

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE  
HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA**



**Actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las  
flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" frente a  
Dermatofitos. Ayacucho - 2013.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICA**

**PRESENTADO POR LA:  
Bach. MERCADO MANCCO, Diana**

**AYACUCHO – PERÚ  
2014**

## **ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

**R D N° 174 – 2014 – FCB – D**

**Bach. Diana MERCADO MANCCO**

En la ciudad de Ayacucho el día viernes catorce de noviembre del año dos mil catorce, siendo las 10:20 minutos de la mañana reunidos en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga los profesores: Dr. Víctor Humberto Alegría Valeriano, Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo, Mg. Serapio Romero Gavilán, y Mg. Edgar Cárdenas Landeo, siendo el presidente encargado el Dr. Víctor Humberto Alegría Valeriano y secretario encargado el Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo según la Resolución Decanal N° 174-2014-FCB-D, con la finalidad de recepcionar el acto público de sustentación de Tesis titulada *Actividad antifúngica in vitro* del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" frente a Dermatofitos. Ayacucho-2013. Presentado por la Bachiller Diana Mercado Mancco, con la que pretende obtener el Título profesional de Química Farmacéutica.

Previo a la sustentación el presidente encargado el Dr. Víctor Humberto Alegría Valeriano hace conocimiento al público y miembros del jurado calificador sobre la documentación existente como el memorando de encargo de presidencia, Memorando N° 620-2014-UNSCH-FCB, y la Resolución Decanal N° 174-2014-FCB-D donde se menciona a los miembros del jurado calificador y hace de conocimiento a la señorita sustentante que puede comenzar con el acto de sustentación teniendo el tiempo de cuarenta y cinco minutos detallado en el Reglamento respectivo.

A continuación la señorita sustentante se presenta agradeciendo antes a su asesor, docentes, familiares y amigos exponiendo su trabajo de investigación en forma clara y sencilla.

Concluido con la exposición, el presidente del jurado calificador pide a los miembros del jurado calificador para que puedan realizar sus consultas o aclaraciones que crean por conveniente a los mismos que la señorita sustentante responde.

Terminado la ruleta de preguntas, el presidente del jurado calificador solicita a la sustentante y público presente para que puedan abandonar momentáneamente el

Auditorio para las deliberaciones y calificaciones correspondientes que va a realizar los miembros del jurado calificador el cual se concluye de la siguiente manera:

Miembro calificador	exposición	preguntas	promedio
Dr. Víctor Humberto Alegría Valeriano	17	17	17
Mg. Serapio Romero Gavilán	17	17	17
Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo	17	17	17
Mg. Edgar Cárdenas Landeo	18	17	18
			17

Obteniendo la nota promedio de diecisiete (17), la que es aprobatoria, invitándose a continuación a la señorita sustentante y al público asistente para que puedan ingresar al Auditorio, con la finalidad de dar a conocer el resultado y además se le hace entrega de la medalla respectiva como señal de ser una nueva profesional y juramento respectivo realizado.

Concluida esta parte de la sustentación, los miembros del jurado calificador firman al pie de la presente acta en señal de conformidad, dando por finalizado la presente sustentación siendo las doce con veinte minutos.



Dr. VÍCTOR H. ALEGRIA VALERIANO  
Presidente (e)



Mg. SERAPIO ROMERO GAVILÁN  
Asesor - Miembro



Dr. JHONNY ALDO TINCO JAYO  
Miembro - secretario (e)



Mg. EDGAR CARDENAS LANDEO  
Miembro

A Dios por ser quien ha estado a mi lado en todo momento.

A mis padres, por brindarme su apoyo incondicional.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por forjar a una profesional capaz de enfrentar las más difíciles situaciones que a diario se presentan.

A la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica por la formación impartida.

Al Mg. Bgo. Serapio Romero Gavilán por el apoyo brindando durante todo el tiempo transcurrido en esta etapa de trabajo,

A mis amigas: Guiliana, Britt, y Andy por la motivación, tiempo y apoyo incondicional que me brindaron en mi trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Plantas medicinales	5
2.2.1. Aspectos botánicos de la <i>Matricaria chamomilla</i> “manzanilla”	5
2.2.2. Etimología, descripción botánica	6
2.2.3. Habitad, distribución, parte utilizable,	7
2.2.4. Composición química	7
2.2.5. Propiedades y uso	8
2.2.6. Hongos	9
2.3. Dermatofitos	10
2.4. Tratamiento	17
2.5. Terbinafina	18
2.6. Estudios de sensibilidad antifúngica	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Ubicación	21
3.2. Muestras	21
3.3. Diseño metodológico	21
3.4. Procedimientos metodológico para la recolección de datos	22
3.5. Análisis de datos	25
IV. RESULTADOS	27
V. DISCUSIÓN	35
VI. CONCLUSIONES	41
VII. RECOMENDACIONES	43
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	49

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Concentraciones decrecientes de las diluciones de los extractos etanólicos de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla" en (mg/mL). Ayacucho-2013.	24
Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla" recolectada en el distrito de Luricocha, provincia de Huanta de la región de Ayacucho 2013.	27
Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima fungicida del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla". Ayacucho-2013.	32
Tabla 4. Análisis de varianza del promedio de los halos de inhibición en las diferentes cepas de hongos dermatofitos al 20% de concentración del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> . Ayacucho 2013.	59
Tabla 5. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey, respecto al promedio de los halos de inhibición según la especie de hongos dermatofitos. Ayacucho2013.	60
Tabla 6. Análisis de varianza del halo de inhibición según la concentración del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla" en cepas de hongos dermatofitos Ayacucho 2013.	61
Tabla 7. Matriz de consistencia.	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura de la piel.	13
Figura 2. Estructura de los queratinocitos.	14
Figura 3. Estructura de la uña.	15
Figura 4. Mecanismo de acción de las alilaminas y azoles.	18
Figura 5. Estructura química de la Terbinafina.	19
Figura 6. Valores promedio de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> "manzanilla" de concentraciones: 5%, 10% y 20% sobre cepas de hongos dermatofitos con relación a la Terbinafina. Ayacucho 2013.	28
Figura 7. Porcentaje de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> "manzanilla" de concentraciones: 5%, 10% y 20% sobre cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho 2013.	29
Figura 8. Promedio de halo de inhibición según tipos de cepas de hongos dermatofitos al 20% de concentración del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> "manzanilla". Ayacucho 2013.	30
Figura 9. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey del promedio de los halos de inhibición según la concentración del extracto de "manzanilla" y el control, en cepas de hongos dermatofitos <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Trichophyton tonsurans</i> y <i>Microsporum canis</i> . Ayacucho 2013.	31



## ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de la identificación de la planta <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla".	50
Anexo 2. Recolección de la "manzanilla" en el distrito de Luricocha, provincia de Huanta, región de Ayacucho. Planta entera y selección de las flores. Ayacucho-2013.	51
Anexo 3. Esquema de la obtención del etanólico de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla" del distrito de Luricocha provincia de Huanta de la región de Ayacucho-2013.	52
Anexo 4. Flores secas de "manzanilla", maceración, filtrado, tintura madre, concentracion y optencion del extracto seco.	53
Anexo 5. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla". Ayacucho-2013.	54
Anexo 6. Prueba de sensibilidad por difusión en agar del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla" en cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho 2013	55
Anexo 7. Esquema del procedimiento para determinar la CMI y CMF del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla" en cultivos de <i>Trichophyton mentagrophytes</i> . Ayacucho-2013.	56
Anexo 8. Halos de inhibición del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla" en cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho 2013.	57
Anexo 9. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y (CMF) del extracto etanólico de <i>Matricaria del chamonilla</i> "manzanilla" en cultivo de trichophyton mentagrophytes. Ayacucho 2013.	58
Anexo 10. Análisis de varianza del promedio de los halos de inhibición en las diferentes cepas de hongos dermatofitos al 20% de concentración del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> . Ayacucho 2013.	59

Anexo 11.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey, respecto al promedio de los halos de inhibición según la especie de hongos dermatofitos.	60
Anexo 12.	Análisis de varianza del halo de inhibición según la concentración del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamomilla</i> "manzanilla" en cepas de hongos dermatofitos Ayacucho 2013.	61
Anexo 13.	Matriz de consistencia.	62

## RESUMEN

La creciente incidencia, diversidad de las infecciones fúngicas, y el incremento de resistencia a los tratamientos convencionales, ha despertado el interés por mejorar el conocimiento que se tiene acerca de las micosis y las posibilidades de nuevas terapias, concentrándose en la prueba de sensibilidad *in vitro*. Por esta razón el objetivo general de éste estudio, fue determinar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" frente a dermatofitos. Fue desarrollado en los laboratorios de Farmacognosia y Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de agosto a diciembre del 2013. La muestra vegetal fue recolectada en el distrito de Luricocha provincia de Huanta de la región de Ayacucho. Al extracto etanólico de las flores, se le realizó el tamizaje fitoquímico. Los metabolitos presentes en el extracto etanólico fueron: flavonoides, triterpenos, esteroides, saponinas, fenoles, taninos, quinonas y catequinas

La actividad antifúngica se evaluó a concentraciones de 5%, 10%, y 20% del extracto etanólico de las flores de manzanilla, mediante el método difusión en agar, la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Fungicida por dilución en caldo. Las cepas de hongos con las que se trabajó fueron: *Trichophyton mentharophytes*, *Microsporum canis*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum*

La concentración del 20% presentó mejor actividad antifúngica respecto a las demás concentraciones con halos de inhibición de *T. mentharophytes* 22,4mm; *T. rubrum* 17,9 mm; *M. canis* 18,8 mm y *T. tonsurans* 18,1 mm respectivamente, ligeramente menor la Terbinafina que presentó 21 mm. El análisis estadístico mostró diferencias significativas en los diferentes tratamientos ( $p < 0,05$ ). La CMI y CMF fue 0,012 mg/ml y 0,024 mg/ml respectivamente.

**Palabras clave:** Actividad antifúngica, *Matricaria chamomilla* "manzanilla", dermatofitos.

## I. INTRODUCCIÓN

El afán por conocer y dar a conocer las bondades de las plantas medicinales, así como las diferentes afecciones que curan ha sido un tema tratado desde que la humanidad existe.<sup>1</sup> Actualmente, los productos naturales gozan de amplia aceptación y reemplazan, cada vez más, a los productos sintéticos o materiales generados artificialmente.<sup>2</sup>

*Matricaria chamomilla*, “manzanilla” es una planta originaria de Europa que fue traída durante la conquista, los principios activos se concentran en la flor de color blanco y/o amarillo y de olor muy agradable. Es una planta anual de 20 a 40 cm de alto.<sup>4</sup>

Las hojas y flores contienen aceites esenciales (0,2-0,6%) compuesto por azuleno, camazuleno, bisabolol, cadineo, colina, cumarinas (hemiarin, umbeliferona), farneseno, furfural, sesquiterpeno, glucosidos y flavonoides.<sup>3</sup>

Las hojas y flores son ampliamente usadas para tratar una gran diversidad de males, tales como afecciones gastrointestinales (diarrea, dispepsia, flatulencia, gastritis, indigestión), inflamación urinaria, amigdalitis, cefalea, convulsiones, gota, insomnio, antibacteriana, antimicóticas, antiespasmódica, etc.<sup>5</sup>

En la actualidad se están realizando numerosas investigaciones en la búsqueda de antifúngicos naturales, las plantas que han sido utilizadas desde épocas primitivas en el tratamiento de enfermedades, la mayoría de éstas presentan efectos fisiológicos múltiples, debido a la presencia de más de un metabolito secundario.<sup>2, 43</sup>

Los dermatofitos son un grupo de hongos filamentosos que tienen la capacidad de producir infecciones en la piel, pelo y uñas tanto del ser humano como en los animales.<sup>2</sup> Los dermatofitos son hongos queratinolíticos porque tienen la capacidad de degradar y utilizar la queratina como sustrato, producen infecciones a nivel del estrato córneo de la piel denominadas dermatofitosis o comúnmente conocidas como *Tiñas*.<sup>6</sup>

Debido a que la micosis se le denomina como las distintas afecciones producidas por hongos los cuales ocasionan enfermedades tales como la candidiasis, *tiña*, el pie de atleta, etc. donde tiende a aumentar, y ocasionar infecciones desagradables, muchas veces resisten al tratamiento.<sup>7</sup>

Por esta razón se propone en este estudio evaluar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" frente a dermatofitos, mediante la técnica de difusión en agar, utilizando Terbinafina como antifúngico, que permita hacer la comparación de los resultados al final del estudio, para establecer si existe o no la actividad antifúngica del extracto etanólico de la manzanilla.

Mientras que, para determinar exactamente las concentraciones a las cuales ejerce el efecto fungistático y fungicida, el método de dilución en caldo es el más apropiado, realizándose diluciones sucesivas hasta inhibir la formación de turbidez que indica crecimiento del microorganismo. Estos métodos fueron aplicados en la presente investigación, obteniendo resultados interesantes.

La presente investigación pretende aportar, una alternativa del tratamiento antimicótico debido a que los hongos van adquiriendo resistencia contra los medicamentos antimicóticos sintéticos porque éstos poseen tratamientos prolongados, con un elevado costo económico y ocasionan como efecto secundario hepatotoxicidad, por lo cual se hace necesario el desarrollo de nuevos fármacos más eficaces, mediante el descubrimiento de moléculas bioactivas, que pueden ser aisladas de fuentes naturales, principalmente de especies vegetales.<sup>3</sup> Por lo que se plantearon los siguientes objetivos.

**Objetivo general:**

Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" frente a dermatofitos.

**Objetivos específicos:**

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla".
- Determinar la concentración mínima inhibitoria y la concentración fungicida mínima del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" en cultivos de: *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans* y *Microsporum canis*.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes

Al realizar un estudio descriptivo-exploratorio, longitudinal no experimental en la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo Venezuela, demostraron el efecto antiséptico y antiinfeccioso de la *Matricaria recutita* dado por la presencia de derivados terpénicos como: matricina, camazuleno,  $\beta$ -bisabolol y los óxidos  $\alpha$  y  $\beta$  del  $\beta$ -bisabolol. El principal mecanismo de acción antibacteriano es la destrucción de la membrana celular bacteriana, el cual es posible mediante tres vías: 1. Aumentando su permeabilidad a pequeños iones, 2. Afectando la estabilidad estructural y 3. Desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, produciendo la muerte del *Streptococcus mutans*.<sup>7</sup>

En el estudio realizado en pacientes tratados ortodóncicamente, aplicando enjuagues bucales de *Matricaria chamomilla* "manzanilla"; obtuvo como resultado que la *Matricaria chamomilla* ayuda a la no formación de la placa dentobacteriana que se forma alrededor de los brackets en pacientes con tratamiento ortodóncico. El enjuague evita la formación de las bacterias al mismo tiempo que la formación de ácidos que desmineralizan el diente, dejando pigmentación blanquecina, antiestética.<sup>7</sup>

En la Facultad de Odontología de la Universidad San Carlos de Guatemala; se evaluó el efecto inhibitorio de la infusión de *Matricaria Chamomilla* "manzanilla" sobre el crecimiento de microorganismos cariogénicos, *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans in vitro*; demostró que la concentración al 5% estimula el crecimiento del *Streptococcus mutans* e inhibe el crecimiento del *Lactobacillus acidophilus*, la concentración al 10% obtuvo mayor efecto inhibitorio para los dos microorganismos estudiados, la concentración al 20% tuvo menor efecto inhibitorio que la concentración al 10%.<sup>7</sup>

El estudio del contenido de sustancias solubles en agua presentes en la "manzanilla" es de 6,59%, en el matico presentando un valor de 5,92% y en el

marco 5,37% indicando que en la manzanilla existe una mayor cantidad de porcentaje de sustancias solubles en agua posiblemente de naturaleza glucosídica. De acuerdo a los resultados se determinó la presencia de los siguientes metabolitos secundarios encontrándose en manzanilla: Flavonoides, cardiotónicos, triterpenos, esteroides, antraquinonas, azúcares, saponinas.<sup>3</sup>

El extracto fluido de manzanilla, matico y marco al 25%, gel con extracto fluido sin antioxidante y gel con extracto fluido con antioxidante mostraron actividad antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231 al no observar crecimiento en las placas Petri durante el tiempo de la incubación, presentando así una respuesta positiva al ensayo de Mitscher.<sup>3</sup>

Se realizó el estudio de plantas medicinales, con el fin de buscar alternativas de manejo de cultivos y generar tecnologías que aseguren bajar los costos de producción, recomienda el uso de hidrolatos de algunas plantas que permiten el manejo de enfermedades fungosas, entre las cuales están: *Calendula officinalis* L. "caléndula", *Jacaranda caucana* Pittier "gualanday", *Azadirachta indica* Juss "neem", *Matricaria chamomilla* "manzanilla" y *Nicotiana tabacum* L "tabaco".<sup>8</sup>

Se investigó algunas alternativas de manejo de enfermedades en cultivos del trópico mediante la utilización de extractos de plantas con efectos fungicidas y recomienda algunas plantas para el manejo de enfermedades fungosas, como "ajeno" *Artemisia absinthium* L, "ajo" *Allium sativum* L, "cola de caballo" *Equisetum bogotense* H.B.K, "ortiga" *Urticaurens* L, "cebolla de huevo" *Allium cepa* L, y "manzanilla" *Matricaria chamomilla*.<sup>8</sup>

Al realizar la investigación de la solución de "manzanilla" sobre candidiasis genital, determinaron que los componentes más importantes de la manzanilla son camazuleno, el  $\alpha$ -bisabolol y los óxidos de bisabolol, los *cis*- y *trans* éteres así como los derivados de la flavona y cumarina. El  $\alpha$ -bisabol actúa como fungicida en una concentración de 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  después de un contacto de treinta minutos mientras que los éteres en la misma concentración empiezan a actuar después de un contacto de cuarenta y ocho horas. El camazuleno actúa igualmente de manera fungistática, sin embargo solamente en concentraciones más altas.<sup>9</sup>

Al evaluar la actividad antimicótica de los extractos de *Allium sativum* L. frente a dermatofitos (*Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*), por el método de difusión en placa en agar Sabouraud glucosado, de los extractos etanólico, metanólico y acuoso, las cuales presentaron

mayor actividad antimicótica frente a *Microsporium gypseum* y *Microsporium canis*.<sup>10</sup>

Él estudió del método de difusión en placa en agar sabouraud, en los extractos alcohólico y acetónico de las hojas y el tallo de *Euphorbia peplus* "leche leche" a cuatro concentraciones diferentes de cada extracto, frente a cepas de hongos dermatofitos *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, los que fueron comparados con un antifúngico estándar (Ketoconazol), obteniendo como resultado, que las cepas de *Trichophyton mentagrophytes* fue la más sensible con un halo de inhibición de 18,44 mm seguido del *Microsporium gypseum* con 18,14 mm y finalmente *Microsporium canis* con 17,44 mm.<sup>11</sup>

## **2.2. Plantas medicinales**

Desde los tiempos más remotos, todas las sociedades han recurrido a las plantas como fuente de medicamentos. Actualmente, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional para atender sus necesidades primarias de asistencia médica. La terapéutica tradicional se basa sobre todo en el empleo de extractos o principios activos de las plantas.<sup>12</sup>

Las plantas medicinales fueron durante mucho tiempo nuestra principal fuente de productos terapéuticos; con la aparición de la industria farmacéutica y los avances de la farmacología, las plantas pasaron a ser fuente de principios activos de medicamentos de síntesis, y más tarde, han sido desplazadas por éstos. Ahora hay una "vuelta a la naturaleza" con el consiguiente aumento de consumo de productos a base de plantas medicinales.<sup>13, 16</sup>

En el Perú la riqueza de las plantas medicinales es muy amplia y está enmarcada dentro de más de 4400 especies de usos conocidos por las poblaciones locales, de las cuales un gran porcentaje se presenta en la región andina y de la selva.<sup>12</sup>

### **2.2.1. Aspecto Botánicos de la *Matricaria chamonilla* "Manzanilla"**

Clasificación taxonómica, según el sistema de clasificación de Cronquist. A 1988. y es como sigue:

División : Magnoliophita  
Clase : Magnoliospsida  
Sub Clase : Asteridae  
Orden : Asterales



Familia : Asteraceae  
Género : *Matricaria*  
Especie : *Matricaria reculita* L.  
*Matricaria chamonilla*  
N.V : "manzanilla"

A cargo de los especialistas del *Herbarium Huamanguensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH.

### 2.2.2. Etimología

La etimología del nombre "*chamonilla*" derivaría del latín "*khamaimelon*" formado por "chamai = pequeño, enano" y de "melón = manzana por lo tanto pequeña manzana" por el perfume que recuerdan algunas variedades de manzana. Esta reconstrucción parece bastante fiel también considerando el hecho que en algunos lenguas, por ejemplo en español, la manzanilla se llama "manzanilla" es decir "pequeña manzana".<sup>7</sup>

La etimología del nombre "*matricaria*" no está claro podría derivar del latín "mater = madre" o de "matrix = utero" porque en el pasado les fue dada a las mujeres que parieron porque se sustentó que tuviera una acción benéfica sobre la musculatura uterina.<sup>7</sup>

### 2.2.3. Descripción botánica

La *Matricaria chamonilla* "manzanilla", es una planta anual, herbácea, muy ramificada, que puede alcanzar los 60 cm de altura. Las hojas son sésiles profundamente divididas en lacinias muy finas, filiformes y con las ramitas terminales en cabezuelas de botón amarillo-dorado y lígulas blancas. Los capítulos son pequeños largamente pedunculados, con receptáculo cónicos huecos, rodeado de un involucre imbricado y aplastado; las flores periféricas son femeninas, liguladas. Las flores centrales son hermafroditas, amarillas, tubulosas. El fruto es un aquenio muy pequeño, verdoso-amarillento. las cabezuelas florales tienen un olor específico agradable y un sabor amargo.<sup>3, 7, 17</sup>

### 2.2.4. Hábitat y distribución

Es nativa de la región de los Balcanes, desde donde se difundió en Europa. Está naturalizada en varias regiones del nuevo mundo. Y se cultiva para su uso industrial. Crece con facilidad en suelo bien drenado, con bastante sol; resiste las

heladas, la escasez de nutrientes y la acidez del suelo.<sup>14</sup> fue introducida por los españoles en Perú en 1928 como insecticida.<sup>7</sup>

### **2.2.5. Parte utilizable**

La Comisión E del Ministerio de Sanidad o Salud de Alemania señala como parte utilizada las flores, por ello solo reportan la monografía de las flores de manzanilla.<sup>4, 14</sup>

En otra fuente biográfica como el PDR de las plantas medicinales en su edición segunda indica el uso de la "planta entera florecida o solamente flores". En la *Homeopathic Pharmacopeia of the United States* se describe la tintura hidroalcohólica de manzanilla (1:10) (p/v) de la planta entera florecida.<sup>19</sup>

### **2.2.6. Composición química**

El aceite esencial (0,2-0,8%) está compuesto de: camazuleno, alfa-bisabolol (levomenol) oxido de bisabolol A, B y C, óxidos de bisabolona, beta-trans-farmesina, espatulol.<sup>4</sup>

Flavonoides: luterol, apigenol, quercetol, agliconas incluyendo quercetina, isohamnetina, patuletina, apigenina agliconas, luteolin, crisoeriol y los glicósidos principales de la apigenina-7-O-glucosido, apigenin glucósido acetato.<sup>9</sup>

Hidrixicumarinas: umbeliferona y hermiarina.<sup>4, 7, 16</sup>

Mucílagos: urónicos, ramnogalacturonanos.

Lactonas sesquiterpénicas (principios amargos: matricina, matricarina, precursoras del camazuleno) y sales minerales (8-10 %)

Otros compuestos presentes en la manzanilla son: aminoácidos, ácidos grasos, ácidos fenólicos, colina (más del 0,3%).<sup>4, 16</sup>

La manzanilla común ha sido estudiada y su composición es muy compleja. El más importante de sus productos es su esencia que se saca de sus cabezuelas y que se obtiene por destilación, en cantidades variables. En los casos más favorables se obtiene el 1%. La esencia de la manzanilla se compone de un hidrocarburo y de un alcohol sesquiterpénico, un alcohol tricíclico, otros alcoholes terciarios en su mayor parte decíclicos, así como del camazuleno, con un anillo de siete átomos de carbono combinado con otro de cinco.<sup>15</sup>

Además de la esencia en las cabezuelas de la manzanilla común, se han hallado el ácido salicílico, un ácido octínico, apigenina, umbeliferona y el éster metílico de la misma, pequeñas cantidades de dioxicumarina, un glucósido amorfo (que, por hidrólisis, da apigenina), substancias resinosas con triacontano, titosterina, etc. En

la manzanilla se encuentran así mismo notables cantidades de vitamina C; en la planta florida y desecada hasta un 0,73%.<sup>15, 17</sup>

El principal componente de la manzanilla es el aceite esencial que contiene como mínimo 0,4%. Su composición es muy compleja siendo sus elementos más importantes el camazuleno y el  $\alpha$ -bisabolol, y a diferencia de otros aceites esenciales es de color azul. Otros componentes de la manzanilla son flavonglucósidos y la cumarina, aunque solo la conjugación de todos los elementos es la que produce el conocido efecto.<sup>17</sup>

Bisabolol, o formalmente conocido como  $\alpha$ -bisabolol y también conocido como levomenol, es un sesquiterpeno un alcohol monocíclico natural. Es un aceite viscoso sin color que es uno de los componentes del aceite esencial de la *Matricaria chamomilla*. Es también insoluble en agua y glicerina, pero muy soluble en etanol. Bisabolol tiene un débil aroma floral y es usada en varias fragancias. El bisabolol es conocido por tener propiedades antiirritantes, antiinflamatorias, antimicrobiana y antifúngicas. Un componente estructuralmente relacionado conocido como  $\beta$ -bisabolol difiere en la posición del grupo terciario de alcohol funcional.<sup>7</sup>

### **2.2.7. Propiedades y usos**

Las hojas y flores son ampliamente usadas para tratar una gran diversidad de males, tales como afecciones gastrointestinales (diarrea, dispepsia, flatulencia, gastritis, inflamación intestinal, parasitismo, indigestión, inapetencia), inflamación urinaria, amigdalitis, cefalea, convulsiones, difteria, dismenorrea, gota, histeria, insomnio, ictericia e hidropesía, nerviosismo y reumatismo. Tópicamente la decocción se usa en compresas, cataplasmas y emplastos para tratar afecciones dermatomucosas (hemorroides, hinchazón, llagas, raspones), inflamaciones, oftalmía, induraciones, tumores, cáncer y reumatismo. Por su contenido en aceite esencial (camazuleno, bisabolol) posee una acción antibiótica, antimicrobiana (sobre todo frente al *estafilococo*) y antifúngica (cándida). Por vía oral se le atribuye propiedad anticatarral, antiemética, antiinflamatoria, aromática, calmante, carminativa, depurativa, diurética, emoliente, espasmolítica, estimulante, expectorante, sedante, sudorífica y tónica, por vía tópica se le atribuye propiedad antiséptica, antiinflamatoria, cicatrizante.<sup>3, 16</sup>

### **2.3. Hongos**

Un hongo es un organismo eucariota que es miembro del reino fungi. Los hongos son un grupo monofilético, también llamado *Eumycota*. Los hongos están entre

los organismos más importantes del mundo, no solo por su rol vital en las funciones del ecosistema sino también por su influencia en los humanos y en sus actividades relacionadas. Los hongos son esenciales para actividades cruciales tales como la descomposición, el ciclo de nutrientes, el transporte de nutrientes y son indispensables para lograr el desarrollo sostenible. Los hongos son un grupo diverso de organismos eucarióticos que incluyen levaduras, mohos y setas. Como saprófitos, su principal fuente de alimentos es la materia orgánica muerta y en descomposición. Los hongos son los “eliminadores de basura” de la naturaleza. Por la secreción de enzimas digestivas sobre las plantas muertas y la materia animal, ellos descomponen estos materiales hasta nutrientes absorbibles para ellos mismos y para otros organismos vivos; así, ellos son los “recicladores” originales. Para propósitos prácticos, los hongos pueden ser divididos en 2 grupos: los hongos macroscópicos (setas, bejines y hongos tipo agalla) y los hongos microscópicos (mohos y levaduras). Las células de los hongos microscópicos existen en dos tipos morfológicos básicos: levaduras e hifas. Los hongos se encuentran en casi todas partes en la tierra; algunos (los hongos saprofitos) viven sobre la materia orgánica en el agua y el suelo, y otros (los hongos parásitos) viven sobre y dentro de los animales y las plantas. Algunos son dañinos, mientras que otros son benéficos. Los hongos también viven en muchos materiales inverosímiles, causando el deterioro de cuero y plásticos y deterioro de mermeladas, encurtidos, y muchos otros alimentos. Los hongos benéficos son importantes en la producción de quesos, cerveza, vino, pan, y otros alimentos; así como de ciertas drogas (ej. la droga inmunosupresora ciclosporina) y antibióticos (ej. la penicilina). En el transcurso del tiempo, más de 100,000 especies de hongos han sido reconocidas y descritas. Sin embargo, menos de 500 de estas especies han sido asociadas con enfermedades humanas, y no más de 100 son capaces de causar infección en individuos normales. El resto sólo son capaces de producir enfermedad en huéspedes que están debilitados o inmunodeprimidos.<sup>18</sup>

Las micosis superficiales son infecciones producidas por distintos grupos de hongos patógenos para el hombre, que invaden las estructuras queratinizadas, es decir estrato córneo, pelo, uñas y/o las mucosas. Están distribuidos ampliamente en la naturaleza, pueden vivir en el organismo humano como saprofitos o parásitos. Solamente algunas especies de hongos conocidos son patógenas para el ser humano.<sup>18</sup>

Las micosis se dividen para su estudio en tres grupos: uno superficiales; dos subcutáneas, y tres profundas o sistémicas. Las formas superficiales incluyen aquellas que están limitadas a la piel, pelo, uñas y/o las mucosas. Son infecciones muy frecuentes, la mayoría ocurre en todas las edades, algunas son raras en niños.<sup>19</sup>

### 2.3.1. Dermatofitos

Son un grupo de hongos filamentosos taxonómicamente relacionados que tienen la capacidad de producir infecciones en la piel, el pelo y las uñas tanto del ser humano como de los animales. La etimología del término “dermatofito” es muy antigua: proviene de los términos griegos *derm* (que significa piel) y *phyte* (que significa planta). Sin embargo, debido a que los dermatofitos no están filogenéticamente relacionados con las plantas (como se creía antiguamente), este término puede considerarse como no adecuado en la actualidad. Los dermatofitos son hongos queratinolíticos; es decir, tienen la capacidad de digerir y utilizar la queratina como sustrato. Las infecciones producidas por estos hongos se denominan dermatofitosis, aunque comúnmente también son llamadas *tiñas*, término que procede del latín *tinea* y que significa gusano o polilla. Esta palabra se usa de forma descriptiva dado el aspecto de serpentina o anular que presentan las lesiones cutáneas con una apariencia de gusano enterrado en la piel.<sup>1</sup> A pesar de que las lesiones se presentan superficialmente en la mayoría de los casos, eventualmente se pueden dar en tejidos subcutáneos no queratinizados, lo que da lugar a los llamados granulomas o pseudomicetomas.<sup>20</sup>

Los dermatofitos son hongos hialinos que forman colonias que presentan en general colores claros, con gamas de color restringidas a tonos blanquecinos, amarillentos y marronáceos. Si bien la coloración de las colonias y su textura pueden ayudar a identificar estas especies, las características microscópicas son las que determinan su identificación en la mayoría de los casos.<sup>6</sup>

### 2.3.2. Ubicación taxonómica

Las especies de hongos causantes de dermatomicosis se encuentra dentro del:

Reino	:Mycetae
División	:Deuteromycota
Subdivisión	:Deuteromicotina
Clase	:Deuteromicetes
Orden	:Moniliales
Familia	:Moniliaceae

Subfamilia	:Trichophytoneae
Género	: <i>Trichophyton</i> , <i>Microsporum</i> , <i>Epidermophyton</i>
Especie	: <i>Trichophyton mentagrophytes</i> : <i>Trichophyton tonsurans</i> : <i>Trichophyton rubrum</i> : <i>Microsporum canis</i> : <i>Microsporum gypseum</i> : <i>Epidermophyton floccosum</i>

Fuente: Garcia, 1996 Alexopoulos, 1985

### 2.3.3. Clasificación de los dermatofitos

Los dermatofitos son un grupo extenso y homogéneo de hongos con características taxonómicas, antigénicas, fisiológicas y patogénicas similares, distinguiéndose entre sí por sus características macroscópicas y microscópicas, así como sus propiedades enzimáticas y nutricionales. Se clasifican en tres géneros: uno *Trichophyton*; dos *Microsporum*, y tres *Epidermophyton*.<sup>1</sup>

- Género *Microsporum*

Las especies del género *Microsporum* producen macroconidios en mayor cantidad que los microconidios. Los macroconidios son multiseptados y pueden tener hasta quince septos (generalmente son fusiformes). La pared celular puede ser delgada o gruesa y rugosa o lisa. Los microconidios son piriformes y suelen estar dispuestos bien a cada uno de los lados de las hifas, bien solos.<sup>20</sup>

- Género *Trichophyton*

Este género produce macroconidios en menor cantidad y microconidios en una mayor proporción que el género *Microsporum*. Los macroconidios son lisos, de pared delgada y pueden tener hasta once septos; son de paredes delgadas, dispuestos solitariamente o en racimos y de forma cilíndrica o de lápiz. Los microconidios son piriformes o claviformes.<sup>6</sup>

- Género *Epidermophyton*

Los macroconidios son multicelulares, con forma de raqueta y sus paredes son lisas y delgadas. Este género no produce microconidios, pero forma abundantes clamidosporas.<sup>6, 18</sup>

### 2.3.4. Patogénesis de los dermatofitos

Los hongos parasitan las zonas cornificadas y tienen dificultad para multiplicarse intracelularmente. Las artroconidias se adhieren específicamente a los

corneocitos (no a células endoteliales), germinan y penetran en el estrato córneo (Figura 1) formando ramificaciones de hifas como un auténtico micelio.<sup>20</sup>

La invasión del estrato córneo está favorecida por las condiciones específicas de este hábitat: células muertas, temperatura inferior a 37°C, humedad adecuada y aporte suficiente de hierro y otros nutrientes. Los dermatofitos poseen potentes queratinasas capaces de hidrolizar diversos tipos de queratina, una proteína de elevado peso molecular con gran cantidad de puentes disulfuro. Los queratinocitos (Figura 2), son células más abundantes de la epidermis y las encargadas de producir queratina, carecen de núcleo y están llenas de proteínas fibrosas, que tiende a absorber agua. El resultado final es la formación de un entramado de filamentos de queratina y sustancia interfibrilar que constituye la capa córnea. Contrariamente a lo que se dice muchas veces, el estrato córneo no es celular, sino que está formado íntegramente por restos de queratina intracitoplasmática restos que se unen en la superficie de la piel después de la muerte de la célula que la produjo. Estas células muertas aporta el material que constituye una barrera para la entrada de sustancias nocivas y otros elementos favoreciendo la colonización de los dermatofitos.<sup>20, 21</sup>

Todas las queratinasas no son iguales, incluso dentro de un mismo individuo existen diferencias según sea la piel, pelo o uñas. La queratina del pelo es rica en cisteína, mientras que la de la piel lo es en metionina. Estas diferencias podrían ser una explicación del distinto tropismo que presentan ciertas especies por colonizar determinados tejidos (Figura 1).<sup>20</sup>

Los dermatofitos son un grupo extenso y homogéneo de hongos con características taxonómicas, fisiológicas antigénicas y patógenas similares, solo presentan ligeras diferencias nutricionales y enzimáticas.

Para adquirir la enfermedad se precisa contacto con la fuente: suelo o animales, o puede transmitirse de una persona a otra por fómites. Tal vez haya predisposición genética o resistencia natural a la infección, quizá dada por un factor sérico no bien definido o un antígeno de histocompatibilidad.

En algunas localizaciones actúan como factores favorecedores: humedad, maceración y traumatismo. No se ha establecido bien la participación del recambio epidérmico o de la acción de las queratinasas, ni la influencia del sudor, pero estas dermatofitosis son más frecuentes en climas tropicales.

Los dermatofitos inician la infección por un fenómeno de adherencia a la capa córnea, después estos elementos germinan y empiezan la invasión de los

queratinocitos; la infección se confina al estrato corneo y los anexos, excepcionalmente se afecta a la capa granulosa. La colonización produce una reacción del huésped debida a los productos metabólicos del hongo que actúan como factores de virulencia; las queratinasas o proteasas digieren queratina y liberan antígenos (glucoproteínas) fúngicos; las elastasas están relacionadas con enfermedades agudas y lipasas vinculadas con enfermedad crónica.

En algunos pacientes hay reacciones inflamatorias intensas, en otras es mínima e incluso puede haber un comensalismo asintomático entre hongo y huésped: en la mayoría la principal característica es un infiltrado linfocitario peri vascular en dermis superficial, y en fases tempranas de lesiones muy inflamatorias hay acumulación peri folicular de neutrófilos; más tarde, presencia de células gigantes alrededor de los folículos destruidos.<sup>20, 21</sup>

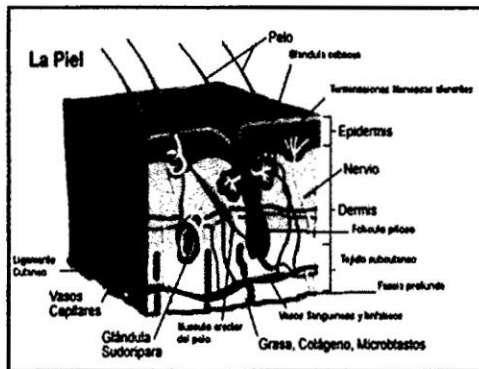


Figura 1. Estructura de la piel.

El grado de respuesta depende de dos factores:

- a. De la especie causal; se ha observado que las cepas de morfología granular tienen producción elevada de enzimas; también es probable que algunas cepas produzcan sustancias que eliminan las bacterias adyacentes y se sabe que la producción de arthroconidios se relaciona con la forma parasitaria.
- b. Del grado de hipersensibilidad del huésped; incluso se ha propuesto una actividad reguladora de proteasas, y quizá influya la temperatura y la localización de la enfermedad. Hay respuesta IgG, IgM, IgA e IgE y cierta evidencia de que los mananos producidas por el hongo suprimen o disminuyen la respuesta inflamatoria. El desarrollo de inmunidad celular (IC) correlaciona hipersensibilidad retardada y se asocia con curación clínica y eliminación del dermatofito; mientras que la falta o defectos de la IC predisponen al huésped a dermatomicosis crónica o recurrente.<sup>20</sup>





Figura 2. Estructura de los queratinocitos

La infección se explica de la siguiente manera: cuando una espora se deposita en la superficie de la piel, se reproduce en la capa córnea; inicialmente origina una pápula y luego una lesión anular por la extensión radiada de los filamentos también ocurre parasitación de los vellos y de este modo actúa como reservorios. En la piel cabelluda el hongo se reproduce en la capa córnea y (a nivel del orificio folicular), penetra e invade: la vaina del pelo se extiende hacia la profundidad sin sobrepasar la zona queratogena (franja de Adamson) (el crecimiento de hifas y esporas es en sentido opuesto al crecimiento del pelo); al mismo tiempo se extiende hacia la parte distal del pelo y lo transforma en un pelo grueso y frágil que se rompe con fragilidad (pelo tiñoso).<sup>20, 27</sup>

Los artroconidios pueden invadir la vaina del pelo sin destruir la cutícula (endothrix) o perforar y alterar esta última, produciendo una vaina externa de conidios (ectoendothrix). En el primer caso el pelo se rompe en la salida del folículo y en el segundo, unos cuantos milímetros después de la salida. La relativa resistencia a la inflamación pospuberal de tiña capitis se debe a la presencia de ácidos grasos de cadenas largas y cuando la *tiña* se presenta en adultos, lo hace de preferencia en edad posmenopáusica, seguramente por variaciones cuantitativas y cualitativas del sebo, en particular de los ácidos grasos de cadena mediana.<sup>22</sup>

Cuando un dermatofito produce onicomicosis afecta las uñas (Figura 3), la uña es una lámina plana y convexa que recubre y da protección a la pulpa de los dedos. Está formado por varias capas de queratina, reposa sobre el lecho epidérmico y tiene cuatro bordes: 2 bordes laterales que se insertan en los surcos laterales donde se encuentran los repliegues epidérmicos, el borde distal que acaba en el borde libre de la uña y la línea amarilla formada por la sustancia cornea que marca el principio del borde libre y el borde proximal situado debajo del repliegue de la epidermis donde encontramos la matriz proliferante, zona de origen y producción

de las uñas. Las uñas son una subespecialización de la piel, de hecho comparte con ella su principal componente: la queratina, la principal diferencia entre la epidermis y la uña es el porcentaje de agua, la primera contiene un 85% y la uña solo un 12%.<sup>20, 5</sup>

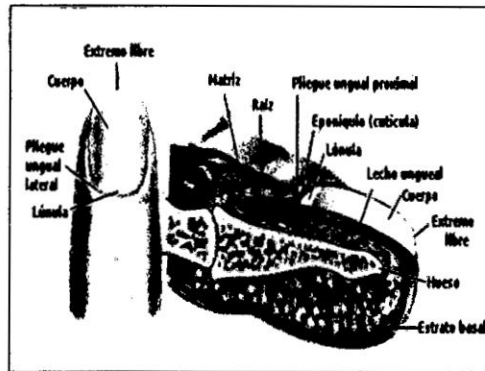


Figura 3. Estructura de la uña

El daño que produce el dermatofito es por acción enzimática, se extiende por una red de túneles excavados en la queratina dura sin invadir la matriz. El hongo penetra en los corneocitos o solo los separa mecánicamente. Las hifas se dirigen hacia la matriz a una velocidad mayor que el crecimiento ungueal en dirección contraria y la mayoría conserva una posición transversal.<sup>25</sup>

En las formas inflamatorias (querion), la intensidad depende del grado de hipersensibilidad; se establece cierto equilibrio entre huésped y hongo, pero al final gana el primero al eliminarse el hongo, casi siempre con todo el folículo piloso. En pies, la flora bacteriana, la humedad o la sudoración contribuyen a los síntomas. La reacción tipo "ide" se genera por la circulación de productos alérgenos, formados a partir de una infección primaria a menudo inflamatoria en cabeza o pies (tricofitides). En las formas profundas el granuloma perifolicular se origina por la penetración en la dermis de un pequeño fragmento de pelo parasitado; para ello casi siempre se requiere un traumatismo o inmunodepresión.<sup>20, 25, 27</sup>

La incubación dura días semanas, en promedio siete a 15 días. Las manifestaciones clínicas varían según la localización y depende del agente causal. Las formas superficiales pueden afectar la piel lampiña, el pelo o las uñas.<sup>20</sup>

#### 2.3.4. Manifestaciones clínicas

Las dermatofitosis presentan diferentes manifestaciones clínicas dependiendo del área anatómica afectada y de la especie implicada en la infección Clínicamente, se suele utilizar la palabra latina *Tinea* seguida de la zona del cuerpo afectada (ej: *Tinea capitis* si la infección afecta al cuero cabelludo) Un individuo puede estar

infectado por una o varias especies en varias áreas anatómicas correspondiendo cada foco infeccioso a una inoculación local.<sup>6, 20, 25</sup>

- *Tinea capitis*; esta dermatofitosis afecta la piel de la cabeza y/o el pelo principalmente en niños, aunque los adultos también pueden verse afectados.<sup>27</sup>
- *Tinea corporis*; esta dermatofitosis localizada en el tronco, hombros, extremidades y cara afecta tanto a niños como adultos. La lesión típica se denomina herpes circinado o *Tinea circinata* debido al aspecto anular de las lesiones que forman una circunferencia. Al comienzo de la infección, las lesiones presentan una pequeña placa escamosa que, con el tiempo, se va extendiendo sobre la piel. La manifestación clínica de este tipo de *Tinea* es variable, por lo que puede confundirse con otras dermatosis.<sup>6, 23</sup>
- *Tinea unguium*; reciben este nombre las dermatofitosis localizadas en las uñas de las manos y pies. El 90% de todas las onicomicosis están representadas por este tipo de *tinea*.<sup>6, 23, 25</sup>
- *Tinea pedis*; es la infección más común causada por dermatofitos.<sup>28</sup> Afecta a los espacios interdigitales de los dedos y a la planta de los pies. También llamada "pie de atleta" debido a su elevada frecuencia entre los deportistas, probablemente debido al uso frecuente de calzado cerrado. El principal agente causal es *T. rubrum*.<sup>26</sup> Diagnóstico es difícil determinar el patógeno causante por un examen clínico, siendo importante un apropiado examen de laboratorio para verificar el diagnóstico.<sup>27</sup>

Para el diagnóstico clínico existen tres métodos que son: el examen directo y cultivo micológico. El examen directo solo identifica la presencia de estructuras del hongo y el diagnóstico definitivo de identificación se realiza con el cultivo. También existe el estudio histológico de la lámina inguinal que no solo demuestra los elementos fúngicos, sino que revela la profundidad de la infección.<sup>29, 30</sup>

#### **2.4. Tratamiento**

Los fármacos antifúngicos o antimicóticos son compuestos utilizados en el tratamiento de las infecciones causadas por hongos, al igual que los antibióticos y dependiendo de su acción sobre la vida o el crecimiento de las colonias, se les denomina agentes fungicidas o fungistáticos. Fungicidas con la destrucción total de los hongos, fungistáticos; inhibiendo el crecimiento de los hongos, aunque muchas veces esta diferencia es solo cuestión de dosis.<sup>31, 32, 33</sup>

Clasificación de los antifúngicos

- a. Poliénicos: Anfotericina B; Nistatina y Natamicina

- b. No poliénicos: Griseofulvina
- c. Azoles: Miconazol, Ketoconazol, Itraconazol, Fluconazol, Voriconazol  
Para uso exclusivamente tópica: Biconazol, Clotrimazol, Econazol, Tioconazol y Terconazol
- d. Alilaminas: Terbinafina y Naftifina.<sup>32</sup>

El tratamiento tópico es efectivo en la mayoría de las micosis superficiales, en las formas comunes y no complicadas, es una excepción en *tiñas* con extenso compromiso, en las micosis del cuero cabelludo y barba, onicomiosis y *tiña pedís* crónica se trata con antimicóticos por vía sistémica y tópica.<sup>6</sup>

#### 2.4.1. Alilaminas

Características: Son compuestos altamente lipofílicos que alcanzan concentraciones terapéuticas en tejido adiposo, uñas y piel, por lo que están indicados principalmente en el tratamiento de las dermatomicosis; son compuestos con baja toxicidad.<sup>33</sup>

Mecanismo de acción: Consiste en la inhibición de la actividad de la enzima escualeno epoxidasa, impidiendo la síntesis del lanosterol.<sup>33</sup> (actividad fungistática). Por tanto, la vía enzimática es bloqueada en un paso anterior al inhibido por los azoles, como resultado de ello, el escualeno acumulado en la célula fúngica provoca la muerte celular (actividad fungicida).<sup>6</sup>

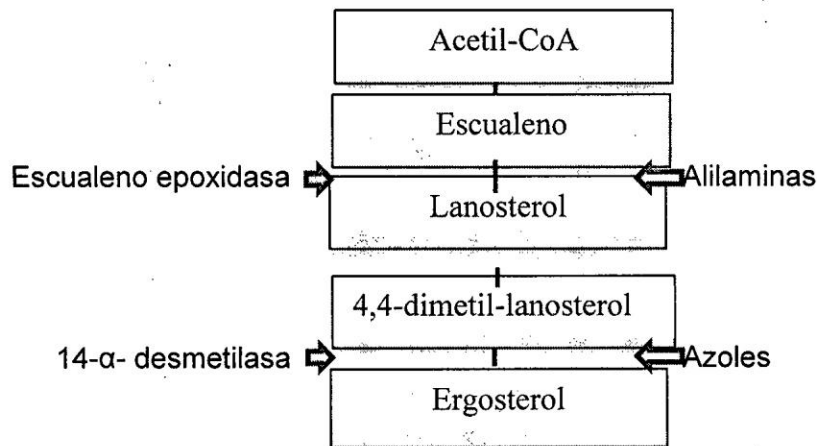


Figura 4. Mecanismo de acción de las alilaminas y azoles

##### 2.4.1.1. Terbinafina

Fue descubierta en 1978. Pertenece al grupo de las alilaminas, cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la enzima escualeno-epoxidasa, lo que impide la

síntesis del lanosterol y hace que el escualeno se acumule. La cadena de la síntesis del ergosterol queda por tanto paralizada en un paso anterior al inhibido por los antifúngicos azólicos y este acúmulo del escualeno en el interior de la célula fúngica, parece ser el responsable de la actividad fungicida *in vitro* frente a los dermatofitos. La acción inhibitoria de la terbinafina sobre la enzima escualeno-epoxidasa, es altamente específica de la célula fúngica, no afectando a las células humanas. Es muy efectiva frente a dermatofitos, moderadamente efectiva frente a hongos no dermatofitos y poco activa para las levaduras.<sup>32, 34</sup>

Tras su ingestión oral, la terbinafina se absorbe rápidamente, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas a las dos horas de su administración. Es muy lipofílica, por lo que se fija rápidamente a las proteínas plasmáticas y difunde por todo el organismo, siendo su vida media de dieciséis horas. A la superficie cutánea llega por difusión desde los vasos de la dermis y a través del sebo, donde alcanza concentraciones muy altas. Se detecta en muestras distales de uñas a partir de las tres semanas de tratamiento, por lo que parece que al igual que el itraconazol, se incorpora a la lámina ungueal no sólo desde la matriz, sino también desde el lecho ungueal. Se metaboliza en el hígado y se elimina por orina. Se administra por vía oral y la dosis recomendada es de 250 mg al día durante dos a cuatro semanas en las *tiñas* de piel limpia y cuero cabelludo y hasta doce meses en las onicomicosis. Los efectos secundarios son muy escasos: intolerancia digestiva, alteración del sentido del gusto o erupciones cutáneas del tipo de exantema, prurito o eccema.<sup>34, 35</sup>

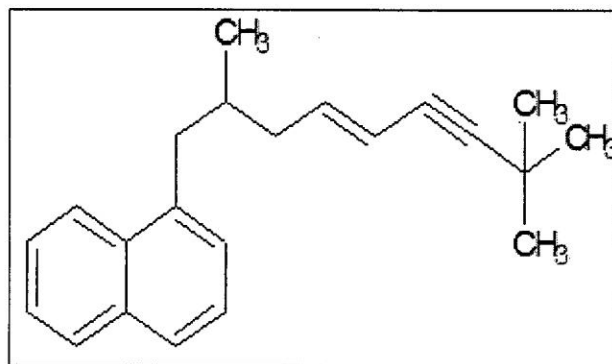


Figura 5. Estructura química de la Terbinafina

## 2.5. Estudios de sensibilidad

Los estudios de sensibilidad a los antifúngicos antiguamente no eran métodos estandarizados, eran inconsistentes y muy poco reproducibles, ya que hay muchos factores que influyen en estos ensayos, como el tamaño del inóculo, la

Composición y pH del medio, formato de la prueba y temperatura de incubación. El *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS), actualmente *Clinical of Laboratory Standards Institute* (CLSI) de Estados Unidos, en el año 1992 publicó el primer borrador de un estándar para la susceptibilidad de levaduras, que se basaba en técnicas de macrodilución y que luego se adaptó al formato de microdilución. Fue aprobado en 1997 para medir las concentraciones Mínimas Inhibitorias de las principales especies de levaduras oportunistas, demostrando una adecuada reproducibilidad interlaboratorio en diversos estudios multicéntricos.<sup>12</sup>

Para hongos filamentosos los estándares son más difíciles de establecer, actualmente se usan como referencia los documentos CLSI M38-A2 y su contraparte europea. Recién en el documento M38-A2, se dan pautas para el trabajo con dermatofitos. Estos últimos años se ha logrado establecer también parámetros para la utilización de técnicas de disco difusión para la susceptibilidad antifúngica, concretamente el documento CLSI M44-A2.<sup>12, 24</sup>

Esta prueba se basa en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la difusión de las sustancias activas en un medio sólido y se evidencia por la formación de halos claros. El tamaño de la zona de inhibición se mide para determinar si el microorganismo inhibido es sensible o resistente (prueba de susceptibilidad) o – para determinar la concentración del antimicrobiano en el bioensayo. Para poder realizar estas pruebas es necesario que los antimicrobianos sean capaces de difundir de forma adecuada a través del agar. Entre las ventajas de este método se encuentra que la tasa de difusión de cada antifúngico en el Agar<sup>37</sup>, es generalmente predecible y reproducible. La concentración de los antifúngicos disminuye exponencialmente difundiendo desde su punto de origen, siendo los gradientes relativamente estables sobre el periodo de tiempo requerido para ver el crecimiento del hongo.<sup>1, 36, 39</sup>

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación del trabajo de investigación**

El presente trabajo de investigación, se desarrolló en el laboratorio de Farmacognosia del Área de Farmacia y en los laboratorios de Microbiología sección de Micología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de agosto a diciembre del 2013.

#### **3.2. Materiales**

##### **3.2.1. Muestra vegetal**

500 g de flores de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”, del distrito de Luricocha a una altitud de 2 580 m.s.n.m. perteneciente a la provincia de Huanta, de la región de Ayacucho.

##### **3.2.2. Cepas de hongos dermatofitos**

Para la evaluación antifúngica de la “manzanilla” se utilizaron cuatro cepas de hongos dermatofitos: *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans* y *Microsporum canis*, existentes en el laboratorio de Microbiología, los cuales fueron sometidos a su rejuvenecimiento para luego realizar los ensayos antifúngico.

#### **3.3. Diseño metodológico: básico – experimental.**

##### **3.3.1. Procedimiento metodológico para la recolección de datos**

###### **3.3.1.1. Recolección de la muestra**

*Matricaria chamomilla* “manzanilla”, fue recolectada en el Distrito de Luricocha Provincia de Huanta, Departamento de Ayacucho; en la última semana del mes de agosto, entre las 6:00 a 7:00 am; antes que los rayos solares iluminen la planta provocando su transpiración. Se recolectó la planta entera (hojas, tallo, flores), en buen estado de conservación y que hayan alcanzado un buen desarrollo biológico.

En la identificación botánica se emplearon las hojas, flores y raíz de la muestra, la cual estuvo a cargo de los especialistas del *Herbarium Huamanguensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH (Anexo 1)

#### **3.3.1.2. Deseccación y estabilización**

Las hojas, tallos y flores de la especie vegetal en estudio fueron sometidos a un tratamiento de limpieza y selección para eliminar todo elemento extraño. Luego serán separadas las flores y secadas bajo sombra, extendiéndolas apropiadamente durante 14 días.

#### **3.3.1.3. Molienda**

Las flores se molieron utilizando un mortero de porcelana; obteniéndose un polvo fino y seco.

#### **3.3.1.4. Preparación del extracto etanólico**

Se utilizó 500 g de flores secas, el material molido se llevó a maceración en un frasco limpio y seco durante dos semanas con 2 litros de etanol al 96%, agitando vigorosamente a diario. Posteriormente se realizó el filtrado del macerado a través del filtro al vacío utilizando papel Whatman N° 40, finalmente se procedió a la evaporación a sequedad en un rotavapor rotatorio BUCHI 3000, y en una estufa 40°C.

#### **3.3.1.5. Tamizaje fitoquímico**

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo los procedimientos propuestos por Miranda y Cuellar.<sup>40, 41</sup> (Anexo 5)

#### **3.3.1.6. Fármaco de referencia**

Diez tabletas Terbinafina de 250 mg, fabricado por Laboratorios Labogen S.A.C., N° de lote 107512.

#### **3.3.1.7. Activación de los hongos dermatofitos**

Se conservaron cepas de hongos dermatofitos debidamente identificadas y clasificadas. La reactivación se realizó a partir de las cepas originales, se procedió a repicar en agar Sabouraud contenido en viales, y se dejó incubar a temperatura de 30°C por 7 días.

#### **3.3.1.8. Preparación del inóculo**

Se procedió a seleccionar las colonias de hongos dermatofitos crecidos en agar Sabouraud glucosado, las que se transfirieron esporas a un tubo con 5 mL de caldo Sabouraud, se dejó incubar por 48 horas. Para obtener una turbidez



ópticamente similar al estándar 0,5 de la escala McFarland, se ajustó con caldo sabouraud.<sup>34, 39</sup>

### **3.3.2. Determinación de la actividad antifúngica**

La metodología que se empleó para la determinación de la actividad antifúngica se basa en el método de “difusión en agar”. Se basa en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la difusión de las sustancias activas en un medio solido lo que evidencia con la formación de los halos de inhibición; de forma que cuando más susceptible sea el hongo frente a los tratamientos, más amplia será la zona de crecimiento inhibido.<sup>39, 46</sup>

#### **Procedimiento**

- El medio Agar Sabouraud Glucosado (ASG), previamente reconstituido, esterilizado y enfriado, se agregó cloranfenicol, para evitar el crecimiento de bacterias previo al plaqueo.
- Se añadió 20 mL de medio de cultivo por cada placa Petri de vidrio estéril.
- Una vez solidificado, se hicieron pozos con la ayuda de un sacabocado de acero de 11 mm de diámetro externo, en cada placa se hizo 3 pozos equidistantes.<sup>34</sup>
- Se inoculó las diferentes cepas de los hongos dermatofitos, se sembró por agotamiento en toda la superficie, usando un hisopo estéril, las diferentes suspensiones de esporas se inoculó haciendo un extendido en toda la superficie del medio de cada placa, y se dejó secar por 5 minutos.
- Se agregó 1 mL de los extractos a concentraciones de 5%, 10%, y 20% en los pozos, se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente y se llevó a incubar a 30°C de 7 a 14 días.<sup>34</sup>

#### **3.3.2.1. Tratamientos**

- Grupo I: Tratado con extracto al 5% de la concentración.
- Grupo II: Tratado con extracto al 10% de la concentración.
- Grupo III: Tratado con extracto al 20% de la concentración
- Grupo IV: Control positivo tratado con Terbinafina.

#### **3.3.2.2. Lectura e interpretación de los resultados**

Se observó las zonas de inhibición (halos) y se mide los diámetros en milímetros (mm). Se considera que tiene una actividad antifúngica significativa a un halo de inhibición mayor a 18 mm.<sup>36</sup>

Para el cálculo del porcentaje de inhibición se usó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Diámetro del halo de inhibición de la muestra}}{\text{Diámetro del halo de inhibición del control}} \times 100$$

### 3.3.2.2. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se colocó 1 mL del extracto en el primer tubo de la serie de diluciones. En cada uno de los tubos restantes se añadió 1 mL de caldo nutritivo. Con una pipeta estéril se transfirió 1 mL del primer tubo al segundo. Después de mezclar el contenido del segundo tubo, se transfirió 1 mL con una pipeta diferente (en esta transferencia y en todas las sucesivas) al tercer tubo. El proceso continúa hasta el penúltimo tubo, al que se le quita 1 mL, que se descarta. El último tubo no recibe el extracto y sirve de control de crecimiento. Las concentraciones finales del extracto en esta prueba son iguales a la mitad de la serie inicial de dilución, debido al agregado de una concentración igual de inóculo en el caldo. Se prepara el inóculo de *Trichophyton mentagrophytes* que contenga 10<sup>5</sup> a 10<sup>6</sup> UFC/mL ajustando la turbidez de un caldo de cultivo al estándar y diluyendo en caldo. Añadir a cada tubo 1 mL del inóculo ajustado. Incubar los tubos a 35°C entre 3 a 7 días, como se muestra en el Anexo N° 5.

Tabla 1. Concentraciones decrecientes de las diluciones de los extractos etanólicos de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" en (mg/mL).

Tubos	5%	10%	20%
1	6250	12,5	25
2	3125	6,25	12,5
3	1563	3,125	6,25
4	0,782	1,563	3,125
5	0,391	0,781	1563
6	0,195	0,391	0,781
7	0,098	0,195	0,391
8	0,049	0,098	0,195
9	0,024	0,049	0,098
10	0,012	0,024	0,049
11	0,006	0,012	0,024
12	0,003	0,006	0,012
13	0,0015	0,003	0,006
14	0,0008	0,0015	0,003

### **3.3.2.3. Lectura de los resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) e interpretación de resultados**

Se observó el crecimiento del hongo mediante la aparición de turbidez en el medio, o mediante cambio de coloración. Por lo que el punto final de la CMI, se definió a simple vista por la falta de turbidez (crecimiento del hongo) en el caldo, para ello se comparará el tubo con el control de crecimiento. La concentración mínima inhibitoria (CMI) es la menor concentración de antimicótico capaz de inhibir el crecimiento, anotando la concentración del tubo.

### **3.3.2.4. Determinación de la Concentración Mínima Fungicida (CMF)**

Para determinar la Concentración Mínima Fungicida (CMF) se determinó a partir de la Concentración Mínima Inhibitoria de la siguiente manera:

Procedimiento

- Una vez observado la turbidez (crecimiento del hongo) a simple vista, al determinar la CMI; se procedió a sembrar, los caldos no turbios (no hay crecimiento del hongo) en las placas con agar Sabouraud.
- Posteriormente se incubó a 30°C por 4 a 7 días. (Anexo 9).

### **3.3. Análisis de datos**

Los resultados se procesaran comparativamente en cuadros y gráficos estadísticos y fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) que permitió determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas. Las diferencias intergrupos se analizaron por la prueba de Tukey, para el estudio se utilizó un nivel de confianza  $p < 0,05$ ; el software estadístico SPSS versión 20,0.

## **IV. RESULTADOS**

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” recolectada en el distrito de Luricocha, provincia de Huanta de la región de Ayacucho 2013.

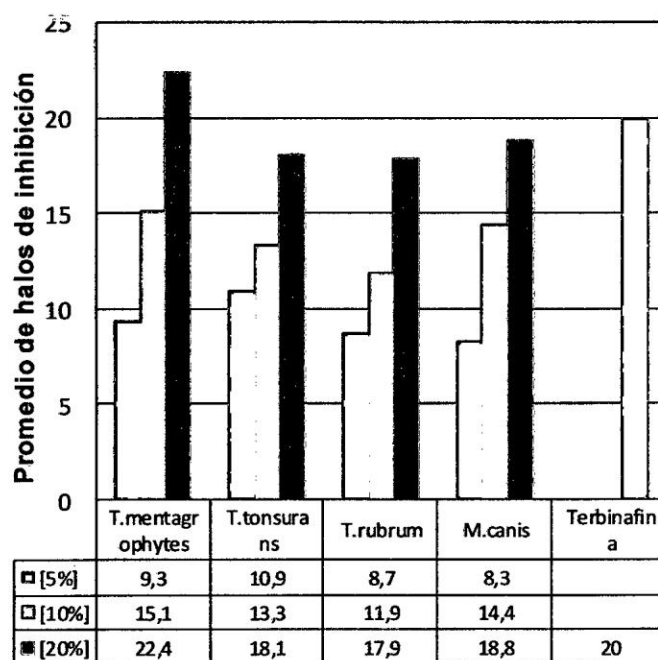
	Metabolito	Resultado	Observación
Dragendorff	Alcaloides	+	Precipitado
Baljet	Lactonas y/o cumarinas	++	Rojo
Shinoda	Flavonoides	+++	Rojo
Borntrager	Quinonas	++	Rojizo
Espuma	Saponinas	+	Espuma
Cloruro férrico	Taninos y/o fenoles	+++	Verde-azulado
Catequinas	Catequinas	++	Verde Fluorescente
Ninhidrina	Aminoácidos libres	++	Violeta
Liebermann-Burchard	Triterpenos y/o esteroides	+++	Verde oscuro.

LEYENDA:

(+++) Abundante

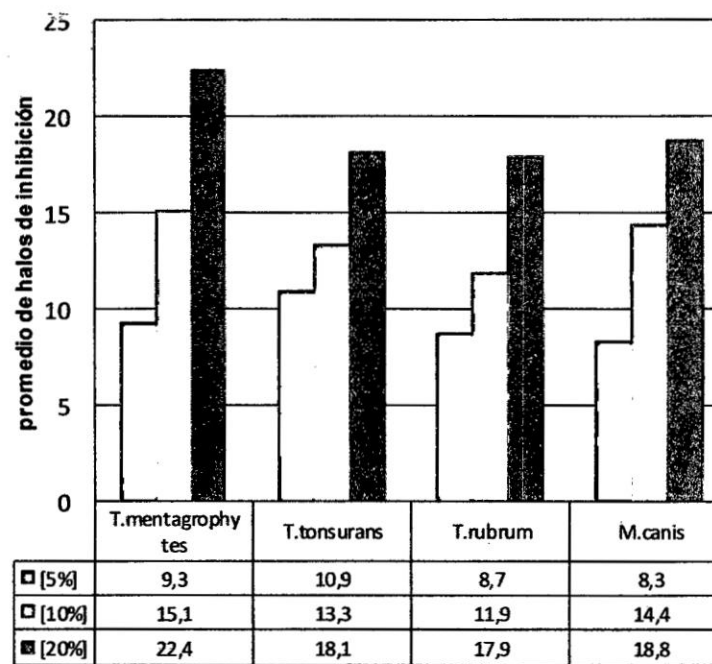
(++) Moderado

(+) Leve



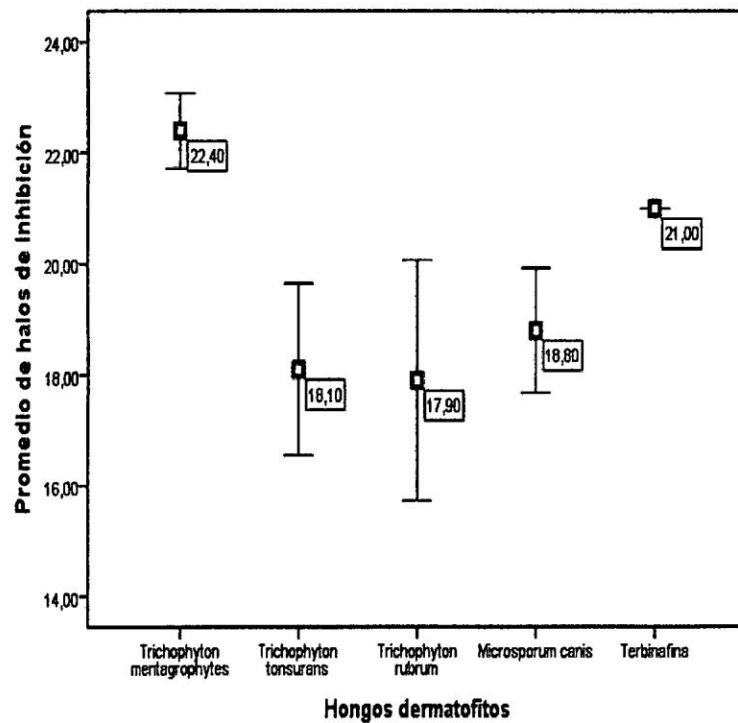
**Cepas de hongos dermatofitos y Terbinafina**

Figura 6. Valores promedio de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" de concentraciones: 5%, 10% y 20% sobre cepas de hongos dermatofitos con relación a la Terbinafina. Ayacucho 2013.



**Cepas de hongos dermatofitos**

Figura 7. Porcentaje de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” de concentraciones: 5%, 10% y 20% sobre cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho 2013.

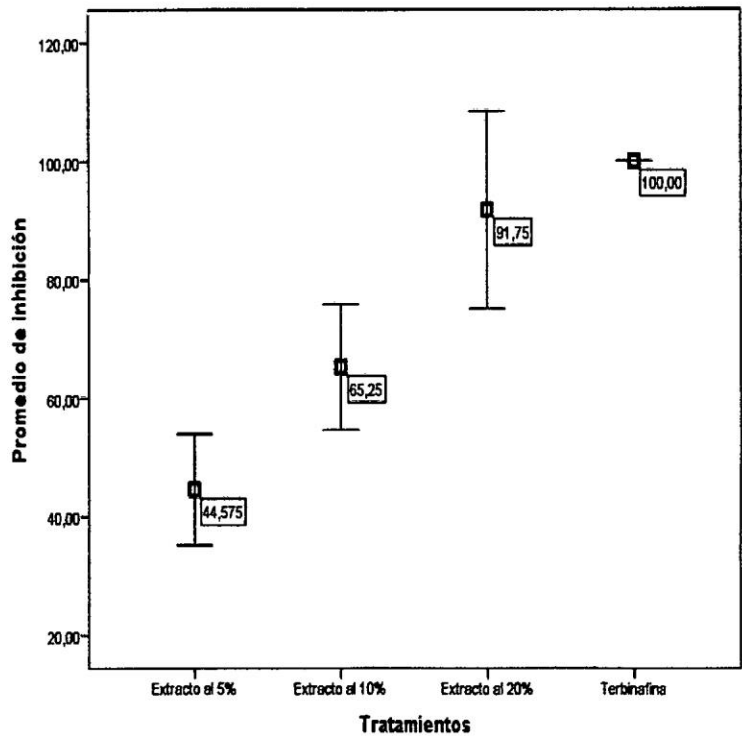


Anova,

$p < 0,05$

Figura 8. Promedio de halo de inhibición según tipos de cepas de hongos dermatofitos al 20% de concentración del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla". Ayacucho 2013.





Anova,  $p < 0,05$

Figura 9. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey del promedio de los halos de inhibición según la concentración del extracto de "manzanilla" y el control, en cepas de hongos dermatofitos *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans* y *Microsporum canis*. Ayacucho 2013.

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima fungicida del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla". Ayacucho-2013.

<b>Tubos</b>	<b>5%</b>		<b>10%</b>		<b>20%</b>	
1	6250	S	12,5	S	25	S
2	3125	S	6,25	S	12,5	S
3	1563	S	3,125	S	6,25	S
4	0,782	S	1,563	S	3,125	S
5	0,391	S	0,781	S	1563	S
6	0,195	S	0,391	S	0,781	S
7	0,098	S	0,195	S	0,391	S
8	0,049	S	0,098	S	0,195	S
9	0,024	S(CMF)	0,049	S	0,098	S
10	0,012	R(CMI)	0,024	S(CMF)	0,049	S
11	0,006	R	0,012	R(CMI)	0,024	S(CMF)
12	0,003	R	0,006	R	0,012	R(CMI)
13	0,0015	R	0,003	R	0,006	R
14	0,0008	R	0,0015	R	0,003	R

## V. DISCUSIÓN

La incuestionable necesidad de utilizar productos naturales en el tratamiento de diferentes enfermedades, constituyen en la actualidad un desafío en la medicina y se ofrece como una alternativa, especialmente en aquellas enfermedades en la que no existe un tratamiento adecuado y un periodo de tratamiento largo. Sin duda el reino vegetal es el que ofrece mayor diversidad de sustancias.<sup>7</sup>

Los compuestos derivados de plantas son de interés en este contexto porque ellos comprenden sustitutos más seguros o más eficaces que los agentes antimicrobianos producidos sintéticamente, los cuales podrían servir como buenos candidatos para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos (antifúngicos en particular) que aporten ventajas apreciables respecto a los actuales fármacos; debido a que globalmente las plantas producen más de 100000 productos naturales de bajo peso molecular, también conocido como metabolitos secundarios.<sup>3</sup>

- El papel cada vez más importante de los hongos dentro de las enfermedades infecciosas humanas, ha ejercido una fuerte influencia sobre la investigación y el desarrollo de nuevos y variados fármacos, con un mayor espectro de acción y menor toxicidad que los actuales. El aumento de las infecciones por hongos, unida a la resistencia que han empezado a tener estos agentes a los antimicóticos, han llevado a una constante búsqueda de alternativas terapéuticas eficaces que puedan brindar más y mejores opciones en las farmacopeas actuales.<sup>25, 34</sup>

En la presente investigación se buscó determinar si el extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" tiene actividad antifúngico *in vitro* sobre hongos dermatofitos, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans* y *Microsporum canis*, lo cual quedo demostrado, la existencia de un efecto antifúngico según los resultados obtenidos; además se encontró diferencia significativa con respecto al tamaño del halo de inhibición de

las distintas concentraciones del extracto de las flores de "manzanilla" que fueron utilizados.

La *Matricaria chamomilla* "manzanilla" es una de las plantas medicinales más utilizadas en la medicina popular, el extracto acuoso de la "manzanilla" ha sido utilizado para curar varias dolencias, como insomnio, ansiedad, trastornos gastrointestinales, úlceras, entre otros.<sup>4,5</sup> Más de 100 metabolitos están mencionados como componentes de la planta, los estudios farmacológicos muestran que el bisabolol, sesquiterpeno presente en su composición, tiene acción antiinflamatoria, previene el desenvolvimiento de úlceras gástricas, propiedades antibacterianas y antifúngicas.<sup>4,5</sup> Alta concentración de alfa-bisabolol presente en el aceite de "manzanilla" parece estar relacionada con sus actividades farmacológicas, presentando actividad antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria y antiulcerosa.<sup>15</sup>

Al analizar los resultados del tamizaje fitoquímico, se observan los diferentes metabolitos secundarios presentes en el extracto de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" (Tabla 2). Este estudio comprendió un conjunto de ensayos y técnicas sencillas, que aunque no brindan los resultados concluyentes, debido a diversos factores influyentes, si nos dan una idea general sobre su composición química de la planta. Destacando la presencia de: lactonas, cumarinas, triterpenos, esteroides, fenoles, flavonoides, quinonas, azúcares reductores, antocianinas, saponinas antocianinas y catequinas; corroborados por Cruz<sup>3</sup>, resultados que nos hacen suponer que estos metabolitos secundarios ya sean de manera independiente o posiblemente al efecto sinérgico entre ellos, son los responsables de la actividad antifúngica a través de diferentes mecanismos.<sup>3</sup>

En la Figura 6. Se observa los extractos de concentraciones 5%, 10% y 20%, muestran promedios de halos de inhibición crecientes según la concentración del extracto, mostrando mejor sensibilidad a los hongos dermatofitos la concentración de 20%, siendo estos promedios: *Trichophyton mentagrophytes* 22,4 mm, *Trichophyton tonsurans* 18,1 mm, *Trichophyton rubrum* 17,9 mm y *Microsporum canis* 18,8 mm respectivamente, siendo valores menores a la terbinafina a excepción de *Trichophyton mentagrophytes* que muestra un promedio de 22,4 mm que es ligeramente superior que el control positivo que tiene un promedio de halo de inhibición de 21 mm, habiendo diferencia entre los tratamientos ensayados ( $p < 0,05$ ) a un nivel de confianza del 95% (Anexo 10); Se realizó las comparaciones múltiples de las medias de los halos de inhibición con la prueba de Turkey (Anexo

11), basado en el grado de parecido existente entre sus medias, *Trichophyton tonsurans*; *Trichophyton rubrum* y *Microsporum canis* tienen similitud en el promedio de las medias, mientras que el *Trichophyton mentagrophytes* tiene similitud en el promedio que la Terbinafina.

Estos resultados permiten comparar la diferencia existente entre géneros y especies de dermatofitos basados en las características macroscópicas de las colonias y en la morfología microscópica.

Los resultados obtenidos tienen similitud por lo reportado por Limachi<sup>10</sup> que reporta, en su trabajo valores promedios de halos de inhibición que permiten una comparación múltiple de cepas de hongos dermatofitos, indicando así que existe diferencia significativa en cuanto al tamaño del halo de inhibición entre cada cepa de hongo siendo el *Microsporum gypseum* el que produce mayor halo de inhibición 22,22 mm seguido por el *Microsporum canis* con un promedio de 19,61 mm, y el *Trichophyton mentagrophytes* con 19,39 mm.

Costo<sup>7</sup>, contrariamente reporta el efecto inhibitorio de la infusión de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" sobre el crecimiento de microorganismos cariogénicos, *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans in vitro*; demostró que la concentración al 5% estimula el crecimiento del *Streptococcus mutans* e inhibe el crecimiento del *Lactobacillus acidophilus*, la concentración al 10% obtuvo mayor efecto inhibitorio para los dos microorganismos estudiados, la concentración al 20% tuvo menor efecto inhibitorio que la concentración al 10%.<sup>7</sup> Estos resultados se pueden deber al tipo de extracción, ya que la manzanilla tiene aceites esenciales y el extracto etanólico arrastra mayor cantidad de metabolitos secundarios en comparación con la infusión de la planta.<sup>44</sup>

En la Figura 7. Los porcentajes de inhibición de las concentraciones 5%, 10% y 20% fueron 44,3% para la concentración 5% del extracto, 72% para la concentración 10% del extracto, y 107% para la concentración del 20% del extracto, esta última concentración muestra un mayor porcentaje de inhibición en cepas de *Trichophyton mentagrophytes* respecto a la terbinafina. Al realizar el análisis de varianza (Anexo 12), presenta un valor estadísticamente significativa entre los tratamientos con una ( $p < 0,05$ ) a un nivel de confianza del 95%; donde los tratamientos difieren significativamente, es decir no tienen el mismo comportamiento inhibitorio.

Estos resultados tienen similitud en cuanto al trabajo realizado por Gómez<sup>45</sup>, en la que reporta que los geles de extracto hidroalcohólico de *Matricaria chamomilla*

“manzanilla” de las concentraciones 15% y 20% no presentaron actividad antimicótica, mientras que para el 25% del gel presento efecto antimicótico, ya que desaparecieron las manifestaciones clínicas mostrados por los cobayos. Concluye que tiene actividad antimicótica para el dermatofito evaluado “*Trichophyton mentagrophytes*”.<sup>45</sup>

Así mismo los resultados anteriores también contrastan con los reportes de Cruz<sup>3</sup>, donde reporta que el extracto fluido de “manzanilla, “matico” y “marco” al 25%, gel fluido, mostraron actividad antimicótica frente a *candida albicans* ATCC 10231.<sup>3</sup>

Por otro lado Colella<sup>38</sup>, reporta la inhibición del crecimiento de los dermatofitos expuestos al aceite esencial, a concentraciones 2,5 a 80 µg/mL en el intervalo de 3,24 a 68,15% para *Microsporum gypseum*, 24,48 a 100% para *M. canis*, 11,40 a 96,65% para *Trichophyton mentagrophytes*, 27,79 a 100% para *T. rubrum* y 45,73 a 100% para *T. tonsurans*.<sup>38</sup> Lo cual demuestra que existe una mejor respuesta al tratamiento, usando el aceite esencial y no el extracto hidroalcohólico. Son fungistáticos a bajas concentraciones mientras que a concentraciones más elevadas se comportan como fungicidas por acción directa sobre la membrana celular del hongo.<sup>38</sup>

En cuanto al fármaco utilizado, se pudo demostrar que la Terbinafina utilizada como el control, tiene una buena sensibilidad a los dermatofitos, menciona que la mayor sensibilidad *in vitro* alcanzada por los dermatofitos fue la Terbinafina, seguida por la Griseofulvina e Itraconazol.<sup>38</sup> La Terbinafina es un medicamento considerado como una excelente herramienta contra los dermatofitos tanto por su sensibilidad *in vitro* como por la respuesta clínica demostrada. El estudio de Ghannoum *et al* reportó un rango <0,001-0,004 µg/mL (media de 0,012 y MIC<sub>90</sub>: 0,002 µg/mL) <sup>35</sup>

La concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Fungicida (CMF), realizado mediante el método de dilución en caldo, fue demostrada a concentraciones de 5%, 10% y 20%, presentando 0,012 mg/ml y 0,024 mg/ml respectivamente (Tabla 3).

El tratamiento de las infecciones causadas por dermatofitos ha ido evolucionando en las últimas décadas. Ello se debe, no sólo a la aparición de posibles resistencias frente a alguno de los antifúngicos ya conocidos. El cual conllevaría secundariamente al aumento en la incidencia de estas infecciones; Arnoldo<sup>9</sup> *et al* realizaron la investigación de la solución de manzanilla sobre candidiasis genital, determinaron que los componentes más importantes de la manzanilla son la

camazuleno, el  $\alpha$ -bisabolol y los óxidos de bisabolol, los *cis*- y *trans* éteres así como los derivados de la flavona y cumarina. El  $\alpha$ -bisabolol actúa como fungicida en una concentración de 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  después de un contacto de treinta minutos mientras que los éteres en la misma concentración empiezan a actuar después de un contacto de cuarenta más graves y con manifestaciones clínicas atípicas en pacientes sometidos a alguna inmunodepresión. Para estos casos es necesario el empleo de antifúngicos más potentes. La Terbinafina ha demostrado una excelente actividad en aquellos procesos en los que por su gravedad necesitaron ser tratados de forma más agresiva. Sin embargo, pocos son los estudios en los que se ha probado su actividad *in vitro* frente a hongos dermatofitos.<sup>43</sup>

Actualmente, no existe método estandarizado para determinar la sensibilidad antifúngica frente dermatofitos. En nuestro estudio la técnica de los pozos de difusión, una técnica similar a la de los discos de difusión, la cual permite utilizar los antifúngicos a evaluar en su presentación comercial, mostró ser una posible opción adicional. Sin embargo, se requieren más estudios en los cuales se utilice los mismos parámetros que se usaron en este trabajo, el cual fue un ensayo, para determinar si realmente esta es una técnica efectiva para realizar la susceptibilidad antifúngica de los dermatofitos. Además, se necesitan estudios de correlación "*in vitro*" e "*in vivo*", indispensables para la predicción de la respuesta clínica ante un tratamiento.

## VI. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” tiene actividad antifúngica frente a dermatofitos.
2. El extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” al 20% presentó mayor actividad antifúngica, respecto a las demás concentraciones, con halos de inhibición de *T. mentharophytes* de 22,4 mm; *T. rubrum* 17,9 mm; *M. canis* 19 mm y *T. tonsurans* 18,1 mm respectivamente, la Terbinafina presentó 21 mm ligeramente inferior al promedio presentado por *T. mentharophytes*.
3. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” fue 0,012 mg/mL y 0,024 mg/mL respectivamente frente a un hongo dermatofito (*T. mentharophytes*).



## VII. RECOMENDACIONES

1. Aislar los principios activos que le confiere la actividad antifúngica a *Matricaria chamomilla* "manzanilla" para un mejor estudio y elaboración de una forma farmacéutica.
2. Realizar bioensayos en animales de experimentación para determinar la toxicidad de *Matricaria chamomilla* "manzanilla".
3. Elaborar formas farmacéuticas con la *Matricaria chamomilla* para probar su actividad.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Trejos E, Evaluación de parámetros para pruebas de susceptibilidad antifúngica en hongos filamentosos mediante la técnica de difusión en agar.[Tesis pregrado]. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá; 2009.
2. Riofrío J. Aislamiento, caracterización y actividad antifúngica de metabolitos secundarios a partir de *Piper carpunya* Ruiz & Pav.[Tesis pregrado]. Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador; 2012.
3. Cruz P. Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de "manzanilla" *Matricaria chamomilla*, "matico" *Aristiguetia glutinosa* y "marco" *Ambrosia arborescens* para Neo-Fármaco. [Tesis pregrado]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador; 2009.
4. Hall V, Rocha M, Rodríguez E. Plantas medicinales volumen II. Centro Nacional de información de Medicamentos. Universidad de Costa Rica. Mayo; 2002. <http://sibdi.ucr.ac.cr/boletinespdf/cimed27.pdf>. [Online] [www.google.com.pe/search?q=Plantas+Medicinales+Volumen+II](http://www.google.com.pe/search?q=Plantas+Medicinales+Volumen+II).&oq=Plantas+Medicinales+Volumen+II".&aqs=chrome.69i57j0.1945j0j7&sourceid=chrome&es\_sm=93&ie=UTF-8.
5. Medicina alternativa. Monografía de *Matricaria chamomilla*. [Revista]. Volumen 13. Número 1; 2008.
6. Fernández B. Sensibilidad antifúngica de los dermatofitos. [Tesis Doctoral]. Universidad Rovira i Virgili. Facultad de medicina y ciencias de la salud. Reus – España; 2005.
7. Costo J. Actividad inhibitoria del crecimiento de *Streptococcus mutans* y de la flora mixta salival por acción del aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* "manzanilla". [Tesis pregrado]. Lima – Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima; 2010.
8. Viveros J, Castaño J. Evaluación *in vitro* de extractos vegetales sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. [Revista online]. 2006 [acceso 2013 Setiembre.15]. Disponible:[http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia14-1\\_5.pdf](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia14-1_5.pdf)
9. Amoldo Z, Alvarado F, Salmerón B. Acción de la solución de manzanilla sobre la candidiasis genital. [Revista]. Revmedpostunah. Vol 4. N° 3. Setiembre - Diciembre; 1999.
10. Limachi C. Actividad antimicótica de los extractos de *Allium sativum* L. "ajo" frente a los dermatofitos. Ayacucho 2003. [tesis pregrado]. Huamanga: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho; 2003.
11. Tueros R. Efecto antimicótico de *Euphorbia peplus* "leche leche" frente a cepas de hongos dermatofitos. [tesis pregrado]. Huamanga. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho; 2005.
12. Ruiz J. Actividad antifúngica *in vitro* y Concentración mínima inhibitoria mediante microdilución de ocho plantas medicinales. [tesis pregrado] Lima- Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima; 2013.
13. Ryman D. Aromaterapia, enciclopedia de las plantas aromáticas y de sus aceites esenciales. in biblioteca de salud Kairós; 1994; España. p. 147-150.
14. Medicamentos herbarios tradicionales. *Matricaria recutita* L [Manual], red de protección social. Gobierno de Chile. Ministerio de salud.
15. Cárdenas G. Optimización del proceso de secado de la manzanilla "*Matricaria chamomilla*" y del toronjil "*Melissa officinalis*" con la unión de

- comunidades indígenas y campesinas de Juan Montalvo (UCICJUM)". [Tesis pregrado]. Ecuador: Escuela politecnica nacional, Quito; 2009.
16. Flores Y. Evaluación de la eficacia de un producto en el tratamiento de neoplasias. [Tesis de pregrado]. México, D.F. Instituto Politécnico Nacional – Escuela Superior de Medicina. Diciembre 2009.
  17. Meneses J. Optimización del proceso de extracción de flavonoides de la flor de "manzanilla" *Matricaria chamomilla*. *Agrociencia* 2008.42 (425).
  18. Sánchez L, Matos R y Kumakawa H. Infecciones micóticas superficiales. [Revista] 2009. Volumen 19 (3).
  19. Ospina D. Actividad antifúngica del extracto crudo de *Azadirachta indica* A. Juss. de suspensión de células sobre hongos dermatofitos causantes de enfermedades patógenas al hombre. [tesis de pregrado] Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias. Medellín – Colombia. 2012.
  20. Sarmiento C, Trujillo Estandarización e implementación de las técnicas en el diagnóstico clínico de micosis cutáneas en el laboratorio de Micología de la Pontificia Universidad Javeriana.[Tesis de pregrado].Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá Dc. Julio 2006.
  21. Arenas R. Micología medica ilustrada. 3ra edición Mc Graw – Hill, IESADCV. Editor México. Mc – Graw – Hill. Interamericana. 2008.
  22. Prada L, Vega P. Caracterización y evaluación de actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de hongos de la familia *Tricholomataceae* frente a agentes causales de dermatofitosis en animales.[Tesis pregrado].Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C. Abril 2008.
  23. Cabañes F. Identificación de hongos dermatofitos. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2001; 12-1(12).
  24. The center for food security & public health. University. College of Veterinary Medicine Iowa State University Ames, Iowa 50011. Dermatofitosis. Mayo 2005.
  25. Micosis superficiales.[Monografía] Capitulo 5. Dermatofitosis, parte 2. Paginas 59 al 99.
  26. William E, Peter G. *Clinical mycology*. Oxford. University Press 2003.
  27. Martín P. Estudio a microscopía electrónica de ciertas especies de dermatofitos zoofílicos.[Tesis de pregrado] Universidad de Salamanca. 2009.
  28. Juárez C. Fertilización orgánica e inorgánica en la producción y calidad de aceites esenciales en manzanilla, menta y tomillo.[tesis doctoral] Colegio de postgraduados, Institución de enseñanza e investigación en ciencias Agrícolas. Campus Montecillo, Texcoco EDO. de México 2010.
  29. Vásquez A. Micosis en el Salvador. Un problema de salud pública."Propiedades antimicóticas *in vitro* de una planta natural *Allium sativum* (XX27). Año 2001.[Proyecto de investigación Master Class].Universidad de el Salvador, Universidad de Maastrich Holanda. Ciudad Universitaria Julio 2001.
  30. Merino P, Alonso R. Fundamentos y técnicas de análisis microbiológico. Educála Editorial, S.L. Valencia España.
  31. Charriel G. Investigación de la actividad de un nuevo antifúngico en hongos de interés clínico.[Tesis Doctoral]. Universidad de Córdoba. Junio 2003.
  32. Litter M. *Compendio de Farmacología*. 3rd ed. Buenos Aires - Argentina: El Ateneo; 1988.

33. Flores J. Farmacología humana. 3rd ed. Barcelona- España: Masson, S.A; 1998.
34. Bouza E. Antifúngicos. Criterios de uso racional y guía práctica terapéutica. [Manual 2]. Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.
35. Pérez J, Hoyos A y Cárdenas C. Sensibilidad antimicótica de diferentes especies de hongos aislados de pacientes con micosis ungueal en la ciudad de Manizales (Caldas, Colombia).[Revista]. Biosalud. Volumen 11. N° 2 Julio – Diciembre 2013. Págs 26 – 39.
36. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of nondermatophyte filamentous fungi; Approved Guideline. Clinical and laboratory standards institute.[Revista]. M51 – A. Vol 30. N°11. Replaces M51 – P. Vol. 29 N°15.
37. Valdigem G, Pereira T, *et al.* A twenty – year survey of dermatophytoses in Braga, Portugal.[Revista]. The internacional society of Dermatology. Portugal 2006. 45, 822 – 827.
38. Colella M, Castro M, *et al.* Susceptibilidad antifúngica en dermatofitos.[Revista Kasmera]. Sección de Micología medica, instituto de medicina tropical, facultad de medicina, UCV.32(2). 85 – 92, Julio – Diciembre 2006.
39. Martin E, Cantón E y Espinel A. Otros métodos para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos. Revista iberoamericana de micología. ISBN. 16.
40. Villar del Fresno A . Farmacognosia General. España: Síntesis; 1999.
41. Miranda M. Manual de prácticas de laboratorio, farmacognosia y productos naturales. manual. Habana-Cuba-: Instituto de farmacia y alimentos., Habana; 2000.
42. Maoz I. Antimicrobial effects off aqueous plant extracts on the fungi *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. Letters in applied microbiology. [Online].; 1998 [cited 2013 noviembre 1. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1472-765x.1998.00277.x/pdf>
43. Barboza S. Actividad gastroprotectora y antimicrobiana del extracto seco de *Matricaria recutita* "chamomilla" y de alfa-bisabolol: posibles mecanismos de acción. [tesis pregrado]. Fortaleza - Brazil: Universidad Federal de Ceará, Fortaleza; 2009.
44. Lizcano A, Vergara J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Mycianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos.[Tesis de pregrado]. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. Julio 2008.
45. Gómez M. actividad antimicótica *in vivo* del gel de extracto hidroalcohólico de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" en dermatofitos de cuyes. [Tesis]. Huamanga: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho; 2013.
46. Cano C. Actividad antimicótica *in vitro* y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Mintostachys mollis* "muña".[Tesis de maestría]. Universidad Nacional Mayor de san Marcos. Lima – Perú 2007.

## **ANEXOS**

## Anexo 1.

Certificado de la identificación de la planta *Matricaria chamomilla*  
"manzanilla". Ayacucho-2013.



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE  
CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

### C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Diana, MERCADO MANCCO, ha  
solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación  
de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	<i>Matricaria</i>
ESPECIE	:	<i>Matricaria recutita</i> L.
SINONIMIA	:	<i>Matricaria chamomilla</i>
N.V.	:	"manzanilla"

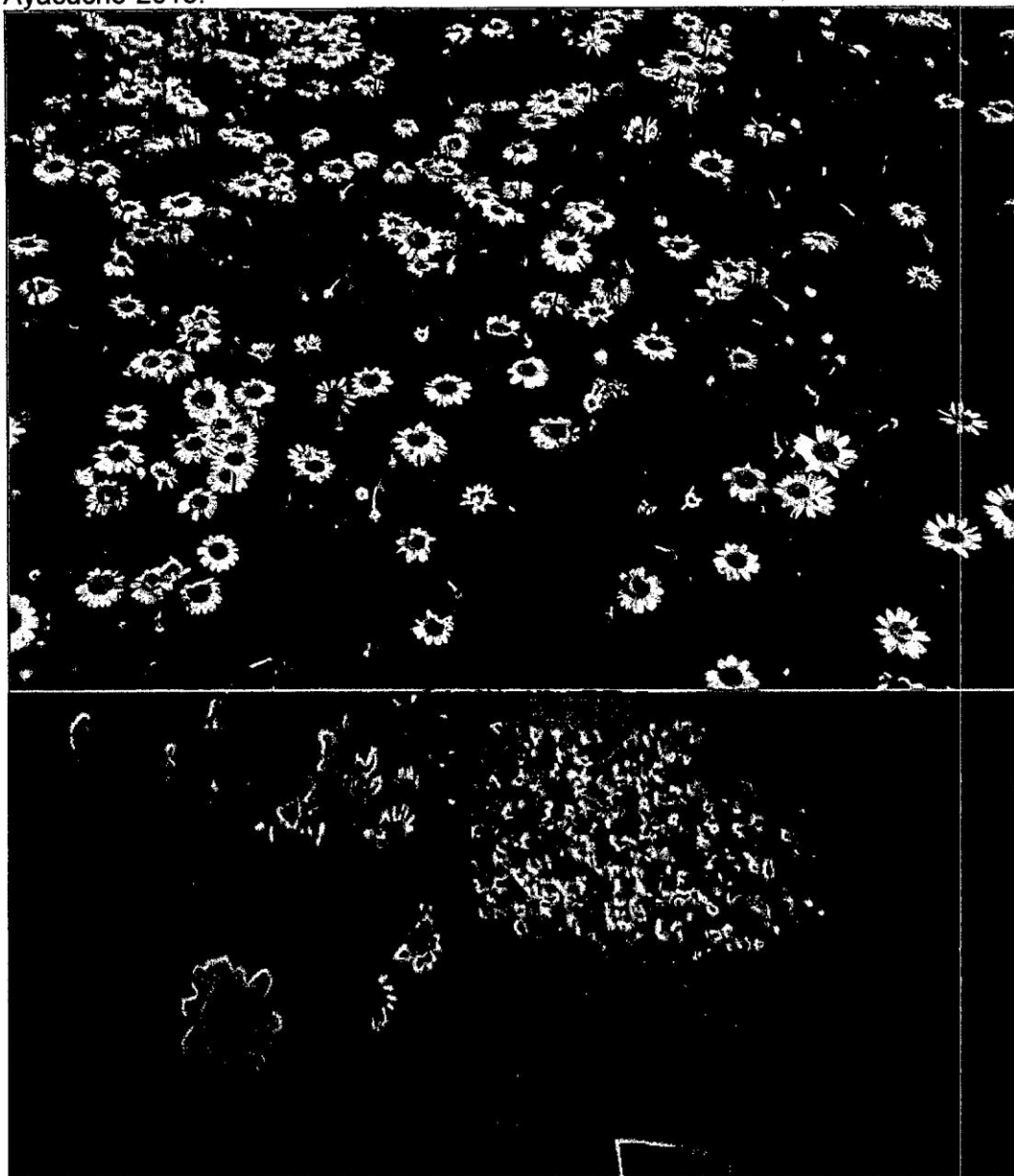
Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada  
para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 20 de Mayo del 2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
Dña. Laura Patricia Salazar  
JEFE

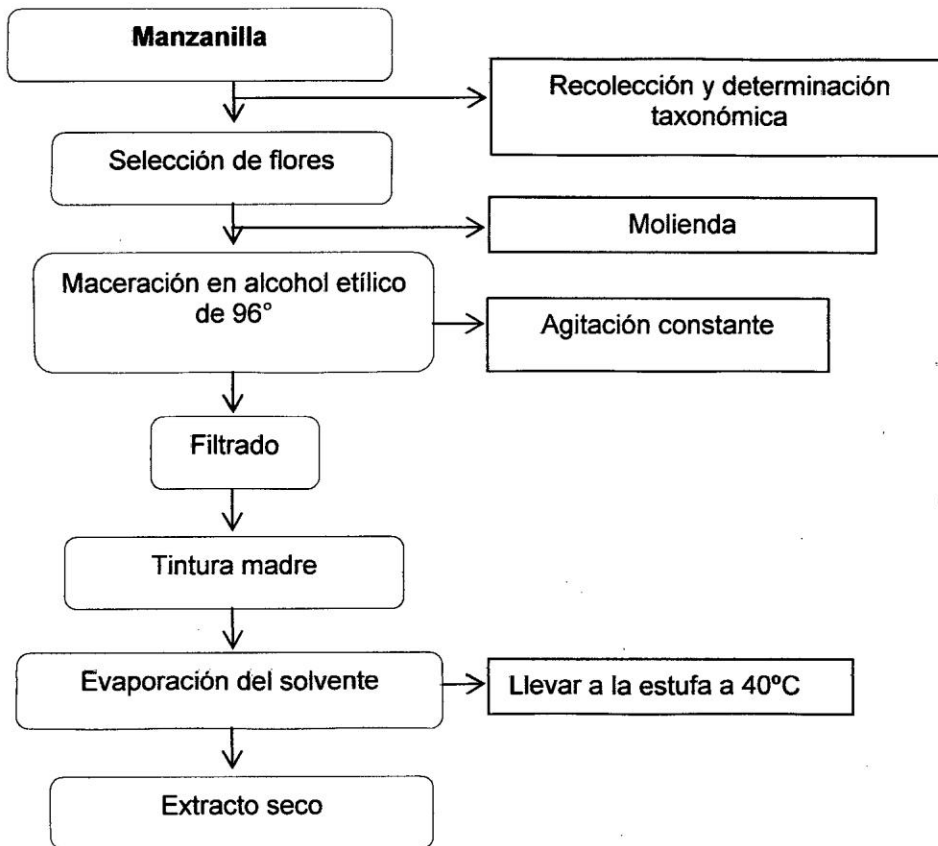
**Anexo 2.**

Recolección de la "manzanilla" en el distrito de Luricocha, provincia de Huanta, región de Ayacucho. Planta entera y selección de las flores. Ayacucho-2013.



### Anexo 3.

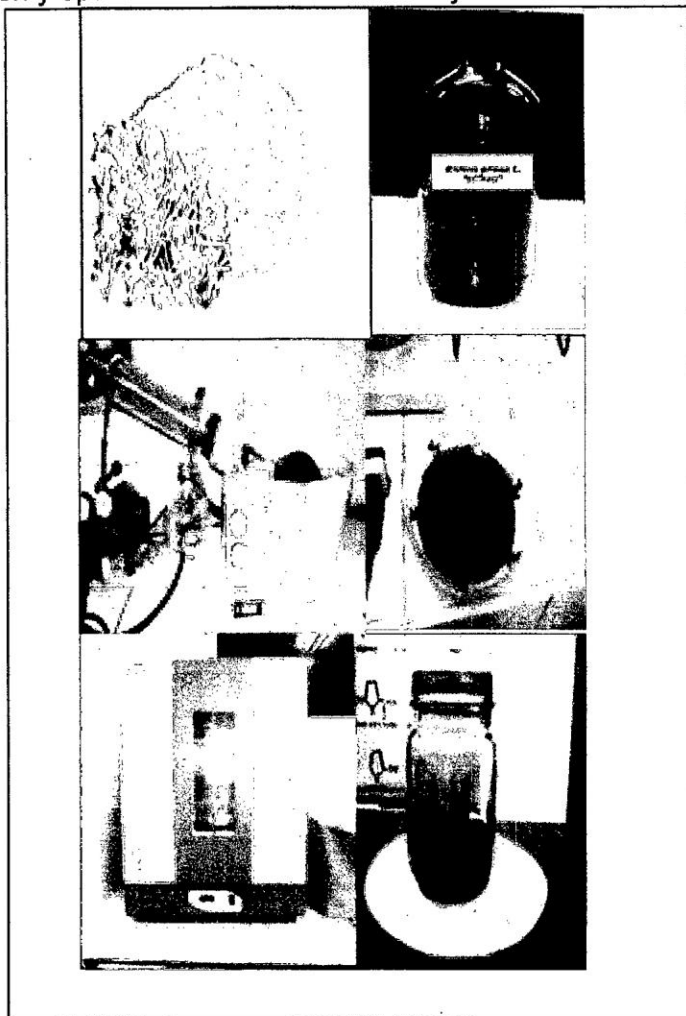
Esquema de la obtención del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" del distrito de Luricocha provincia de Huanta de la región de Ayacucho-2013.





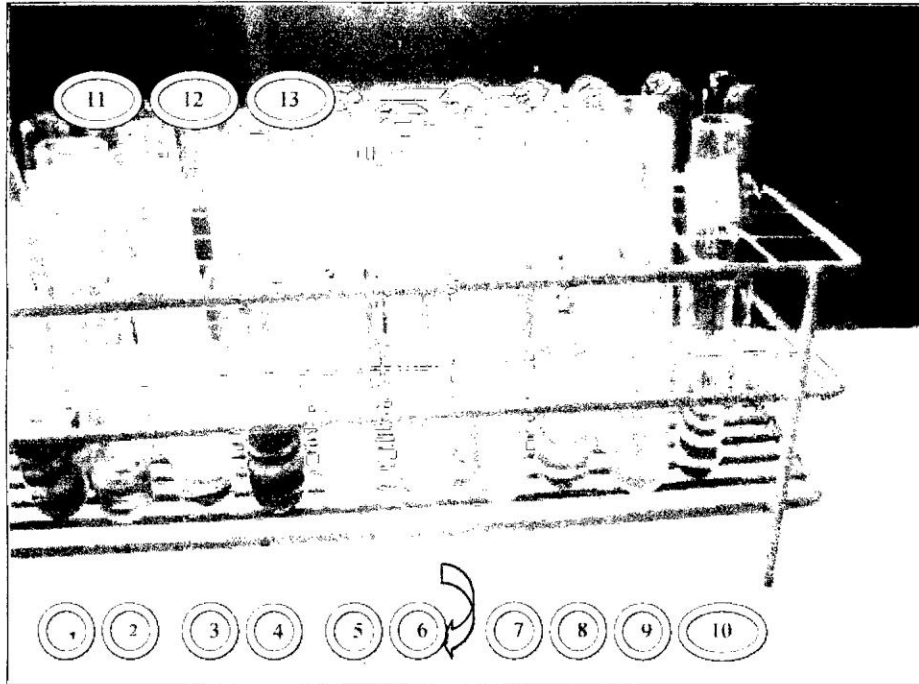
#### Anexo 4.

Flores secas de "manzanilla", maceración, filtrado, tintura madre, concentración y obtención del extracto seco. Ayacucho-2013.



## Anexo 5.

Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla". Ayacucho-2013.

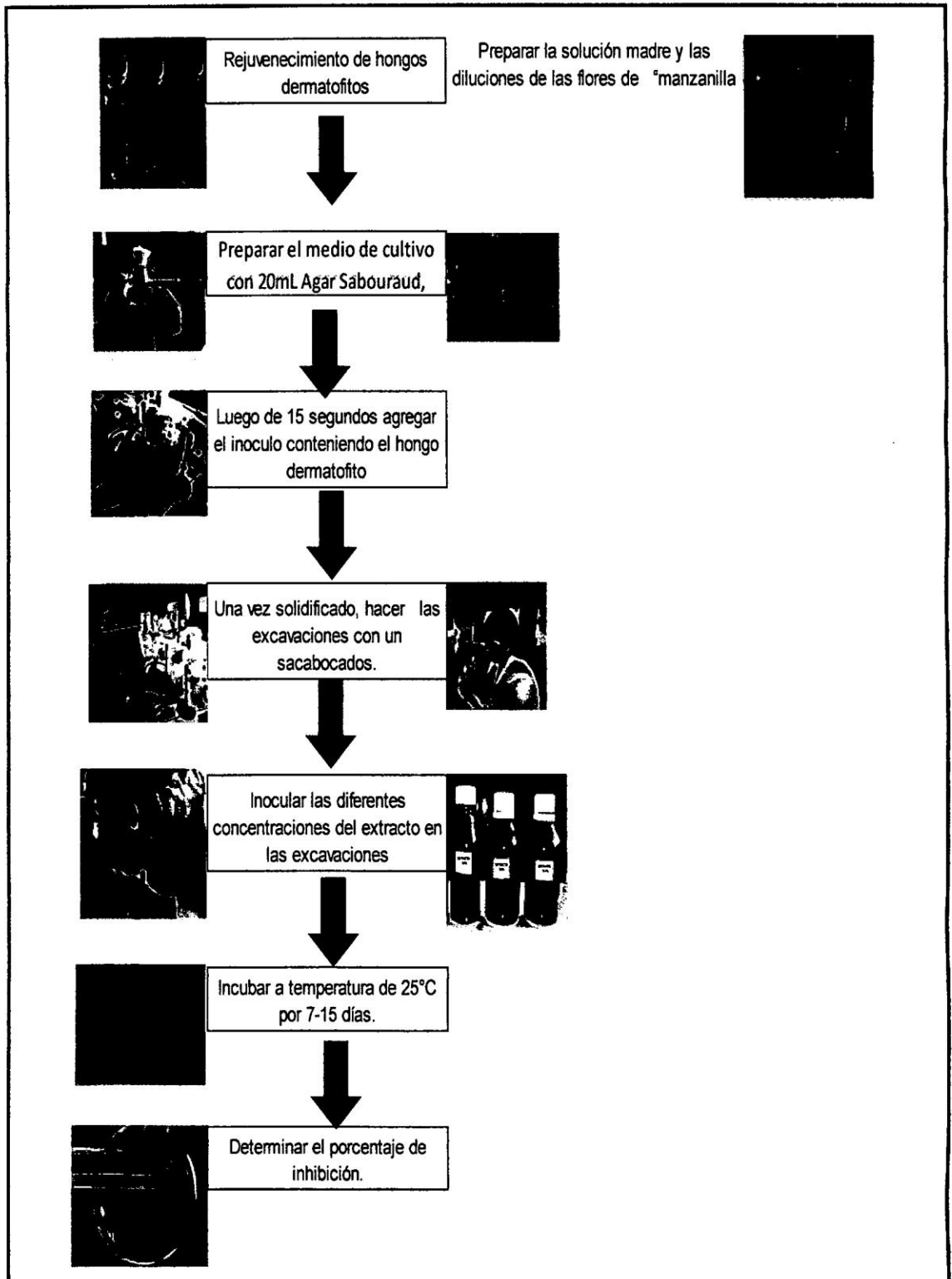


### Leyenda:

Dragendorff (1), Mayer (2), Baljet (3), Bortrager (4), Lieberman-Burchard (5), Catequinas (6), Resinas (7), Benedict (8), Ninhidrina (9), Cloruro férrico (10), Espuma (11), Shinoda (12), Antocianidinas (13).

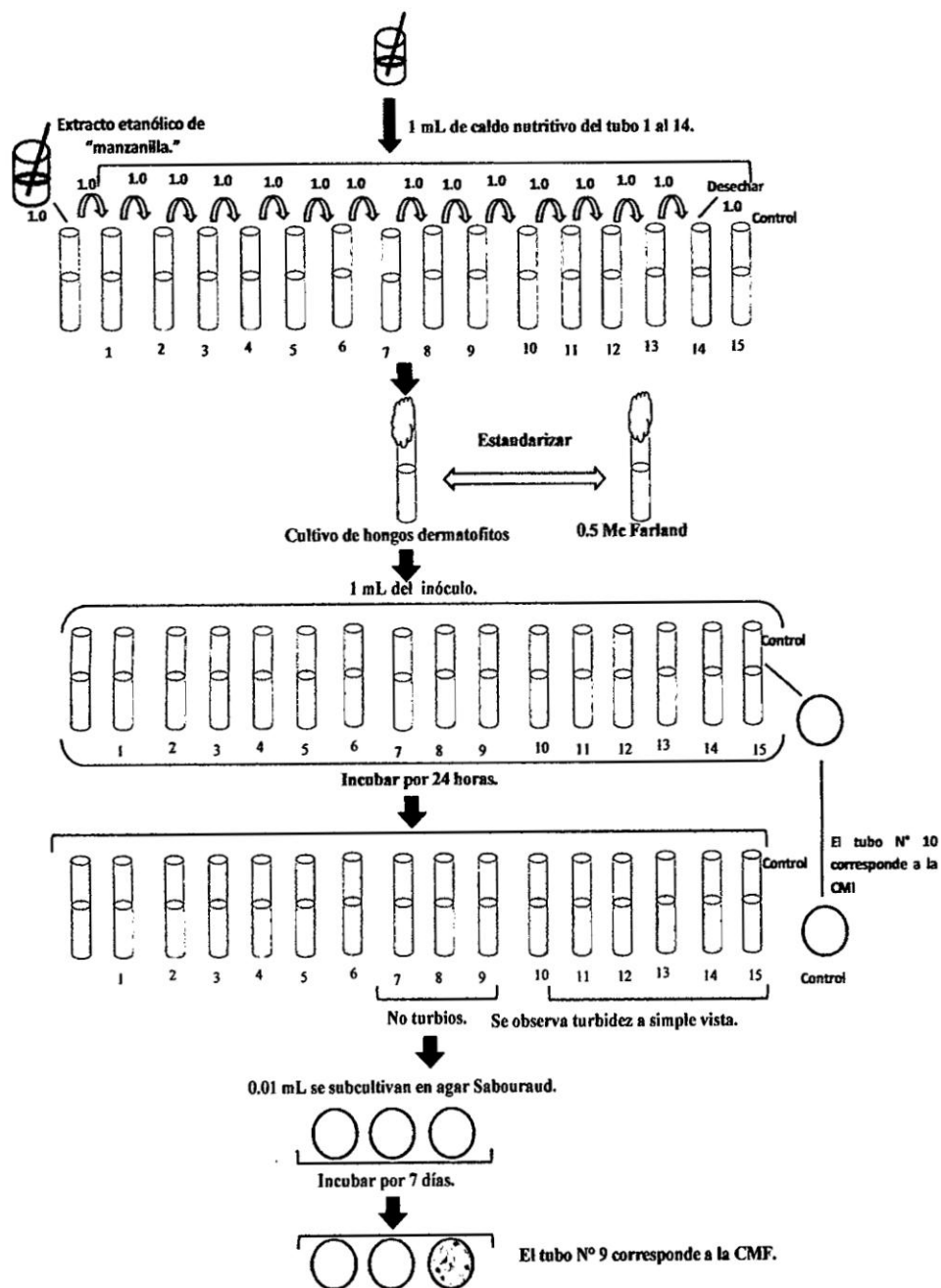
## Anexo 6.

Prueba de sensibilidad por difusión en agar del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" en cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho 2013.



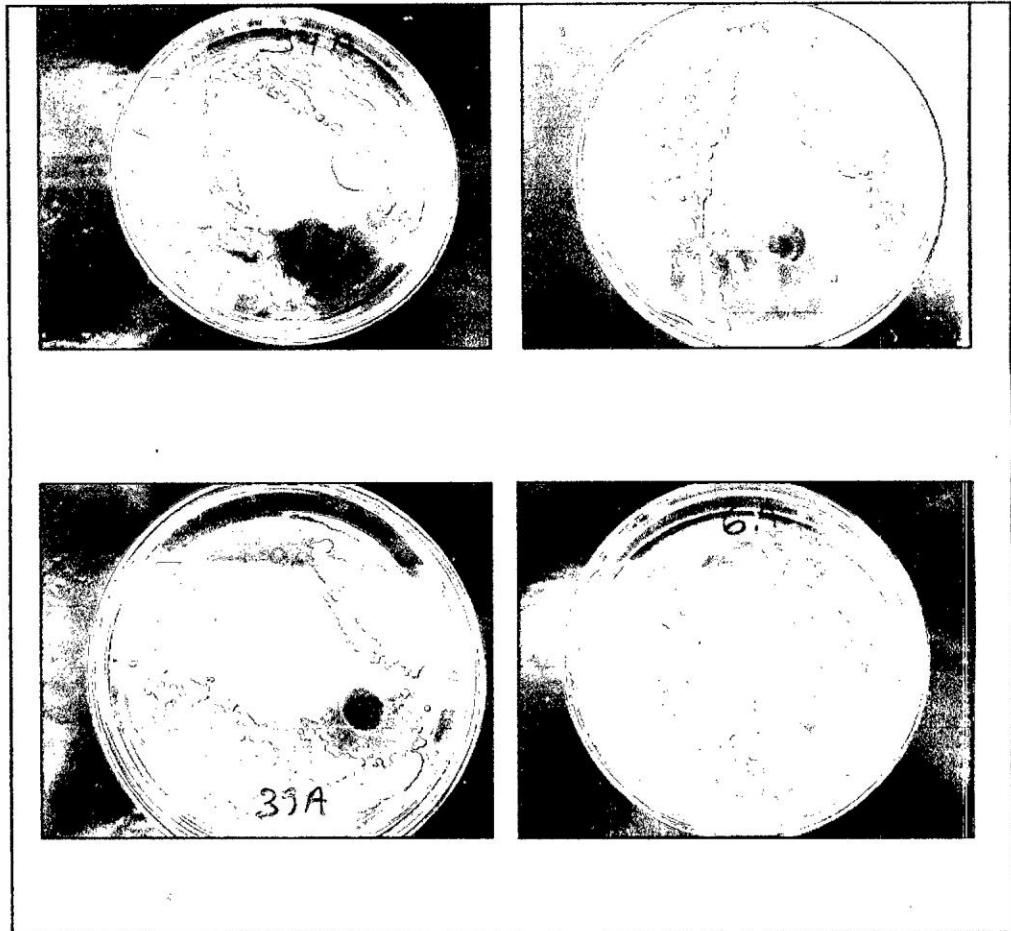
### Anexo 7.

Esquema del procedimiento para determinar la CMI y CMF del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" sobre hongos Dermatofitos. Ayacucho-2013.



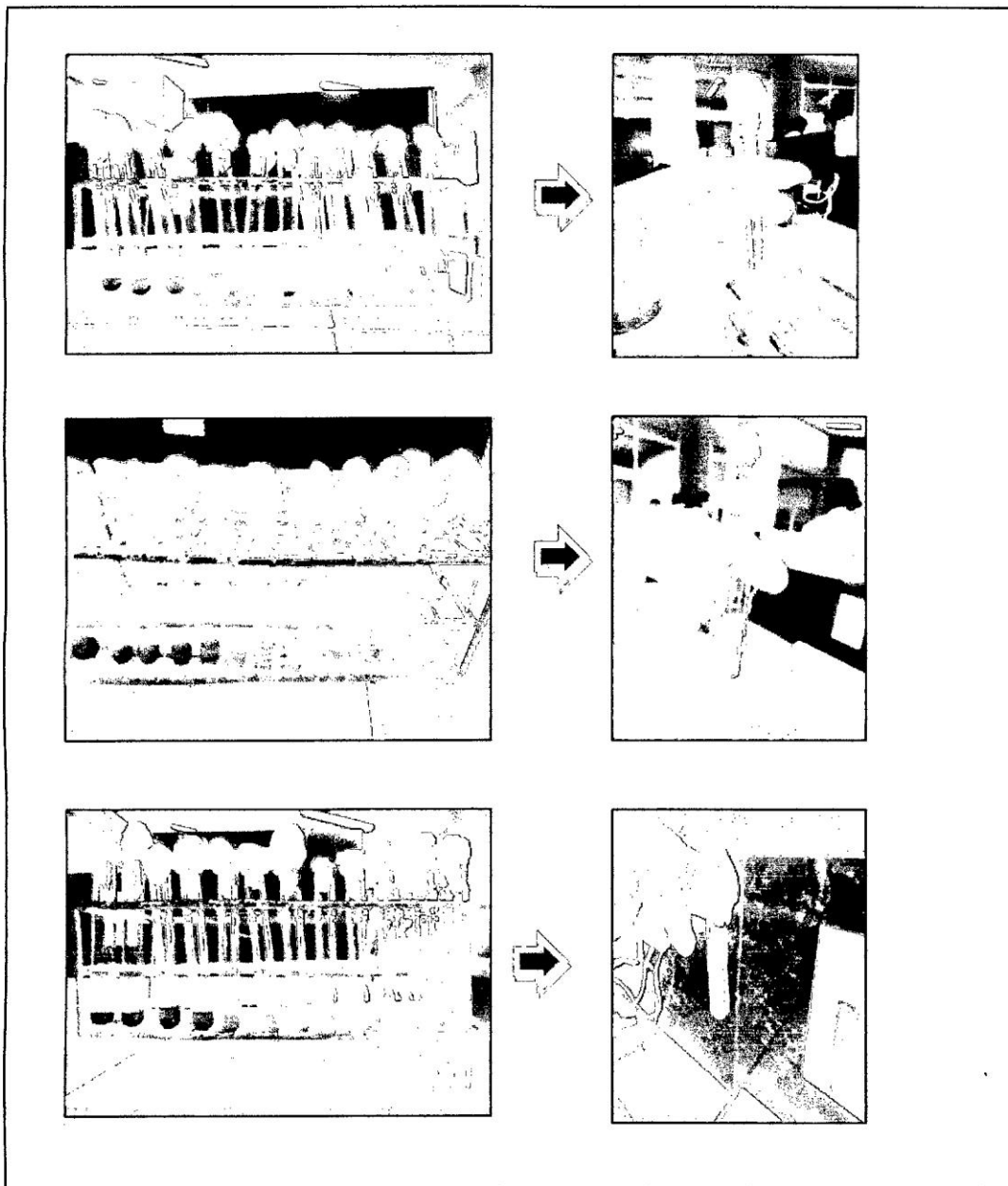
**Anexo 8.**

Halos de inhibición del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" en cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho 2013.



### Anexo 9.

Concentración mínima inhibitoria (CMI) y (CMF) del extracto etanólico de las flores de *Matricaria del chamonilla* "manzanilla" en cultivo de *trichophyton mentagrophytes*. Ayacucho 2013.



### Anexo 10

Análisis de varianza del promedio de los halos de inhibición en las diferentes cepas de hongos dermatofitos al 20% de concentración del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla*. Ayacucho 2013.

CV. 11%

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	77,860	4	19,465	17,000	,000
Intra-grupos	22,900	20	1,145		
Total	100,760	24			

### Anexo 11

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey, respecto al promedio de los halos de inhibición según la especie de hongos dermatofitos. Ayacucho-2013.

HSD de Tukey, CV. 11%

	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Trichophyton rubrum	5	17,9	
Trichophyton tonsurans	5	18,1	
Microsporum canis	5	18,8	
Terbinafina	5		21,0
Trichophyton mentagrophytes	5		22,4
Sig.		,677	,272

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.000.



## ANEXO 12

Análisis de varianza del halo de inhibición según la concentración del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" en cepas de hongos dermatofitos Ayacucho 2013.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter- grupos	7,702,742	3	2,567,581	54,411	,000
Intra- grupos	566,268	12	47,189		
Total	8,269,009	15			

ANEXO 13.

Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
Actividad antifúngica <i>in vitro</i> del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla" frente a Dermatofitos Ayacucho-2013.	¿Tendrá actividad antifúngica <i>in vitro</i> del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla" frente a Dermatofitos "?"	<p><b>Objetivo general</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Evaluar la actividad antifúngica <i>in vitro</i> del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla" frente a Dermatofitos.</li> </ul> <p><b>Objetivos específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla".</li> <li>•Determinar la concentración mínima inhibitoria y la concentración fungicida mínima del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla" en cultivos de: <i>Trichophyton mentagrophytes</i>, <i>Trichophyton rubrum</i>, <i>Trichophyton tonsurans</i> y <i>Microsporum canis</i>.</li> </ul>	El extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla" tiene actividad antifúngica sobre cepas de hongos dermatofitos.	<p><b>Variable independiente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•El extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla"</li> </ul> <p><b>Indicadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentraciones 5%, 10% y 20% del extracto etanólico de las flores de <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla"</li> </ul> <p><b>Variable dependiente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•sensibilidad antifúngica.</li> </ul> <p><b>Indicadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Halo de inhibicion</li> <li>•CMI y CMF</li> </ul>	<p><b>La <i>Matricaria chamonilla</i> "manzanilla"</b>, es una planta anual, herbácea, muy ramificada, que puede alcanzar los 60 cm de altura.El principal componente de la manzanilla es el aceite esencial que contiene como mínimo 0.4%. Su composición es muy compleja siendo sus elementos más importantes el camazuleno y el L-bisabolol, y a diferencia de otros aceites esenciales es de color azul. Otros componentes de la manzanilla son flavoglucósidos y la cumarina, aunque solo la conjugación de todos los elementos es la que produce el conocido efecto</p> <p><b>Propiedades medicinales.</b></p> <p>Posee una acción antibiótica, antimicrobiana (sobre todo frente al estafilococo) y antifúngica (cándida). Por vía oral se le atribuye propiedad anticatarral, antiemética, antiinflamatoria, aromática, calmante, caminativa, depurativa, diurética, emoliente, espasmolítica,</p> <p><b>Dermatofitos</b></p> <p>Son un grupo de hongos filamentosos taxonómicamente relacionados que tienen la capacidad de producir infecciones en la piel, el pelo y las uñas tanto del ser humano como de los animales</p> <p><b>Terbinafina</b></p> <p>Pertenece al grupo de las alilaminas, cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la enzima escualeno-epoxidasa, lo que impide la síntesis del lanosterol y hace que el escualeno se acumule. La cadena de la síntesis del ergosterol queda por tanto paralizada en un paso anterior al inhibido por los antifúngicos azólicos y este acúmulo del escualeno en el interior de la célula fúngica, parece ser el responsable de la actividad fungicida <i>in vitro</i> frente a los dermatofitos.</p>	<p><b>Tipo de investigación:</b> Básica – experimental.</p> <p><b>Muestra:</b> 500 mg de flores de manzanilla.</p> <p><b>Cepas de hongos dermatofitos:</b> <i>mentagrophytes</i>, <i>Trichophyton rubrum</i>, <i>Trichophyton tonsurans</i> y <i>Microsporum canis</i>.</p> <p><b>Determinación de la actividad antifúng</b></p> <p>La actividad antifúngica fue determinado mediante la técnica de difusión en agar, en la que se observa los halos de inhibición del extracto y el control para determinar si es sensible o resistente al tratamiento.</p> <p><b>Análisis estadístico</b></p> <p>Se evaluará la existencia de diferencias significativas de los diferentes tratamientos usando el análisis de varianza seguido de la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%.</p>

# Actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” frente a Dermatofitos. Ayacucho - 2013.

Diana Mercado Mancco<sup>1</sup> y Serapio Romero Gavilán.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga

## RESUMEN

La creciente incidencia, de las infecciones fúngicas, y el incremento de resistencia a los tratamientos convencionales, ha despertado el interés por mejorar el conocimiento que se tiene acerca de las micosis y las posibilidades de nuevas terapias, concentrándose en la prueba de sensibilidad *in vitro*. Por esta razón el objetivo general de éste estudio, es determinar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” frente a dermatofitos, desarrollado en los laboratorios de Farmacognosia y Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de agosto a diciembre del 2013. La muestra fue recolectada en el distrito de Luricocha provincia de Huanta de la región de Ayacucho. Al extracto etanólico de las flores, se le realizó el tamizaje fitoquímico. Los metabolitos presentes en el extracto etanólico fueron: flavonoides, triterpenos, esteroides, saponinas, fenoles, taninos, quinonas y catequinas.,

La actividad antifúngica se evaluó a concentraciones de 5%, 10%, y 20% mediante el método difusión en agar, la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por dilución en caldo y la Concentración Mínima Fungicida. Las cepas de hongos con las que se trabajó fueron: *Trichophyton mentharophytes*, *Microsporum canis*, *Trichophyton tonsurans*, y *Trichophyton rubrum*.

La concentración del 20% presentó mejor actividad antifúngica respecto a las demás concentraciones con halos de inhibición de *T. mentharophytes* 22,4 mm; *T. rubrum* 17,9 mm; *M. canis* 18,8 mm y *T. tonsurans* 18,1 mm respectivamente, superior a la Terbinafina que presentó 21 mm. El análisis estadístico mostró diferencias significativas en los diferentes tratamientos ( $p < 0,05$ ). La CMI y CMF fué 0,012 mg/mL y 0,024 mg/mL respectivamente.

**Palabras clave:** Actividad antifúngica, *Matricaria chaminilla* “manzanilla”, dermatofitos.

## SUMMARY

The increasing incidence of fungal infections, and increasing resistance to conventional treatments, has sparked interest in improving the knowledge we have about the fungal infection and the potential for new therapies, focusing on *in vitro* susceptibility testing. Therefore the overall objective of this study is to determine the *in vitro* antifungal activity of ethanol extract of the flowers of *Matricaria chamomilla* "manzanilla" against dermatophytes, developed in the laboratories of Pharmacognosy and Microbiology, School of Biological Sciences, University Nacional de San Cristobal de Guamanga during the months of August to December 2013. The sample was collected in the district of Luricocha Huanta of the Ayacucho region. When ethanol extract of flowers was performed phytochemical screening. The metabolites present in the ethanol extract were flavonoids, triterpenes, steroids, saponins, phenols, tannins, quinones and catechins.

The antifungal activity was evaluated at concentrations of 5%, 10% and 20% using the agar diffusion method, determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution and Minimum Fungicide Concentration. *Mentharophytes Trichophyton*, *Microsporum canis*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum*: Fungal strains with which they were worked.

The concentration of 20% showed better antifungal activity compared to other concentrations with inhibition halos *T. mentharophytes* 22,4mm; *T. rubrum* 17,9 mm; *M. canis* and *T. tonsurans* 18,8 mm 18,1 mm respectively, higher than that presented Terbinafine 21mm. Statistical analysis showed significant differences in the different treatments ( $p < 0,05$ ). The MIC and MFC was 0,012 mg / mL and 0,024 mg / mL respectively.

**Key words:** antifungal activity, *Matricaria chaminilla* "manzanilla" dermatophyte

## INTRODUCCIÓN

El afán por conocer y dar a conocer las bondades de las plantas medicinales, así como las diferentes afecciones que curan ha sido un tema tratado desde que la humanidad existe. Actualmente, los productos naturales gozan de amplia aceptación y reemplazan, cada vez más, a los productos sintéticos o materiales generados artificialmente.<sup>1</sup> *Matricaria chamomilla*, "manzanilla", es una planta originaria de Europa que fue traída durante la conquista; los principios activos se concentran en la flor de color blanco y/o amarillo y de olor muy agradable. Es una planta anual de 20 a 40 cm de alto.<sup>4</sup> Las hojas y flores contienen aceites esenciales (0,2-0,6%) compuesto por azuleno, camazuleno, bisabolol, cadineo, colina, cumarinas (hemiarin, umbeliferona), farneseno, furfural, sesquiterpeno, glucosidos y flavonoides.<sup>3</sup> Las hojas y flores son ampliamente usadas para tratar una gran diversidad de males, tales como afecciones gastrointestinales (diarrea, dispepsia, flatulencia, gastritis, indigestión), inflamación urinaria, amigdalitis, cefalea, convulsiones, gota, insomnio, antibacteriana, antimicóticas, antiespasmódica, etc.<sup>5</sup>

En la actualidad se están realizando numerosas investigaciones en la búsqueda de antifúngicos naturales, las plantas que han sido utilizadas desde épocas primitivas en el tratamiento de enfermedades, la mayoría de éstas presentan efectos fisiológicos múltiples, debido a la presencia de más de un metabolito secundario.<sup>2,43</sup>

Los dermatofitos son un grupo de hongos filamentosos que tienen la capacidad de producir infecciones en la piel, pelo y uñas tanto del ser humano como en los animales. Los dermatofitos son hongos queratinolíticos porque tienen la capacidad de degradar y utilizar la queratina como sustrato, producir infecciones a nivel del estrato córneo de la piel denominadas dermatofitosis comúnmente conocidas como *Tiñas*.<sup>6</sup>

Debido a que la micosis se le denomina como las distintas afecciones producidas por hongos los cuales ocasionan enfermedades tales como la candidiasis, *tiña*, el pie de atleta, etc. donde tiende a aumentar, y ocasionar infecciones desagradables, muchas veces resisten al tratamiento.

Por esta razón se propone en este estudio evaluar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" frente a

dermatofitos, mediante la técnica de difusión en agar, utilizando Terbinafina como antifúngico, que permita hacer la comparación de los resultados al final del estudio, para establecer si existe o no la actividad antifúngica del extracto etanólico de la manzanilla.

Mientras que, para determinar exactamente las concentraciones a las cuales ejerce el efecto fungistático y fungicida, el método de dilución en caldo es el más apropiado, realizándose diluciones sucesivas hasta inhibir la formación de turbidez que indica crecimiento del microorganismo. Estos métodos fueron aplicados en la presente investigación, obteniendo resultados interesantes.

La presente investigación pretende aportar, una alternativa del tratamiento antimicótico debido a que los hongos van adquiriendo resistencia contra los medicamentos antimicóticos sintéticos porque éstos poseen tratamientos prolongados, con un elevado costo económico y ocasionan como efecto secundario hepatotoxicidad, por lo cual se hace necesario el desarrollo de nuevos fármacos más eficaces, mediante el descubrimiento de moléculas bioactivas, que pueden ser aisladas de fuentes naturales, principalmente de especies vegetales.<sup>3</sup> Por lo que se plantearon los siguientes objetivos.

**Objetivo general:**

Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" frente a dermatofitos.

**Objetivos específicos:**

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla".
- Determinar la concentración mínima inhibitoria y la concentración fungicida mínima del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" en cultivos de: *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans* y *Microsporum canis*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación, se desarrolló en el laboratorio de Farmacognosia del Área de Farmacia y en los laboratorios de Microbiología sección de Micología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de agosto a diciembre del 2013.

### Materiales

#### Muestra vegetal

500 g de flores de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”, del distrito de Luricocha a una altitud de 2 580 m.s.n.m. perteneciente a la provincia de Huanta, de la región de Ayacucho.

#### Muestra biológica

Se utilizaron cuatro cepas de hongos dermatofitos: *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans* y *Microsporum canis*, existentes en el laboratorio de Microbiología, los cuales fueron sometidos a su rejuvenecimiento para luego realizar los ensayos antifúngico.

**Diseño metodológico:** Básico-experimental.

**Procedimiento metodológico para la recolección de datos.**

#### Recolección, selección y secado de la muestra

*Matricaria chamomilla* “manzanilla”, fue recolectada en el Distrito de Luricocha Provincia de Huanta, Departamento de Ayacucho; Se recolectó la planta entera (hojas, tallo, flores), en buen estado de conservación y que hayan alcanzado un buen desarrollo biológico.

En la identificación botánica se emplearon las hojas, flores y raíz de la muestra. La cual estuvo a cargo de los especialistas del *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH.

Las hojas, tallos y flores de la especie vegetal en estudio fueron sometidos a un tratamiento de limpieza y selección para eliminar todo elemento extraño. Luego serán separadas las flores y secadas bajo sombra, extendiéndolas apropiadamente durante 14 días. Las flores se molieron utilizando un mortero de porcelana; obteniéndose un polvo fino y seco.

#### Preparación del extracto etanólico

Se utilizó 500g de flores secas, el material molido se llevó a maceración en un frasco limpio y seco durante dos semanas con 2 litros de etanol al 96%, agitando vigorosamente a diario. Posteriormente se

realizó el filtrado del macerado a través del filtro al vacío utilizando papel Whatman N° 40, finalmente se procedió a la evaporación a sequedad en un rotavapor rotatorio BUCHI 3000, y en una estufa 40°C.

#### Tamizaje fitoquímico

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo los procedimientos propuestos por Miranda y Cuellar.<sup>40, 41</sup>

#### Fármaco de referencia

Diez tabletas Terbinafina de 250 mg, fabricado por Laboratorios Labogen S.A.C., N° de lote 107512.

#### Activación de los hongos dermatofitos

Se conservaron cepas de hongos dermatofitos debidamente identificadas y clasificadas. La reactivación se realizó a partir de las cepas originales, se procedió a repicar en agar Sabouraud contenido en viales, y se dejó incubar a temperatura de 30°C por 7 días.

#### Preparación del inóculo

Se procedió a seleccionar las colonias de hongos dermatofitos crecidos en agar Sabouraud glucosado, las que se transfirieron esporas a un tubo con 5mL de caldo Sabouraud, se dejó incubar por 48 horas. Para obtener una turbidez ópticamente similar al estándar 0,5 de la escala Mc Farland, se ajustó con caldo sabouraud.<sup>34, 39</sup>

#### Determinación de la actividad antifúngica

**Fundamento:** La metodología que se empleó para la determinación de la actividad antifúngica se basa en el método de “difusión en agar”. Se basa en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la difusión de las sustancias activas en un medio solido lo que evidencia con la formación de los halos de inhibición; de forma que cuando más susceptible sea el hongo frente a los tratamientos, más amplia será la zona de crecimiento inhibido.<sup>39, 46</sup>

#### Procedimiento:

- El medio Agar Sabouraud Glucosado (ASG), previamente reconstituido, esterilizado y enfriado, se agregó cloranfenicol, para evitar el crecimiento de bacterias previo al plaqueo.
- Se añadió 20 mL de medio de cultivo por cada placa Petri de vidrio estéril.
- Una vez solidificado, Se hicieron pozos con la ayuda de un sacabocado de acero de 11 mm de diámetro externo, en cada placa se hizo 3 pozos equidistantes.<sup>34</sup>

- Se inoculó las diferentes cepas de los hongos dermatofitos, se sembró por agotamiento en toda la superficie, usando un hisopo estéril, las diferentes suspensiones de esporas se inoculó haciendo un extendido en toda la superficie del medio de cada placa, y se dejó secar por 5 minutos.
- Se agregó 1mL de los extractos a concentraciones de 5%, 10%, y 20% en los pozos, se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente y se llevó a incubar a 30°C de 7 a 14.

#### Tratamientos

- Grupo I: Tratado con extracto al 5% de la concentración.
- Grupo II: Tratado con extracto al 10% de la concentración.
- Grupo III: Tratado con extracto al 20% de la concentración
- Grupo IV: control positivo tratado con Terbinafina.

#### Lectura e interpretación de los resultados

Se observó las zonas de inhibición (halos) y se mide los diámetros en milímetros (mm). Se considera que tiene una actividad antifúngica significativa a un halo de inhibición mayor a 18 mm.<sup>36</sup>

Para el cálculo del porcentaje de inhibición se usó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Diámetro del halo de inhibición de la muestra}}{\text{Diámetro del halo de inhibición del control}} \times 100$$

#### Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se colocó 2 mL del extracto en el primer tubo de la serie de diluciones. En cada uno de los tubos restantes se añadió 1 mL de caldo nutritivo. Con una pipeta estéril se transfirió 1 mL del primer tubo al segundo. Después de mezclar el contenido del segundo tubo, se transfirió 1 mL con una pipeta diferente (en esta transferencia y en todas las sucesivas) al tercer tubo. El proceso continúa hasta el penúltimo tubo, al que se le quita 1 mL, que se descarta. El último tubo no recibe el extracto y sirve de control de crecimiento. Las concentraciones finales del extracto en esta prueba son iguales a la mitad de la serie inicial de dilución, debido al agregado de una concentración igual de inóculo en el caldo. Se prepara el inóculo de *Trichophyton mentagrophytes* que contenga 105 a 106

UFC/mL ajustando la turbidez de un caldo de cultivo al estándar y diluyendo en caldo. Añadir a cada tubo 1 mL del inóculo ajustado. Incubar los tubos a 35°C entre 3 a 7 días.

#### Lectura de los resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) e interpretación de resultados

Se observó el crecimiento del hongo mediante la aparición de turbidez en el medio, o mediante cambio de coloración. Por lo que el punto final de la CMI, se definió a simple vista por la falta de turbidez (crecimiento del hongo) en el caldo, para ello se comparará el tubo con el control de crecimiento. La concentración mínima inhibitoria (CMI) es la menor concentración de antimicótico capaz de inhibir el crecimiento, anotando la concentración del tubo.

#### Determinación de la Concentración Mínima Fungicida (CMF)

Para determinar la Concentración Mínima Fungicida (CMF) se determinó a partir de la Concentración Mínima Inhibitoria de la siguiente manera:

##### Procedimiento

- Una vez observado la turbidez (crecimiento del hongo) a simple vista, al determinar la CMI; se procedió a sembrar, los caldos no turbios (no hay crecimiento del hongo) en las placas con agar Sabouraud,
- Posteriormente se incubó a 30°C por 4 a 7 días.

#### Análisis de Datos

Los resultados se presentaron comparativamente en cuadros y gráficos estadísticos y fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) que permitió determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas. Las diferencias intergrupos se analizaron por la prueba de Tukey, para el estudio se utilizó un nivel de confianza  $p < 0,05$ ; el software estadístico SPSS versión 20,0.

## RESULTADOS

Tabla 1. Metabolito secundarios presentes en el extracto etanolico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla". Ayacucho-2013.

Metabolito	Resultado	Observación
Dragendorff	Alcaloides	Precipitado
Bajfet	Lectinas y/o cumarinas	Rojo
Shinoda	Flavonoides	Rojo
Bomtrager	Quinonas	Rojo
Espuma	Saponinas	Espuma
Cloruro férrico	Taninos y/o fenoles	Verde-azulado
Catequinas	Catequinas	Verde Fluorescente
Ninhidrina	Aminoácidos	Violeta
Liebermann-Burchard	Triterpenos y/o esteroides	Verde oscuro

Leyenda :  
 (+++) : Abundante  
 (++) : Moderado  
 (-) : Leve

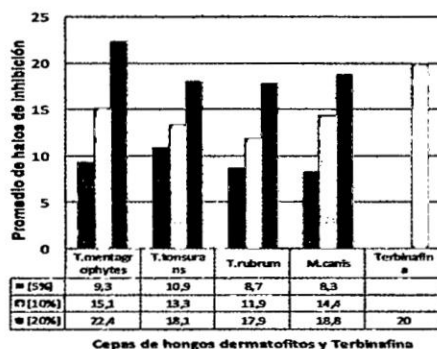


Figura 6. Valores promedio de los halos de inhibición (mm) del extracto etanolico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" de concentraciones: 5%, 10% y 20% sobre cepas de hongos dermatofitos con relación a la terbinafina. Ayacucho 2013.

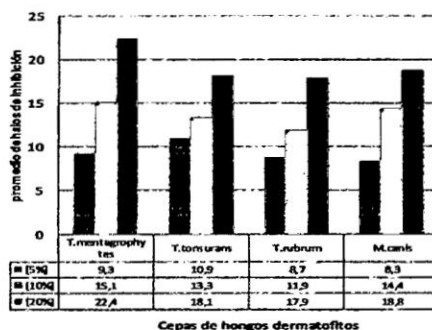


Figura 7. Porcentaje de los halos de inhibición (mm) del extracto etanolico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" de concentraciones: 5%, 10%

y 20% sobre cepas de hongos dermatofitos. Ayacucho 2013.

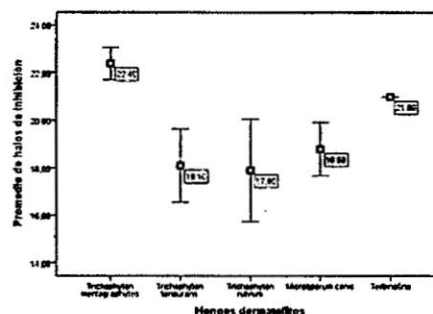


Figura 8. Promedio de halo de inhibición según tipos de cepas de hongos dermatofitos al 20% de la concentración del extracto. Ayacucho-2013.

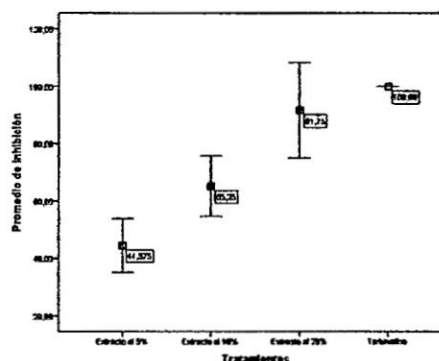


Figura 9. Prueba de comparaciones multiples de Tukey del promedio de los halos de inhibición según la concentración del extracto y el control. Ayacucho-2013.

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima fungicida del extracto etanolico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla". Ayacucho-2013.

Tubos	5%	10%	20%
1	6250 S	12,5 S	25 S
2	3125 S	6,25 S	12,5 S
3	1563 S	3,125 S	6,25 S
4	0,782 S	1,563 S	3,125 S
5	0,391 S	0,781 S	1563 S
6	0,195 S	0,391 S	0,781 S
7	0,098 S	0,195 S	0,391 S
8	0,049 S	0,098 S	0,195 S
9	0,024 S(CMF)	0,049 S	0,098 S
10	0,012 R(CM)	0,024 S(CMF)	0,049 S
11	0,006 R	0,012 R(CM)	0,024 S(CMF)
12	0,003 R	0,006 R	0,012 R(CM)
13	0,0015 R	0,003 R	0,006 R
14	0,0008 R	0,0015 R	0,003 R

## DISCUSIÓN

La incuestionable necesidad de utilizar productos naturales en el tratamiento de

diferentes enfermedades, constituyen en la actualidad un desafío en la medicina y se ofrece como una alternativa, especialmente en aquellas enfermedades en la que no existe un tratamiento adecuado y un periodo de tratamiento largo. Sin duda el reino vegetal es el que ofrece mayor diversidad de sustancias.<sup>7</sup>

Los compuestos derivados de plantas son de interés en este contexto porque ellos comprenden sustitutos más seguros o más eficaces que los agentes antimicrobianos producidos sintéticamente, los cuales podrían servir como buenos candidatos para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos (antifúngicos en particular) que aporten ventajas apreciables respecto a los actuales fármacos; debido a que globalmente las plantas producen más de 100000 productos naturales de bajo peso molecular, también conocido como metabolitos secundarios.<sup>3</sup>

El papel cada vez más importante de los hongos dentro de las enfermedades infecciosas humanas, ha ejercido una fuerte influencia sobre la investigación y el desarrollo de nuevos y variados fármacos, con un mayor espectro de acción y menor toxicidad que los actuales. El aumento de las infecciones por hongos, unida a la resistencia que han empezado a tener estos agentes a los antimicóticos, han llevado a una constante búsqueda de alternativas terapéuticas eficaces que puedan brindar más y mejores opciones en las farmacopeas actuales.<sup>25,34</sup>

En la presente investigación se buscó determinar si el extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" tiene actividad antifúngica *in vitro* sobre hongos dermatofitos, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans* y *Microsporum canis*, lo cual quedo demostrado, la existencia de un efecto antifúngico según los resultados obtenidos; además se encontró diferencia significativa con respecto al tamaño del halo de inhibición de las distintas concentración del extracto de las flores de "manzanilla" que fueron utilizados.

La *Matricaria chamomilla* "manzanilla" es una de las plantas medicinales más utilizadas en la medicina popular, el extracto acuoso de la "manzanilla" ha sido utilizado para curar varias dolencias, como insomnio, ansiedad, disturbios gastrointestinales, úlceras, entre otros.<sup>43</sup> Más de 100 metabolitos están

mencionados como componentes de la planta, los estudios farmacológicos muestran que el bisabolol, sesquiterpeno presente en su composición, tiene acción antiinflamatoria, previene el desenvolvimiento de úlceras gástricas, propiedades antibacterianas y antifúngicas.<sup>4</sup>

Alta concentración de alfa-bisabolol presente en el aceite de "manzanilla" parece estar relacionada con sus actividades farmacológicas, presentando actividad antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria y antiulcerosa.<sup>15</sup>

Al analizar los resultados del tamizaje fitoquímico, se observan los diferentes metabolitos secundarios presentes en el extracto de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" (Tabla 2). Este estudio comprendió un conjunto de ensayos y técnicas sencillas, que aunque no brindan los resultados concluyentes, debido a diversos factores influyentes, si nos dan una idea general sobre su composición química de la planta. Destacando la presencia de: lactonas, cumarinas, triterpenos, esteroides, fenoles, flavonoides, quinonas, azúcares reductores, antocianinas, saponinas antocianinas y catequinas; corroborados por Cruz<sup>3</sup>, resultados que nos hacen suponer que estos metabolitos secundarios ya sean de manera independiente o posiblemente al efecto sinérgico entre ellos, son los responsables de la actividad antifúngica a través de diferentes mecanismos.<sup>3</sup>

En la Figura 6. Se observa los extractos de concentraciones 5%, 10% y 20%, muestran promedios de halos de inhibición crecientes según la concentración del extracto, mostrando mejor sensibilidad a los hongos dermatofitos la concentración de 20%, siendo estos promedios: *Trichophyton mentagrophytes* 22,4 mm, *Trichophyton tonsurans* 18,1 mm, *Trichophyton rubrum* 17,9 mm y *Microsporum canis* 18,8 mm respectivamente, siendo valores menores a la terbinafina a excepción de *Trichophyton mentagrophytes* que muestra un promedio de 22,4 mm que es ligeramente superior que el control positivo que tiene un promedio de halo de inhibición de 21 mm, habiendo diferencia entre los tratamientos ensayados ( $p < 0,05$ ) a un nivel de confianza del 95% (Anexo 10); Se realizó las comparaciones múltiples de las medias de los halos de inhibición con la prueba de Turkey (Anexo 11), basado en el grado de parecido existente entre sus medias, *Trichophyton tonsurans*; *Trichophyton rubrum* y *Microsporum canis*



tienen similitud en el promedio de las medias, mientras que el *Trichophyton mentagrophytes* tiene similitud en el promedio que la Terbinafina.

Estos resultados permiten comparar la diferencia existente entre géneros y especies de dermatofitos basados en las características macroscópicas de las colonias y en la morfología microscópica.

Los resultados obtenidos tienen similitud por lo reportado por Limachi<sup>10</sup> que reporta, en su trabajo valores promedios de halos de inhibición que permiten una comparación múltiple de cepas de hongos dermatofitos, indicando así que existe diferencia significativa en cuanto al tamaño del halo de inhibición entre cada cepa de hongo siendo el *Microsporum gypseum* el que produce mayor halo de inhibición 22,22 mm seguido por el *Microsporum canis* con un promedio de 19,61 mm, y el *Trichophyton mentagrophytes* con 19,39 mm.

Costo<sup>7</sup>, contrariamente reporta el efecto inhibitorio de la infusión de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” sobre el crecimiento de microorganismos cariogénicos, *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans in vitro*; demostró que la concentración al 5% estimula el crecimiento del *Streptococcus mutans* e inhibe el crecimiento del *Lactobacillus acidophilus*, la concentración al 10% obtuvo mayor efecto inhibitorio para los dos microorganismos estudiados, la concentración al 20% tuvo menor efecto inhibitorio que la concentración al 10%.<sup>7</sup> Estos resultados se pueden deber al tipo de extracción, ya que la manzanilla tiene aceites esenciales y el extracto etanólico arrastra mayor cantidad de metabolitos secundarios en comparación con la infusión de la planta.<sup>44</sup>

En la Figura 7. Los porcentajes de inhibición de las concentraciones 5%, 10% y 20% fueron 44,3% para la concentración 5% del extracto, 72% para la concentración 10% del extracto, y 107% para la concentración del 20% del extracto, esta última concentración muestra un mayor porcentaje de inhibición en cepas de *Trichophyton mentagrophytes* respecto a la terbinafina. Al realizar el análisis de varianza (Anexo 12), presenta un valor estadísticamente significativa entre los tratamientos con una ( $p < 0,05$ ) a un nivel de confianza del 95%; donde los tratamientos difieren significativamente, es decir no tienen el mismo comportamiento inhibitorio.

Estos resultados tienen similitud en cuanto al trabajo realizado por Gómez<sup>45</sup>, en la que reporta que los geles de extracto hidroalcohólico de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” de las concentraciones 15% y 20% no presentaron actividad antimicótica, mientras que para el 25% del gel presentó efecto antimicótico, ya que desaparecieron las manifestaciones clínicas mostrados por los cobayos. Concluye que tiene actividad antimicótica para el dermatofito evaluado “*Trichophyton mentagrophytes*”.<sup>45</sup>

Así mismo los resultados anteriores también contrastan con los reportes de Cruz<sup>3</sup>, donde reporta que el extracto fluido de “manzanilla, “matico” y “marco” al 25%, gel fluido, mostraron actividad antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231.<sup>3</sup>

Por otro lado Colella<sup>38</sup>, reporta la inhibición del crecimiento de los dermatofitos expuestos al aceite esencial, a concentraciones 2,5 a 80  $\mu\text{g/mL}$  en el intervalo de 3,24 a 68,15% para *Microsporum gypseum*, 24,48 a 100% para *M. canis*, 11,40 a 96,65% para *Trichophyton mentagrophytes*, 27,79 a 100% para *T. rubrum* y 45,73 a 100% para *T. tonsurans*.<sup>38</sup>

Lo cual demuestra que existe una mejor respuesta al tratamiento, usando el aceite esencial y no el extracto hidroalcohólico. Son fungistáticos a bajas concentraciones mientras que a concentraciones más elevadas se comportan como fungicidas por acción directa sobre la membrana celular del hongo.<sup>38</sup>

En cuanto al fármaco utilizado, se pudo demostrar que la Terbinafina utilizada como el control, tiene una buena sensibilidad a los dermatofitos, menciona que la mayor sensibilidad *in vitro* alcanzada por los dermatofitos fue la Terbinafina, seguida por la Griseofulvina e Itraconazol.<sup>38</sup> La Terbinafina es un medicamento considerado como una excelente herramienta contra los dermatofitos tanto por su sensibilidad *in vitro* como por la respuesta clínica demostrada. El estudio de Ghannoum *et al* reportó un rango  $< 0,001 - 0,004 \mu\text{g/mL}$  (media de 0,012 y  $\text{MIC}_{90}$ : 0,002  $\mu\text{g/mL}$ )<sup>35</sup>

La concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Fungicida (CMF), realizado mediante el método de dilución en caldo, fue demostrada a concentraciones de 5%, 10% y 20%, presentando 0,012 mg/ml y 0,024 mg/ml respectivamente (Tabla 3).

El tratamiento de las infecciones causadas por dermatofitos ha ido evolucionando en las

últimas décadas. Ello se debe, no sólo a la aparición de posibles resistencias frente a alguno de los antifúngicos ya conocidos. El cual conllevaría secundariamente al aumento en la incidencia de estas infecciones; Amoldo<sup>9</sup> *et al* realizaron la investigación de la solución de manzanilla sobre candidiasis genital, determinaron que los componentes más importantes de la manzanilla son la camazuleno, el  $\alpha$ -bisabolol y los óxidos de bisabolol, los *cis*- y *trans* éteres así como los derivados de la flavona y cumarina. El  $\alpha$ -bisabolol actúa como fungicida en una concentración de 1000  $\mu\text{g/mL}$  después de un contacto de treinta minutos mientras que los éteres en la misma concentración empiezan a actuar después de un contacto de cuarenta más graves y con manifestaciones clínicas atípicas en pacientes sometidos a alguna inmunodepresión. Para estos casos es necesario el empleo de antifúngicos más potentes. La Terbinafina ha demostrado una excelente actividad en aquellos procesos en los que por su gravedad necesitaron ser tratados de forma más agresiva. Sin embargo, pocos son los estudios en los que se ha probado su actividad *in vitro* frente a hongos dermatofitos.<sup>43</sup>

Actualmente, no existe método estandarizado para determinar la sensibilidad antifúngica frente dermatofitos. En nuestro estudio la técnica de los pozos de difusión, una técnica similar a la de los discos de difusión, la cual permite utilizar los antifúngicos a evaluar en su presentación comercial, mostró ser una posible opción adicional. Sin embargo, se requieren más estudios en los cuales se utilice los mismos parámetros que se usaron en este trabajo, el cual fue un ensayo, para determinar si realmente esta es una técnica efectiva para realizar la susceptibilidad antifúngica de los dermatofitos. Además, se necesitan estudios de correlación "*in vitro*" e "*in vivo*", indispensables para la predicción de la respuesta clínica ante un tratamiento.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Trejos E, Evaluación de parámetros para pruebas de susceptibilidad antifúngica en hongos filamentosos mediante la técnica de difusión en agar.[Tesis pregrado]. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá; 2009.
2. Riofrío J. Aislamiento, caracterización y actividad antifúngica de metabolitos secundarios a partir de *Piper carpunya Ruiz & Pav.*[Tesis pregrado]. Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador; 2012.
3. Cruz P. Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de "manzanilla" *Matricaria camomilla*, "matico" *Aristiguetia glutinosa* y "marco" *Ambrosia arborescens* para Neo-Fármaco. [Tesis pregrado]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador; 2009.
4. Hall V, Rocha M, Rodríguez E. Plantas medicinales volumen II. Centro Nacional de información de Medicamentos. Universidad de Costa Rica. Mayo; 2002. <http://sibdi.ucr.ac.cr/boletinespdf/cimed27.pdf>. [Online] [www.google.com/search?q=Plantas+Medicinales+Volumen+II&oeq=Plantas+Medicinales+Volumen+II&aqs=chrome.69i57j0.1945j0j7&sourceid=chrome&es\\_sm=93&ie=UTF-8](http://www.google.com/search?q=Plantas+Medicinales+Volumen+II&oeq=Plantas+Medicinales+Volumen+II&aqs=chrome.69i57j0.1945j0j7&sourceid=chrome&es_sm=93&ie=UTF-8).
5. Medicina alternativa. Monografía de *Matricaria chamomilla*. [Revista]. Volumen 13. Número 1; 2008.
6. Fernández B. Sensibilidad antifúngica de los dermatofitos. [Tesis Doctoral]. Universidad Rovira i Virgili. Facultad de medicina y ciencias de la salud. Reus – España; 2005.
7. Costo J. Actividad inhibitoria del crecimiento de *Streptococcus mutans* y de la flora mixta salival por acción del aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* "manzanilla". [Tesis pregrado]. Lima – Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima; 2010.
8. Viveros J, Castaño J. Evaluación *in vitro* de extractos vegetales sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. [Revista online]. 2006 [acceso 2013 Setiembre.15]. Disponible: [http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia14-1\\_5.pdf](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia14-1_5.pdf)
9. Amoldo Z, Alvarado F, Salmerón B. Acción de la solución de manzanilla sobre la candidiasis genital. [Revista]. Revmedpostunah. Vol 4. N° 3. Setiembre - Diciembre; 1999.
10. Limachi C. Actividad antimicótica de los extractos de *Allium sativum* L. "ajo" frente a los dermatofitos. Ayacucho 2003. [tesis pregrado]. Huamanga: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho; 2003.

11. Tueros R. Efecto antimicótico de *Euphorbia peplus* "leche leche" frente a cepas de hongos dermatofitos. [tesis pregrado]. Huamanga. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho; 2005.
12. Ruiz J. Actividad antifúngica in vitro y Concentración mínima inhibitoria mediante microdilución de ocho plantas medicinales. [tesis.pregrado] Lima- Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima; 2013.
13. Ryman D. Aromaterapia, enciclopedia de las plantas aromáticas y de sus aceites esenciales. in biblioteca de salud Kairós; 1994; España. p. 147-150.
14. Medicamentos herbarios tradicionales. *Matricaria recutita* L [Manual], red de protección social. Gobierno de Chile. Ministerio de salud.
15. Cárdenas G. Optimización del proceso de secado de la manzanilla "*Matricaria chamomilla*" y del toronjil "*Melissa officinalis*" con la unión de comunidades indígenas y campesinas de Juan Montalvo (UCICJUM)". [Tesis pregrado]. Ecuador: Escuela politecnica nacional, Quito; 2009.
16. Flores Y. Evaluación de la eficacia de un producto en el tratamiento de neoplasias. [Tesis de pregrado]. México, D.F. Instituto Politécnico Nacional – Escuela Superior de Medicina. Diciembre 2009.
17. Meneses J. Optimización del proceso de extracción de flavonoides de la flor de "manzanilla" *Matricaria chamomilla*. *Agrociencia* 2008.42 (425).
18. Sánchez L, Matos R y Kumakawa H. Infecciones micóticas superficiales. [Revista] 2009. Volumen 19 (3).
19. Ospina D. Actividad antifúngica del extracto crudo de *Azadirachta indica* A. Juss. de suspensión de células sobre hongos dermatofitos causantes de enfermedades patógenas al hombre. [tesis de pregrado] Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias. Medellín – Colombia. 2012.
20. Sarmiento C, Trujillo Estandarización e implementación de las técnicas en el diagnóstico clínico de micosis cutáneas en el laboratorio de Micología de la Pontificia Universidad Javeriana.[Tesis

de pregrado].Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá Dc. Julio 2006.