo de volumen y deformación de la región de tipo tumoral. En los primeros meses no hay dolor y no se le concede importancia hasta que este aparece, momento en el que el proceso ya es crónico o existe afectación ósea. El micetoma avanzado y con gran destrucción de tejidos, puede ser incapacitante e invalidante (29).

## **6. Diagnóstico**

El diagnóstico básicamente es clínico, corroborándolo con el examen directo y cultivo al aislar el agente y con la histopatología de trayectos fistulosos, que mostrará al mismo en dermis o planos más profundos rodeado de un absceso de neutrófilos. El laboratorio revelará leucocitosis y velocidad de eritrocimentación aumentada (30).

a) Examen directo

El examen directo se realiza colocando el material purulento sobre un portaobjetos, se agrega lugol o solución salina y se observan los granos que son diferentes para cada especie (28).

b) Cultivo

Se efectúa en Sabouraud a temperatura ambiente, las colonias crecen en días o semanas. Se pueden utilizar agar sangre, agar BHI y Sabouraud con extracto de levadura. También puede cultivarse en agar Sabouraud con antibióticos, Sabouraud simple y agar Lowenstein-Jensen, incubado a 25°C y 37°C. Los cultivos deben observarse cada semana y descartarse como negativos si después de tres semanas de incubación no hay crecimiento (1, 2).

c) Estudio histopatológico

Es un auxiliar diagnóstico ya que los granos tienen una afinidad tinteal específica. En una muestra clínica se puede observar la presencia de gran cantidad de gránulos de un color parduzco rodeada de fibrosis con reacción inflamatoria de células mononucleares (28, 31).

## 7. Diagnóstico diferencial

Lo más importante es la diferenciación de otros padecimientos fistulosos con granos o sin ellos. Dentro de estos están, paramicetoma, seudomicetoma, seudomicetoma dermatofítico y bolas fúngicas (2).

## 8. Histopatología de la enfermedad

La imagen histológica es inespecífica, pero en ocasiones orientadora. En casos de granos blancos hay un absceso de polimorfonucleares, fibrosis y vasodilatación. En granos duros puede formarse un verdadero granuloma tuberculoide. La dureza depende de una sustancia intercelular llamada cemento. En minimicetomas hay una reacción celular con fibrosis intensa alrededor de los microabscesos. Lo más importante son las características de los granos con hematoxilina y eosina; y la afinidad por ciertos colorantes (2).

## 9. Complicaciones

Infección bacteriana agregada, en algunos casos, según su topografía, invasión visceral; en casos muy crónicos, amiloidosis renal (2).

## 10. Tratamiento

El tratamiento depende del agente causal. El Actinomicetoma responde, más a los antimicrobianos que el Eumicetoma, se considera que el 90% de los primeros son curables con tratamiento médico, aun con afectación ósea. Para Eumicetoma pequeños se indica la cirugía, pero los muy extensos, pueden requerir amputación. Si se utiliza tratamiento médico, éste se prolongará de 4 a 24 meses para evitar recidivas (32).

### a) Quirúrgico

Una extirpación completa elimina el proceso y no da metástasis ni recidivas, sobre todo en lesiones localizadas, encapsuladas o quísticas (32).

### b) Ketoconazol

Es el imidazol de referencia al ser uno de los de mayor empleo entre los de la familia de los azoles (26).

i) Mecanismo de acción: Interfieren en la síntesis de lípidos de la membrana celular, especialmente del ergosterol (26).

ii) Dosis: 200 a 400 mg al día, por 12 a 18 meses (2).

iii) Efectos secundarios: Nauseas, vómitos, prurito y calambres abdominales (19).

### c) Otros antimicóticos utilizados

También se utiliza varios meses la combinación de sulfonamidas, sea con estreptomicina, 1 g al día (14 mg/Kg/día) durante un mes, luego la misma dosis cada tercer día, cuidando la toxicidad; asimismo, puede combinarse con, clofazimina, 100 mg al día, rifampicina 300 mg dos veces al día, tetraciclinas, 1 g diario, minociclina 200 mg por día o isoniazina 300 a 600 mg al día durante periodos no menores de seis meses (2).

## **11. Pronóstico**

Sin tratamiento o con resistencia a éste, el pronóstico es malo para la función ya que la evolución es progresiva, lenta y el proceso se extiende en la superficie y la profundidad. Hay minusvalidez si no se corrige la pérdida de la función, o después de la amputación. En pacientes graves; las complicaciones, el deterioro del estado general y el detrimento social, ponen en peligro la vida; ciertos casos extremos son letales (2).

## **12. Prevención**

Consiste en mejorar las condiciones de vida y el uso de calzado cerrado en el medio rural (2).

## **D. PLANTAS NATIVAS GUATEMALTECAS**

Las plantas medicinales tienen propiedades curativas que ya eran conocidas en la antigüedad. Hasta el desarrollo de la química, y particularmente, de la síntesis de compuestos orgánicos a lo largo de los siglos XIX y XX, las plantas medicinales eran prácticamente la única fuente de principios activos capaces de mejorar el estado de salud de las personas. Las plantas medicinales continúan teniendo una gran importancia para personas que no tienen acceso a las medicinas modernas y además, muchos medicamentos modernos dependen en gran medida de los mismos principios activos. Éstos difieren de unas plantas a otras debido a su biodiversidad, ya que el código genético de cada especie vegetal contiene información para producir compuestos químicos diferentes (33).

Los bosques tropicales son la fuente de una gran proporción de las plantas medicinales conocidas. Según diversas estimaciones, existen entre 200,000 y 700,000 especies de plantas fanerógamas tropicales. Esa riqueza de especies identificadas, que está muy lejos de haber sido plenamente investigada, es una fuente potencial enorme de productos químicos de origen vegetal útiles para el hombre (34).

La medicina y agricultura tradicionales han permanecido prácticamente marginadas por los sectores académicos y políticos, pero la experiencia indica que las plantas medicinales podrán contribuir al desarrollo nacional mediante un estudio multidisciplinario y sistemático que permita la autosuficiencia colectiva (35). Los padecimientos de la piel constituyen un grupo importante de enfermedades que se tratan

con plantas medicinales o sus productos y se conocen varias que se usan para el tratamiento de dermatofitosis (6, 9).

En el periodo comprendido entre 1978 y 1982 el Centro Mesoamericano de Estudios sobre Tecnología Apropriada (CEMAT) realizó expediciones etnobotánicas, así como también encuestas para conocer la flora medicinal de nuestro país con el propósito de comprobar sus efectos terapéuticos. La detección etnobotánica y bibliográfica indica que hay por lo menos 623 plantas que se utilizan para tratar infecciones en Guatemala (36).

Cáceres *et al.* publican en 1988 los resultados de un estudio sobre las plantas que poseen actividad contra microorganismos causantes de infecciones mucosas y dérmicas (36).

En el año 2005 se realizaron dos estudios de tesis sobre plantas con actividad antifúngica contra *S. schenkii* y *F. pedrosoi*, habiendo reportado que *Lippia graveolens* (Orégano de monte) y *Valeriana prionophilla* (Valeriana) presentaron actividad antifúngica contra la fase miceliar de *S. schenkii*. *Lippia graveolens* (Orégano), *Senna alata* (Barajo), *V. prionophilla*, *Salvia lavanduloides* (Salvia de monte), *Hypericum uliginosum* (Retij) y *Smilax domingensis* (Zarzaparrilla) presentaron actividad antilevadura para *S. schenkii*. Para la fase miceliar de *F. pedrosoi*, *L. graveolens* presentó actividad antifúngica (3, 19).

Dentro de las instituciones que se encargan de realizar estudios *in vitro* para determinar las propiedades antifúngicas de diversas especies de plantas, se encuentra el departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Universidad del Valle de Guatemala, el Laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos FARMAYA y el CEMAT (35).



## E. PLANTAS EN ESTUDIO

### 1. *Bocconia arborea* Wats.

a) Familia

Papaveraceae

b) Sinónimos

*Bocconia frutescens* L (37).

c) Nombres comunes

Sangre de chucho, grano de oro, llora sangre, palo amarillo, palo de judas, chicalote, naranjillo, palo de diablo y hierba del diablo (38).

d) Descripción botánica

Árbol pequeño o arbusto de 3 a 8 m de altura. Perennifolio; con látex amarillo o anaranjado a rojo; a menudo ramificado desde la base, ramas jóvenes lanoso tomentosas, con las hojas aglomeradas hacia la parte superior; pecíolos de 1-5 cm de largo, láminas elípticas en contorno general, hasta de 45 cm de largo y 30 cm de ancho, lóbulos laterales en hojas bien desarrolladas, por lo común 5 o más de cada lado, su ápice atenuado a acuminado, haz glabro, inflorescencias en forma de panícula amplia y laxa, muy ramificada, hasta de unos 30 cm de largo y otro tanto de ancho, flores numerosas sobre pedicelos finos hasta de 1 cm de largo; estambres alrededor de 12, filamentos delgados, de unos 3 mm de largo, anteras lineares de unos 6 mm de largo; ovario estipitado, glabro, estigma bilamelado; fruto elipsoide, estrechándose hacia ambos extremos, de unos 8 mm de largo, estilo (de unos 6 mm de largo) y estigma (de unos 5 mm de largo), estípita hasta de 1 cm de largo; semilla de alrededor de 6 mm de largo, oscura, levemente reticulada, con un arilo basal evidente, cupuliforme, escamoso-pulposo. Corteza profundamente fisurada, en un patrón muy regular de placas rectangulares de 1 x 4 cm, frutos amarillo-lechosos (38).

e) Hábitat

En elevaciones desde bajas hasta altas, con climas de húmedos a pluviales (37).

## f) Distribución geográfica

De México a Panamá, y en Guatemala (39).

## g) Usos medicinales

En el sistema nervioso central, colapso circulatorio y respiratorio, diabetes, cáncer, problemas inflamatorios, anestésico, anti-edema, erupciones de la piel e infecciones bacterianas (38, 39).

**2. *Pimenta dioica* L.**

## a) Familia

Myrtaceae

## b) Sinónimos

*Mirtus tabasco* L. *Mirtus dioica* L. *Pimenta officinalis* Lindl. *Eugenia micrantha* Bertol. (40, 41).

## c) Nombres comunes

Pimenta, pimenta gorda, pimienta de jamaica, Ixnabacuc (40, 41).

## d) Descripción botánica

Árbol hasta con más de 20 m de altura, 30 a 40 cm de diámetro a la altura del pecho, con corteza de color café pálido desprendiéndose en escamas delgadas o grandes láminas, ramillas creciendo vigorosamente y 4 anguladas, los ángulos terminando distalmente en la posición de las estípulas, ramillas, inflorescencias y foliaje joven cerradamente apesado-pubescente con pelos blanco-amarillento o sórdidos; hojas coriáceas en breve glabras, ovaladas o elípticas, 3-9 cm de largo. Tallo no siempre recto y con algunos abultamientos característicos que lo distinguen, al estrujar sus hojas opuestas tienen un fuerte olor a pimienta gorda que no permite confundirlo. Flores fragantes de 6 mm, de diámetro. Fruto una baya de 10 mm de largo por 5 mm de ancho, ápice aplanado, verrugosa, cáliz persistente, semillas 1-2 pequeñas, lateralmente comprimidas, embrión formando una espiral doble (40).

## e) Hábitat

En bosque húmedo subtropical y bosque muy húmedo subtropical, de 0 a 1,700 msnm bajo cultivo.

## f) Distribución geográfica

Desde el Sureste de México, Península de Yucatán, hasta Panamá e Indias Occidentales; en Guatemala (Petén, Quiché, Alta Verapaz, Izabal) y Belice (40).

## g) Usos medicinales

Se utiliza en indigestión, e hipertensión. Es considerado como un tónico con propiedades antihelmínticas (42).

**3. *Ternstroemia tepezapote* Schlect. & Cham.**

## a) Familia

Theaceae

## b) Sinónimos

*T. seleriana* Loes, *T. impressa* Lundell, *Taonabo sphaerocarpa* Rose, *T. sphaerocarpa* Melchior (43).

## c) Nombres comunes

Barajillo, trompillo (43).

## d) Descripción botánica

Arbusto o árbol de hasta 15 m de altura. Las hojas son más largas que anchas; tienen los bordes dentados y textura como de cuero. Las flores son blancas y los frutos parecen flores de color café (44, 45).

## e) Hábitat

Habita en clima cálido, semicálido y templado entre los 300 y los 1000 msnm. Planta silvestre, crece a orilla de caminos, asociada a bosques tropicales caducifolio y subcaducifolio; bosque espinoso, bosque mesófilo de montaña, bosques de encino y de pino (46).

## f) Distribución geográfica

De México a Honduras y El Salvador; en Guatemala se observa en (Petén, Alta Verapaz, El Progreso, Izabal, Zacapa, Chiquimula, Jalapa, Santa Rosa, Suchitepéquez, Huehuetenango, Chimaltenango, Quiché y Sololá) (47).

## g) Usos medicinales

Nervios, insomnio, tos y dolores reumáticos (44, 46).

**4. *Vernonia deppeana* Less**

## a) Familia

Asteraceae

## b) Sinónimos

*Vernonia stellaris* La, *Vernonia patens* HBK (38, 47).

## c) Nombres comunes

Siquinay, flor de cuaresma, rajateluego, semen y sucunán hembra (47).

## d) Descripción botánica

Arbusto o árbol pequeño, de 6m de altura, tallos pubescentes. Hojas alternas, oblongas u oblongo-elípticas, 5 a 15 cm de largo y 2 a 7 cm de ancho, haz pubescente y envés blanco tomentoso. Flores tubulares, blancas o rosadas, de 18 a 21 juntas en una cabezuela campanulada, de 3 a 4 mm de alto dispuestas en una panícula grande. Fruto una semilla de 2.5 mm de largo (48).

## e) Hábitat

Crece salvaje en los matorrales y espesuras mojadas o secas (38).

## f) Distribución geográfica

Desde México a El Salvador, Honduras y Costa Rica; en Guatemala se observa en (Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Huehuetenango, Jalapa, Quetzaltenango, Retalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Sololá y Suchitepéquez) (47, 48).

## g) Usos medicinales

Dolor de estómago, hemorragias, gripe, fiebre, dolor de cabeza, constipado, espasmo, empacho, diarrea, reumatismo, dolor de barriga, aire, heridas (47, 48).

**5. *Cassia grandis* L.**

## a) Familia

Leguminosae o Caesalpiniaceae

## b) Sinónimos

*Cassia brasiliana* Lam (35).

## c) Nombres comunes

Carague o Carao, Bocut, Mucus, cañafístula (35, 49).

## d) Descripción botánica

Árbol grande a veces hasta de 30 m de alto o más; la copa redondeada o esparcida, el tronco hasta de un metro de diámetro, la corteza es de color café oscuro a grisácea, ramillas jóvenes densamente pilosas, estípulas muy pequeñas, lineares, hojas de peciolo corto, foliolos opuestos 8-20 pares, oblongos, peciolulo corto 3-6 mm de largo, redondeadas y obtusas tanto en la base como en el ápice, lustrosas en el haz, envés más pálido y puberulento; flores de color rosado o blancas, en racimos, usualmente se presentan durante la época en que caen las hojas, racimos de 10 a 20 cm de largo, pedúnculos largos; sépalos anchos, 6-8 mm de largo, redondeados en el ápice, cubiertos de tomento blanquecino; pétalos 1 cm de largo, glabros, estambres 10, las anteras de los 3 estambres inferiores más grandes que las otras. Fruto una legumbre leñosa, grande hasta de 60 cm de largo o más y de 5 cm de diámetro de color oscuro; semillas transversales comprimidas (40).

## e) Hábitat

En bosque húmedo subtropical, sitios húmedos a orillas de los ríos, de 0 a 900 msnm (35, 40).

## f) Distribución geográfica

Desde las Antillas, Estados Unidos (Florida) y Hawai; al Sur de México hasta Brasil; en Guatemala se observa en (Petén, Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Suchitepequez y Retalhuleu) (40).

## g) Usos medicinales

Anemia, hemorragia nasal, enfermedades del hígado, infección urinaria, histeria, resfrío, tos, sarna, hongos en la piel, regulador menstrual, paño blanco y jiote (35).

**6. *Pouteria viridis* Pitt. Cronq.**

## a) Familia

Zapotáceas

## b) Sinónimos

*Calocarpum viride* Pitt y *Achadelphpha viridis* O.F (47, 50).

## c) Nombres comunes

Zapote verde, injerto verde, injerto de montaña, mico de zapote (46, 47, 51).

## d) Descripción botánica

Árbol alto grande de 40 a 80 pies de altura (12-24 m), en lo alto posee ramas jóvenes densamente peludas y marrones, las hojas están agrupadas en las puntas de las ramas. Posee abundante latex blanco y gomosos. Las flores se producen en grupos 2 a 5 en el eje de la hoja, poseen lóbulos rosados o marfil sedoso y peludo. Posee fruto subgloboso o semirredondo algo deliberado en el vértice comúnmente de 7-10 cm de largo, color verde amarillento, posee de 1 a 2 granos con cáscara fina y blanda (46, 47, 50).

## e) Hábitat

Bosques con clima cálido y alrededor de lagunas (50).

## f) Distribución geográfica

Cultivada desde México hasta Costa Rica, en Guatemala especialmente en la región Central y Alta Verapaz (47).

g) Usos medicinales

Es utilizado como expectorante, vermícida (51).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Las micosis subcutáneas son un tipo de infecciones que causan lesiones de tipo agudo, subagudo o crónico, afectan al tejido subcutáneo y algunas veces puede extenderse a hueso (1).

En nuestro país es un problema que afecta principalmente a la población que trabaja en el campo o en el la jardinería, ya que la infección se adquiere por traumatismo con diferentes materiales infectados como espinas (1).

Los antimicóticos de amplio espectro utilizados para el tratamiento de micosis subcutáneas, suelen ser tóxicos e irritantes para las personas que los utilizan, en algunos casos pueden causar efectos colaterales a nivel gástrico como: pirosis, epigastralgias, náuseas y vómitos, debido a que la forma de administración de muchos de éstos es oral (40).

Estas drogas suelen ser inaccesibles para las personas que sufren de micosis subcutáneas, ya que requieren de un tratamiento prolongado, que muchas veces tiene un costo económico elevado.

En la actualidad se encuentran muy pocos antimicóticos elaborados a partir de plantas, existiendo pocos estudios que validen su uso. A pesar que en nuestro país hay una gran diversidad de plantas medicinales utilizadas popularmente para el tratamiento de afecciones de la piel, aún no se ha comprobado científicamente en la mayoría de ellas su actividad antifúngica. Por lo anterior es necesario realizar más estudios que evalúen su efectividad, con el propósito de obtener de la naturaleza nuevas alternativas de tratamiento, que puedan inhibir el crecimiento de estos hongos, combatiendo así sus infecciones y el incremento de estas en nuestra población.

Los seis extractos etanólicos de árboles, fueron incluidos en este estudio ya que algunos de ellos son utilizados popularmente para el tratamiento de afecciones dérmicas, sin embargo ninguno de ellos a sido estudiado para el tratamiento de micosis subcutáneas.



## V. OBJETIVOS

### A. GENERAL

Determinar la actividad contra hongos causales de micosis subcutáneas de seis extractos de árboles de uso medicinal en Guatemala para el tratamiento de afecciones dérmicas.

### B. ESPECIFICOS

1. Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de seis extractos etanólicos de árboles de uso medicinal en Guatemala, contra la fase miceliar de *S. schenckii*, *F. pedrosoi*, *M. grisea* y *P. romeroi*.
2. Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de seis extractos etanólicos de árboles de uso medicinal en Guatemala, contra la fase levaduriforme de *S. schenckii*.
3. Determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos con actividad positiva en la fase de tamizaje contra los agentes causales de micosis subcutáneas.

## VI. HIPÓTESIS

De los seis extractos etanólicos de plantas utilizados, por lo menos uno tiene actividad antifúngica contra uno de los agentes causales de micosis subcutáneas (*Sporothrix schenkii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*).

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. UNIVERSO Y MUESTRA

#### 1. Universo

- a) Árboles medicinales guatemaltecos, utilizados para el tratamiento de afecciones dérmicas.
- b) Hongos productores de micosis subcutáneas.

#### 2. Muestra

Seis extractos etanólicos de plantas nativas guatemaltecas consideradas como medicinales. *B. arborea*, *C. grandis*, *P. dioica*, *P. viridis*, *T. tepezapote* y *Vernonia deppeana*. Hongos productos de micosis subcutaneas: *Sporothrix schenkii* (fase micelial y levaduriforme), *Fonsecaea pedrosoi*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*.

### B. RECURSOS

#### 1. Humanos

El estudio fue realizado por

- Br. Silvia Liliana Aguilar Carrillo.
- Con la asesoría de los licenciados Isabel Gaitán y Armando Cáceres.

#### 2. Físicos

##### a) Equipo

Autoclave

Balanza analítica

Cabina de Bioseguridad, clase dos

Estufa

Incubadora

Refrigeradora

Microscopio

Mechero

Vortex (agitador)

## b) Reactivos

Agar-agar

Agar Saboraud

Agar Mueller Hinton

Agua desmineralizada

Dextrosa

Etanol 50%

Etanol 70%

Fosfato diácido de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )

Medio sintético de Takashio

Peptona

Sangre de carnero

Solución salina estéril

Sulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )

## c) Materiales

Algodón

Asa de nicromo en L

Beakers de 250 y 500 mL

Cámara de Neubauer

Cajas de Petri simples

Campanillas de Durham

Erlenmeyer con tapón de rosca de 250 mL

Frascos con tapón de rosca

Probeta de 100 mL

Pipeta automática de 10 a 1000  $\mu\text{L}$

Tips amarillos estándar de 200  $\mu\text{L}$

Tips azules estándar de 1000  $\mu\text{L}$

Tubos de ensayo con tapón de rosca de 15 mL

## C. PROCEDIMIENTO

### 1. Obtención del extracto de las plantas

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

### 2. Obtención de aislamiento de cepas fúngicas

a) *Sporothrix schenckii*. Una cepa fue donada por el Área de Microbiología del Hospital Roosevelt, y posteriormente reaislada en el Departamento de Citohistología.

b) *Fonsecaea pedrosoi*. Una cepa fue donada por el Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y posteriormente reaislada en el mismo Departamento.

c) *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*. Una cepa de cada una fue donada por el Servicio de Micología, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, y posteriormente reaisladas en el Departamento de Citohistología.

### 3. Evaluación de la actividad antifúngica

Se utilizó el método de referencia para hongos filamentosos descrito por Brancato y Golding modificado por McRae *et al*, para evaluar la actividad antifúngica.

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

i) Se pesaron 0.04 g de extracto de planta y se disolvieron en 4 mL de alcohol al 50% (concentración de 10 mg/ml).

ii) Se prepararon tubos con 13.5 mL de agar Sabouraud los cuales se esterilizaron previamente en autoclave a 121°C, para luego agregar 1.5 mL del extracto de la planta a ensayar (concentración 10 mg/mL) y se obtuvo una concentración final del extracto de 1 mg/mL.

iii) El medio de cultivo se sirvió en cajas de petri estériles, dejando solidificar e incubándolos a 37°C durante 24 horas para comprobar su esterilidad; posteriormente se les realizó cuatro agujeros a cada caja, con campanillas de Durham estériles de 5 mm de diámetro. Las cajas se guardaron en refrigeración hasta el momento de usarlas.

b) Preparación del inóculo

- i) Preparación del medio Takashio (Sabouraud modificado para la producción de esporas) se preparo con los siguientes reactivos: 0.6 g de dextrosa, 0.3 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 0.3 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.3 g de peptona y 0.6 g de agar-agar, disuelto en 300 mL de agua desmineralizada.
- ii) Se sirvieron 10 mL del medio en tubos con tapón de rosca, y luego se esterilizaron en autoclave durante 15 minutos a  $121^\circ\text{C}$ , dejando solidificar con un ángulo de inclinación adecuado para la siembra. El medio se incubo durante 24 horas a  $37^\circ\text{C}$ , para descartar contaminación.
- iii) Los hongos se sembraron con un asa en L incubándolos a  $27^\circ\text{C}$  durante 21 días obteniendo un crecimiento homogéneo de la colonia.
- iv) Después de 21 días, se agregó a cada tubo de Takashio 2 mL de solución salina estéril y se desprendió el hongo con el asa de nicromo.
- v) Se trasvasó el material obtenido a tubos con tapón de rosca estériles, conteniendo 10 mL de solución salina estéril; se agitaron durante 2 minutos en vortex, para luego hacer un conteo de esporas en cámara de Neubauer.
- vi) La suspensión de esporas preparada en solución salina fué de 100 esporas/ $\mu\text{L}$  (10 esporas por cuadrante).

c) Inoculación de los hongos

- i) De la suspensión de esporas se tomó 30  $\mu\text{L}$  y se deposito en los agujeros realizados previamente en agar Sabouraud, se incubaron las cajas de petri con el agar a  $27^\circ\text{C}$  por 24 días, haciendo un total de cuatro repeticiones por ensayo.
- ii) Como control negativo se utilizara una caja por ensayo, con agar Sabouraud y etanol al 50%, donde el hongo presenta un crecimiento del 100%.

d) Interpretación de resultados

- i) Los diámetros de las colonias del hongo se midieron en milímetros, calculando la media de las mediciones y la actividad se determinó de la siguiente manera:  
Actividad positiva: Extractos en los cuales el diámetro de la colonia sea 75% menor respecto al control (100% de crecimiento).  
Actividad negativa: Extractos en los cuales la colonia crezca más del 25% respecto al control (crecimiento de 100%).

#### 4. Evaluación de la actividad antifúngica contra la fase levaduriforme de *S. schenckii*

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

i) Se preparó agar Mueller Hinton con 10% de sangre de carnero. Se sirvió en cada caja 13.5 mL de agar y 1.5 mL de extracto.

ii) Se dejó solidificar el medio, posteriormente se incubó a 37°C durante 24 horas, para comprobar esterilidad. Se guardaron las cajas en refrigeración hasta el momento de su uso.

##### b) Preparación del inóculo para la fase levaduriforme

i) Se prepararon cajas con 20 mL de agar Muller Hinton con sangre al 10%, se incubaron a 37°C durante 24 horas para comprobar esterilidad.

ii) Para estimular la conversión del hongo de su fase micelial a la levaduriforme se sembró en agar Muller Hinton con sangre al 10 %, durante 5 días a 37°C, ambiente de CO<sub>2</sub> y humedad hasta obtener un crecimiento uniforme.

iii) Se prepararon tubos con 5 mL de solución salina estéril y se inoculó la levadura hasta obtener una turbidez del tubo número 1 del estándar de MacFarland.

##### c) Inoculación de levadura en placa

i) En las cajas con agar-planta se inoculó con el asa de nicromo en argolla, la suspensión de levaduras, haciendo cuatro estrías en el medio.

ii) Se incubó a 36°C durante 7 días.

iii) Para el control negativo se sembró por estrías la levadura en una caja de agar sangre con etanol al 50%.

##### d) Interpretación de resultados

i) Se observó el crecimiento de la levadura en el medio y se determinó de la siguiente manera:

Actividad antilevadura positiva: Ausencia de crecimiento de la levadura en el agar planta.

Actividad antilevadura negativa: Presencia de crecimiento de la levadura en el agar planta.

## 5. Determinación de la CIM de los extractos con actividad positiva

La concentración inhibitoria mínima de los extractos no se realizó debido a que ninguno mostro actividad en la fase de tamizaje.

### a) Dilución de extractos

i) Se pesaron 60 mg de extracto y se disolvieron en 6 mL de etanol al 50%, obteniéndose una dilución inicial de 10 mg/mL.

ii) Se tomaron 3 mL del extrato a una concentración de 10 mg/mL y se agregaron 3 mL de etanol al 50%, obteniéndose una dilución 1:2 y una concentración de 5 mg/mL.

iii) Se repitió el procedimiento anterior para la realización de las diluciones sucesivas (2.5, 1.25, etc).

iv) Los extractos fueron filtrados a diferentes concentraciones.

### b) Preparación del agar planta

i) Se preparó por cada dilución dos tubos con 13.5 mL de agar Sabouraud, esterilizando a 121°C durante 15 minutos.

ii) En una caja de petri estéril se agregó 1.5 mL del extracto a una concentración de 1000 µg/mL.

iii) Se colocó los 13.5 mL de agar a cada caja a una temperatura aproximada de 50°C, homogenizando con movimientos circulares, y con cuidado de no derramar el agar, se dejó solidificar e incubar a 37°C, durante 24 horas para comprobar su esterilidad. Posteriormente se realizaron cuatro agujeros a cada caja, con campanillas de Durham estériles de 5 mm de diámetro. Las cajas se guardaron en refrigeración hasta el momento de ser utilizadas.

iv) Se realizaron los incisos i-iii con las diluciones preparadas.

v) Con lo anterior se obtuvo una concentración final de 1 mg/mL, 0.25 mg/mL, 0.125 mg/mL, etc.

### c) Preparación del inóculo

i) Se preparó medio Takashio (Sabouraud modificado para la producción de esporas) se preparó con los siguientes reactivos: 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.

ii) Se virtio 10 mL de medio en tubos con tapón de rosca, esterilizando en autoclave durante 15 minutos a 121°C, se dejó solidificar con un ángulo de inclinación adecuado



para la siembra. El medio se incubo durante 24 horas a 37°C, para descartar contaminación.

iii) Los hongos se sembraron con un asa en L e incubaron a 27°C durante 21 días hasta que se obtuvo un crecimiento homogéneo de la colonia.

iv) Después de 21 días, se agrego a cada tubo de Takashio 2 mL de solución salina estéril y se desprendió el hongo con el asa de nicromo.

v) Se trasvaso el material obtenido a tubos con tapón de rosca estériles, conteniendo 10 mL de solución salina estéril; agitando durante 2 minutos en vortex, posteriormente se realizo un conteo de esporas en cámara de Neubauer.

vi) La suspensión de esporas preparada en solución salina fue de 100 esporas/ $\mu$ L (10 esporas por cuadrante).

d) Inoculación de los hongos

i) De la suspensión de esporas se tomo 30  $\mu$ L y se deposito en los agujeros, las cajas se incubaron a 27°C por 24 días.

e) Interpretación de resultados

i) La CIM de un extracto corresponde a la concentración en la cual hay una inhibición de un 75% del crecimiento del hongo. Está no se realizó ya que no se encontró actividad antifúngica con un 75% de inhibición del crecimiento del hongo.

## **D. DISEÑO DEL ESTUDIO**

### **1. Tipo de estudio**

Experimental. Totalmente al azar. Se ensayaron seis extractos etanólicos de árboles de uso medicinal en Guatemala, contra cuatro especies de hongos causantes de micosis subcutáneas, realizando cuatro réplicas de la actividad antifúngica de cada planta, con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.10$ . La determinación y detección de la concentración de los extractos de las plantas que muestren actividad antifúngica tiene de base una concentración de 1 mg/mL. Haciendo diluciones seriadas en los casos positivos, determinando la concentración inhibitoria mínima.

## 2. Variables de interés

### a) Variable independiente:

Árboles de uso medicinal en Guatemala.

### b) Variable dependiente:

Actividad antifúngica de los extractos etanólicos de seis plantas seleccionadas.

## 3. Validación del método

a) Actividad antifúngica de la fase miceliar de *M. grisea*, *P. romeroi*, *S. schenckii* y *F. pedrosoi*. Se utilizó como control negativo agar Sabouraud con etanol al 50%, en donde los cuatro hongos presentaron un crecimiento del 100%.

b) Actividad antifúngica de la fase levaduriforme de *S. schenckii*: Se utilizó como control negativo agar Muller Hinton con sangre de carnero al 10 %, y etanol al 50%, donde la levadura presentó un crecimiento óptimo. Se realizaron cuatro repeticiones de cada ensayo.

## 4. Análisis estadístico

Los datos fueron tabulados y posteriormente analizados de acuerdo a los parámetros anteriormente descritos. El tipo de estudio es binomial, por lo cual se aplicó la prueba de hipótesis binomial.

Para la hipótesis nula,  $H_0: P \leq 0.5$  (no presenta actividad antifúngica), para la hipótesis alternativa,  $H_a: P > 0.5$  (si presenta actividad antifúngica). Para rechazar  $H_0$  a un nivel de significancia de  $\alpha = 0.10$ , las cuatro repeticiones son todas positivas.

## VIII. RESULTADOS

### ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

El tamizaje antifúngico para la fase miceliar de los hongos evaluados no demostró actividad antifúngica para los extractos estudiados a una concentración de 1mg/mL. La ausencia de actividad fue demostrada al existir un porcentaje menor del 75% de inhibición.

Para el tamizaje de los seis extractos contra la fase levaduriforme de *S. schenckii* a una concentración de 1 mg/mL, ninguno de los extractos presentó actividad inhibitoria significativa ( $P > 0.10$ ) a la concentración en estudio (Tabla 1).

**Tabla 1. Tamizaje antifúngico de los seis extractos contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii***

Especie	Parte	Actividad
<i>Bocconia arborea</i>	Hierba	-
<i>Pimenta dioica</i>	Hoja	-
<i>Ternstroemia tepezapote</i>	Flor	-
<i>Vernonia deppeana</i>	Hoja	-
<i>Cassia grandis</i>	Corteza	-
<i>Pouteria viridis</i>	Tallo	-

Fuente: Datos Experimentales

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

Para la fase miceliar de *Sporithix schenckii*, el extracto que presentó mayor porcentaje de inhibición fue *T. tepezapote* (32.3%), seguida de *Vernonia deppeana* y *Pouteria viridis* (ambos con 17.3%), *Pimenta dioica* (8.2% de inhibición) y por último *Cassia grandis* (2.8%), sin embargo ninguno de los extractos presentó actividad (Tabla 2).

**Tabla 2. Tamizaje antifúngico de los seis extractos contra la fase micelar de *Sporothrix schenckii***

<b>Especie</b>	<b>Diámetro (mm)</b>	<b>DS</b>	<b>% Inhibición</b>	<b>Actividad</b>
<i>Bocconia arborea</i>	31	1.8	12.5	-
<i>Pimenta dioica</i>	32	3.1	8.2	-
<i>Ternstroemia tepezapote</i>	24	1.8	32.3	-
<i>Vernonia deppeana</i>	29	1.8	17.3	-
<i>Cassia grandis</i>	34	3.0	2.8	-
<i>Pouteria viridis</i>	29	1.0	17.3	-

*Fuente: Datos Experimentales*

(-) Actividad negativa a una concentración de 1 mg/mL. El control presentó un diámetro de 35 mm que equivale al 100% de crecimiento del hongo el cual fue incubado a 27°C durante 21 días.

Para la fase micelar de *F. pedrosoi* los extractos evaluados no demostraron actividad positiva significativa ( $p > 0.10$ ), ya que ninguno presentó inhibición mayor o igual al 75% respecto al control (Tabla 3).

**Tabla 3. Tamizaje antifúngico de los seis extractos contra la fase micelar de *Fonsecaea pedrosoi***

<b>Especie</b>	<b>Diámetro (mm)</b>	<b>DS</b>	<b>% Inhibición</b>	<b>Actividad</b>
<i>Bocconia arborea</i>	19	0.5	36.6	-
<i>Pimenta dioica</i>	21	1.3	30.6	-
<i>Ternstroemia tepezapote</i>	17	3.5	42.5	-
<i>Vernonia deppeana</i>	24	2.1	19.9	-
<i>Cassia grandis</i>	26	1.2	11.5	-
<i>Pouteria viridis</i>	21	1.5	30.6	-

*Fuente: Datos Experimentales*

(-) Actividad negativa a una concentración de 1 mg/mL. El control presentó un diámetro de 30 mm que equivale al 100% de crecimiento del hongo el cual fue incubado a 27°C durante 23 días.

En la fase miceliar de *Pyrenochaeta romeroi* no se encontró actividad inhibitoria minima con los seis extractos evaluados (Tabla 4).

**Tabla 4. Tamizaje antifúngico de los seis extractos contra la fase miceliar de *Pyrenochaeta romeroi***

<b>Especie</b>	<b>Diámetro (mm)</b>	<b>DS</b>	<b>% Inhibición</b>	<b>Actividad</b>
<i>Bocconia arborea</i>	25	3.3	16.5	-
<i>Pimenta dioica</i>	25	8.6	16.5	-
<i>Ternstroemia tepezapote</i>	24	3.3	19.0	-
<i>Vernonia deppeana</i>	25	3.5	16.5	-
<i>Cassia grandis</i>	23	1.2	22.2	-
<i>Pouteria viridis</i>	26	2.0	13.0	-

Fuente: Datos Experimentales

(-) Actividad negativa a una concentración de 1 mg/mL. El control presentó un diámetro de 30 mm que equivale al 100% de crecimiento del hongo el cual fue incubado a 27° C durante 23 días.

En la fase miceliar de *Madurella grisea* no se encontró actividad inhibitoria con los seis extractos evaluados (Tabla 5).

**Tabla 5. Tamizaje antifúngico de los seis extractos contra la fase miceliar de *Madurella grisea***

<b>Especie</b>	<b>Diámetro (mm)</b>	<b>DS</b>	<b>% Inhibición</b>	<b>Actividad</b>
<i>Bocconia arborea</i>	22	1.9	12.9	-
<i>Pimenta dioica</i>	10	1.7	59.7	-
<i>Ternstroemia tepezapote</i>	23	2.1	10.4	-
<i>Vernonia deppeana</i>	18	2.9	30.1	-
<i>Cassia grandis</i>	25	2.1	4.7	-
<i>Pouteria viridis</i>	26	3.2	0	-

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.

## IX. DISCUSIÓN

A pesar que no hubo actividad antifúngica de los extractos, ya que no inhibieron el crecimiento de los hongos ensayados en un 75% respecto al control, la importancia de realizar este estudio se debió a que la actividad de *Bocconia arborea*, *Pimenta dioica*, *Tersnoemia tepezapote*, *Vernonia depeana*, *Cassia grandis* y *Pouteria viridis* no había sido evaluada contra hongos causales de micosis subcutáneas (*S. schenckii*, *F. pedrosoi*, *M. grisea* y *P. romeroi*).

Debido a que en un estudio previo se había comprobado que *Vernonia depeana*, posee actividad contra *Staphylococcus aureus* y *Cassia grandis* contra *E. floccosum*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes var. algodonosa*, *T. mentagrophytes var. granulare* y *T. rubrum* (52) se puede concluir que, *Cassia grandis* posee actividad contra agentes causales de micosis superficiales pero no contra hongos de afecciones subcutáneas y *Vernonia depeana* es antibacteriano.

Por otra parte la ausencia de la actividad antifúngica observada en esta investigación, puede ser explicada por el hecho que los hongos pueden desarrollar cambios adaptativos *in vivo*, como duplicación de pared celular, crecimiento y proliferación del citoesqueleto de carbohidratos y desarrollo de exotoxinas (9), así como la presencia de una pared de quitina en las células fúngicas pudieron impedir el ingreso de sustancias tóxicas al interior.

En otros estudios previos, se reportó actividad antifúngica contra *F. pedrosoi* y *S. schenckii*, utilizando extractos de las plantas *Valeriana prionophylla* y *Lippia graveolens*. Por lo tanto, se recomienda evaluar otras plantas con uso medicinal para encontrar otros extractos que puedan presentar actividad, ya que el tratamiento utilizado para los agentes causales de micosis subcutáneas, es prolongado y resulta ineficaz en algunas ocasiones, por lo cual es importante continuar con la búsqueda de plantas que puedan presentar actividad antifúngica y sirvan como alternativa para su tratamiento.

Los niveles de actividad encontrados en este estudio no se consideran farmacológicamente importantes, ya que para su uso como base de compuestos

antifúngicos sintéticos, se necesita que posea una concentración inhibitoria mínima menor a 100  $\mu\text{g/mL}$  (35,38-39,42).

## X. CONCLUSIONES

1. Ninguno de los seis extractos de árboles evaluados en este estudio, presentó actividad antifúngica significativa ( $P > 0.10$ ) contra la fase miceliar de *Fonsecaea pedrosoi*, *Sporothrix schenckii*, *Madurella grisea* y *Pyrenochaeta romeroi*.
2. Ninguno de los seis extractos de árboles presentó actividad antifúngica significativa  $P > 0.10$  contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*.



## XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar otros estudios de tamizaje con otros extractos de plantas utilizadas popularmente como tratamiento medicinal por la población guatemalteca, para determinar su actividad antifúngica contra los agentes causales de micosis subcutáneas.
2. Realizar otros estudios de tamizaje con otros extractos de plantas para evaluar la actividad antifúngica contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*.
3. Evaluar la actividad contra hongos causales de micosis subcutáneas, en moléculas aisladas de extractos naturales con actividad antifúngica.

## XII. REFERENCIAS

1. Logemann H. Manual práctico de Micología Médica. Guatemala: Bayer, 1995. 227p.
2. Arenas R. Micología Médica Ilustrada. 3 ed. Editorial McGraw-Hill, México, 2008. 352p. p 127-172.
3. Gaitán I. Actividad de doce plantas nativas Guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii*. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 2005. 59p.
4. Zuño B. Cromomicosis: Clínica y tratamiento; situación epidemiológica en Latinoamérica. Rev Peru Med Exp Salud Pub 2004; 21(3):167-175.
5. Del Cid N. Actividad de diecisiete extractos de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Fonsecaea pedrosoi*. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 2005. 52p.
6. Girón L. *et al.* Anticandidal activity of plants used for the treatment of vaginitis in *Solanum nigrescens* preparation. J Ethnopharmacol. 1988, 22:307-313
7. Cáceres A, *et al.* Actividad antimicótica de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de dermatofitosis. Rev Mex Mic 1991; 7:21-38.
8. Cáceres A. *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 2. Evaluation of antifungal activity of seven American plants. J Ethnopharmacol 1993; 40: 207-213.
9. Cáceres A. *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal infections. 1: Screening of 38 plant extracts for anticandidal activity. J Ethnopharmacol 1991; 33:227-283
10. Valencia C. *et al.* Esporotricosis fija: Informe de un caso. Asociación Colombina de Infectología. Infectio 2005; 9(2):120-131.
11. Da Rosa, *et al.* Epidemiology of Sporotrichosis: A study of 304 Cases in Brazil. J A Acad Dermatol 2004; 52(2):451-459.
12. Hardman S, *et al.* Disseminated *Sporothrix schenckii* in a patient with AIDS. J. Infect 2005; 51: 73-77.
13. Vega O, *et al.* Esporotricosis cutáneo-hematógena. Rev Méd Hosp Gen Méx 2002; 65(2): 98-101.
14. Padilla MC, *et al.* Esporotricosis linfangítica: Presentación de un caso. Rev Cen Dermatol Pascua 2002; 11(3):131-134.

15. Leigh G, *et al.* Esporotricosis cutánea. *Internat. J Dermatol* 1994; 33:275-76.
16. Gezuele E. Da Rosa D. Relevancia del cuerpo asteroide esporotricósico en el diagnóstico rápido de la esporotricosis. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22:147-150.
17. Espinoza A, *et al.* Estudio de 50 pacientes con esporotricosis. Evaluación clínica y de laboratorio. *Gac Med Mex* 2001; 137(2):125-126.
18. Castro A, *et al.* Micosis en el Hospital Universitario del Valle. *Col Med* 1995; 26:150-53.
19. Remington. A. *Farmacología*. 17 Ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Panamericana. 1985. 2723p. p 310-321.
20. Martínez CA, *et al.* Tratamiento de las micosis profundas. Estado actual. *Acta. Med* 1998; 8(1): 80-5.
21. Karzung BG. *Farmacología básica y clínica*. 6 Ed. México: Manual Moderno. 2002. 134p.
22. Honbo S, *et al.* Analytical studies en peculiar cases of Sporotrichosis, the lesion of which contained numerous fungal element. 1985, R 11-12.
23. Zuño BA. Clínica y tratamiento; situación epidemiológica en Latinoamérica. *Rev Peru Med Exp Sal Pub.* 2004; 21(3):101-109.
24. Rippon JW. *Micología Médica; Hongos y Actinomicetos patógenos*. 3 Ed. México: Interamericana, McGraw-Hill, S.A de CV, 1990. 854p. p 75-80.
25. Moreira M, Díaz JG. *et al.* Tratamiento exitoso de un caso de Cromoblastomycosis verrucosa extensa con exeresis quirúrgica asociada a uso de ketoconazol. Hospital Universitario General Calixto García. *Rev Iberoam Micol* 2005; 12:33-42.
26. Carrillo M. Antifúngicos tópicos en Micosis superficiales. Revisiones clínicas y estudios terapéuticos. *Act Dermatol* 1995; 47:361-372.
27. Muño U. Mayorga J. Cromomycosis: Alternativas terapéuticas. *Dermatol Rev Mex* 1999; 43(Suppl):S30-33.
28. Padilla MC. Vidal A. Micetoma en dorso por *Nocardia brasiliensis*. Comunicación de un caso. *Rev Cen Dermatol Pascua* 2004; 13(1):327-331.
29. Rodríguez M, *et al.* Micetoma de inoculación múltiple por *Nocardia brasiliensis*. Reporte de un caso. *Rev Cent Dermatol* 2002; 11:126-130.
30. Torres M. Medina F. Micetoma en glúteo. *Gac Dermatol Ecu* 1999; 2(1):240-243.

31. Hernández R. Domínguez M. Micetoma o Pie de Madura. Presentación de un caso. VI congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica. Rev Iberoam. Micol 2004; 6:70-79.
32. Wortman PD. Tratamiento de un micetoma por *Nocardia brasiliensis* con Trimetoprim y Sulfametoxazol, Amikacina y Amoxicilina y Clavulanato. Arch Dermatol 1993; 3: 68-71.
33. Perez R, *et al.* Actividad antioxidante de los alcaloides de *Bocconia arborea*. Estudio sobre seis métodos de análisis. Ars Pharmaceutica 2003; 44(1): 5-21.
34. Cáceres A. Desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales nativas y producción de fitoterápicos en Centro América. Rev. Cub. Plant. Med. 2004. 6p.
35. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Editorial Universitaria, Guatemala. S.A. 1996. 402 p. 1-4p.
36. Vásquez JA. Determinación de la actividad biocida de cuatro plantas pertenecientes a la familia Asteraceae utilizadas etnomédicamente en la comunidad de Mal Paso, del municipio de Gualán, Zacapa. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 2002. 41p.
37. Holdridge L. Árboles de Costa Rica. Vol I. Centro Científico Tropical San José, Costa Rica. 1975. 22-23p.
38. Morton JF. Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Springfield: Charles C. Thomas Publisher, 1981. 505-512. 1420p.
39. Pérez R, *et al.* Actividad antioxidante de los alcaloides de *Bocconia arborea*. Estudios sobre seis métodos de análisis. Ars Pharmaceu 2003; 44(1):5-21.
40. Nash D. Williams LO. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana: Botany 24(12): 1976. 603p.
41. Balandrin M, *et al.* Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. Science 1985; 228:1154-1160.
42. Suárez A, *et al.* Hypotensive action of an aqueous extract of *Pimenta dioica* (Myrtaceae) in rats. Rev Biol Trop 2000; 48(1): 53-58.
43. Harmmond G, *et al.* A Survey of traditional medicinal plants from the callejón de Huaylas, Department of Ancash, Perú. J Ethnopharmacol 1998; 61:17-30.
44. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, 1994; 1:16.
45. Martínez JV. *et al.* Fundamentos de agrotecnología, de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas. Bogotá: CYTED 2000. 524p.

46. Nelson C. Plantas comunes de Honduras, Tomo III, Tegucigalpa. Editorial Universitaria. Honduras. C. A. 1986. 922 pp.
47. Standley P. Williams LO. Flora of Guatemala. Chicago: Fieldiana. Botany. 1973; 24:417.
48. House P, *et al.* Plantas medicinales comunes de Honduras, Tegucigalpa. UNAH. 1ed. 1995. 555p.
49. Holdridge L. Árboles de Costa Rica Vol II. Centro Científico Tropical, San José, Costa Rica. 1975. 204-207p.
50. Morton J. Fruits of Warm Climates. Miami FL. Media Incorporated, 1987. 505 pp
51. Orellana S. L. Indian medicine in highland Guatemala. University of New México Press: Albuquerque. 1987. 308 pp.
52. Caceres A. *et al.* actividad Antimicrobiana de plantas de uso medicinal en Guatemala. Tradicional Medicinal Plants. Dar Es Salaam University Press Ministry of Health, Tanzania, 1988. 1991- 391 p.