

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**EFFECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA
SEMILLA DE *Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE
Trichophyton rubrum, IN VITRO**

**Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y
Bioquímico**

TESISTAS:

Bach. Mayte Canaza Larico

Bach. Mariela Misaray Montes

ASESOR:

Mg.Q.F. Chire Murillo Epifanio

LIMA - PERÚ

2 0 1 8

TÍTULO:

“EFECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Trichophyton rubrum*, IN VITRO.”

DEDICATORIAS

Este trabajo dedico a Dios por darme la vida, por mantenerme bien de salud y por darme las fuerzas necesarias para seguir avanzando con mis objetivos trazados y así cumplir satisfactoriamente todo lo que me propongo.

A mis padres Antonio y Aurea, por el apoyo incondicional que me brindaron en toda mi carrera profesional, por ser mis mayores motivos para que día a día pueda ser mejor persona y mejor profesional.

También a mis hermanos(as), por todo el apoyo que recibí de cada uno de ustedes durante el trayecto de mi carrera, por sus buenos consejos y enseñanzas, por brindarme cariño y brindarme las mejores épocas de mi vida.

Mariela

En primer lugar agradezco a Dios por darme las fuerzas necesarias para poder así culminar este proyecto.

A mis padres Juana e Ignacio que siempre me brindaron su apoyo incondicional ya que son el motivo para seguir creciendo profesionalmente y esforzarme diariamente.

También agradezco a mi hermana Laura por sus palabras y compañía durante estos años de carrera universitaria y a mi novio David por sus consejos, paciencia y amor.

Mayte

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por darnos la oportunidad para desarrollar nuestras capacidades y habilidades, adquirir nuevos conocimientos, formarnos profesionalmente y también como personas; también agradecer a todos los profesores de la Facultad de Farmacia y Bioquímica que durante nuestra vida estudiantil supieron brindarnos sus sabios consejos y conocimientos.

A nuestro asesor de Tesis Mg. Q.F. Teófilo Chire Murillo, por su valioso apoyo incondicional, paciencia, orientación y amabilidad; por compartir sus experiencias para elaborar y culminar la presente investigación.

A todos nuestros amigos y futuros colegas por su amistad, y por acompañarnos durante toda la carrera profesional, muchas gracias.

Mariela y Mayte

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se determinó el efecto antifúngico del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Trichophyton rubrum*. Se determinaron los compuestos químicos mediante la marcha fitoquímica y se encontraron: taninos, compuestos fenólicos, saponinas, azúcares reductores y lactonas. El efecto antifúngico se evaluó mediante la prueba de susceptibilidad usando el método de difusión en discos. Se realizó 3 repeticiones para cada tratamiento (extracto etanólico de semilla de palta a diferentes concentraciones y para el grupo control se usó terbinafina 0,3 mg/mL). Las cepas de *Trichophyton rubrum* (1×10^8 ufc/mL) fueron sembradas en placas que contenían el medio de cultivo de Agar Sabouraud con la ayuda de una espátula Drigalsky. Se colocaron discos a diferentes concentraciones del extracto etanólico de semillas de palta, luego las placas se incubaron a 25°C, midiéndose los halos de inhibición con un vernier digital después de 7 días. Los promedios de halo de inhibición fueron: 29.43, 25.02 y 23.63 mm, correspondientes a las concentraciones de 100%, 50% y 20 % respectivamente. El análisis de los datos se realizó en los programas Microsoft EXCEL y SPSS ver.22 para Windows. Mediante el Análisis de Varianza (ANOVA), se comprobó que existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de cada uno de ellos, ($P < 0.05$). Se acepta la hipótesis alternativa, es decir, existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. El extracto etanólico al 100% es la concentración que presenta mayor efecto antifúngico. Además, el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* en sus diferentes concentraciones presenta efecto antifúngico "in vitro" sobre *Trichopyton rubrum*.

Palabras clave: *Persea americana*, *Trichopyton rubrum*, Antifúngico, Agar Sabouraud.

ABSTRACT

In the present research work, the antifungal effect of the ethanolic extract of the *Persea americana* seed (avocado) on *Trichophyton rubrum* strains was determined. The chemical compounds were determined by the phytochemical march and were found: tannins, phenolic compounds, saponins, reducing sugars and lactones. The antifungal effect was evaluated by the susceptibility test using the disc diffusion method. Three replications were made for each treatment (ethanolic extract of avocado seed at different concentrations and for the control group, terbinafine 0.3 mg / mL was used). The strains of *Trichophyton rubrum* (1×10^8 cfu / mL) were seeded on plates containing the Sabouraud Agar culture medium with the aid of a Drigalsky spatula. Disks were placed at different concentrations of the ethanolic extract of avocado seeds, then the plates were incubated at 25 ° C, the inhibition halos were measured with a digital vernier after 7 days. The inhibition Halo averages were: 29.43, 25.02, 23.63 mm, corresponding to the concentrations of 100%, 50% and 20% respectively. The analysis of the data was carried out in the Microsoft EXCEL and SPSS ver.22. Through the analysis of variance (ANOVA), et was found that there are significant differences between the treatments applied, comparing the mean of each of them ($P < 0.05$). The alternative hypothesis is accepted, that is, there are significant differences between the treatments applied. The ethanolic extract at 100% is the concentration that has the greatest antifungal effect. In addition, the ethanolic extract of the *Persea americana* seed in its different concentrations has a antifungal effect in vitro on *Trichopyton rubrum*.

Key words: *Persea americana*, *Trichopyton rubrum*, Antifungal, Agar Sabouraud.

Índice

Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice de tablas	
Índice de figuras	
Índice de anexos	
Resumen	
Abstrac	
Introducción.....	1
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	2
1.2 Formulación del problema.....	3
1.2.1 Problema general.....	3
1.2.2 Problema específicos.....	3
1.3 Objetivos de la investigación.....	4
1.3.1 Objetivo General.....	4
1.3.2 Objetivos Específicos.....	4
1.4 Justificación.....	5
1.5 Limitaciones de la investigación.....	6
CAPITULO II : MARCO TEÓRICO.....	7
2.1 Antecedentes.....	7
2.1.1 Antecedentes nacionales.....	7

2.1.2 Antecedentes internacionales.....	9
2.2. Bases teóricas.....	10
2.3 Formulación de hipótesis.....	29
2.4 Variables.....	29
2.5 Definición de términos básicos.....	31
CAPITULO III: METODOLOGÍA.....	33
3.1 Tipo y Diseño de investigación	33
3.2 Población y muestra.....	34
3.3 Equipos, materiales y reactivos.....	35
3.4 Procedimiento experimental.....	37
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
4.1 Presentación de resultados	42
4.2 Discusión de resultados	50
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	52
5.1 Conclusiones.....	52
5.2 Recomendaciones.....	52
Referencias Bibliográficas.....	53
Anexos.....	59

INDICE DE TABLAS

Tabla N°1: Acciones y usos de los taninos.....	18
Tabla N°2: Infecciones micóticas principales y microorganismos causales.....	21
Tabla N°3: Algunas características clínicas por dermatofitos.....	23
Tabla N°4: Algunas infecciones frecuentes por hongos y su sensibilidad frente a los distintos antimicóticos.....	25
Tabla N°5: Variables e indicadores.....	30
Tabla N°6: Análisis fitoquímico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta).....	42
Tabla N°7: Análisis microbiológico de la semilla de <i>Persea americana</i>	44
Tabla N°8: Estadística Descriptiva para los halos obtenidos de cada tratamiento Aplicado	45
Tabla N°9 : Prueba de homogeneidad de varianzas	46
Tabla N°10: ANOVA de un factor.....	47
Tabla N°11: Comparaciones múltiples (variable dependiente: longitud).....	48
Tabla N°12: Prueba de Subconjuntos de Tukey	49

INDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Fórmula estructural de Terbinafina.....	28
Figura N° 2: Recolección de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta).....	68
Figura N° 3: Selección y lavado de las semillas de <i>Persea americana</i> con agua potable.....	68
Figura N° 4: Enjuague de las semillas con agua destilada, y rallado de las semillas.....	69
Figura N° 5: Semillas de palta ralladas. Secado de las semillas a 40°C por 10 días.....	69
Figura N° 6: Semillas después de 10 días y trituración de la semilla de palta.....	69
Figura N° 7: Agregando 200g de muestra y 1500 mL de etanol de 96°.....	70
Figura N° 8: Agitación del extracto etanólico, pasado los 12 días de almacenar el extracto se procede a filtrar.....	70
Figura N° 9: Secado del extracto etanólico en la estufa de 40°.....	71
Figura N° 10: Extracto reconstituida para la marcha fitoquímica.....	71
Figura N° 11: Agregando 2mL del extracto etanólico a cada tubo de ensayo.....	71
Figura N° 12: Agregando los reactivos a cada tubo de ensayo.....	72
Figura N° 13: Agitando las muestras para determinar presencia de compuestos químicos.....	72
Figura N° 14: Extracto de la semilla de palta.....	72
Figura N° 15: Preparación de las diluciones del extracto etanólico al 100,50 y 20%.....	73
Figura N° 16: Control positivo Terbinafina 300µg/mL	73
Figura N° 17: Colocando los discos en placa ya inoculada.....	73
Figura N° 18: Agregando 100µl a los discos inoculadas en las placas.....	74
Figura N° 19: Placas inoculadas con los extractos etanólicos y el control positivo..	74
Figura N° 20: Blanco (solo alcohol).No presenta crecimiento de halo de inhibición.....	74
Figura N°21: Control positivo. No hubo crecimiento. Vista anterior y posterior.....	75

Figura N° 22: Dilución 20%.Halos de inhibición. Disco 1.24, 12 mm.Disco2. 23,73 mm. Disco 3.23, 04mm.Vista anterior y posterior.....	75
Figura N° 23: Dilución 50%.Halos de inhibición. Disco 1.26, 94 mm. Disco 2.25, 00 mm. Disco 3. 23,13 mm. Vista anterior y posterior.....	75
Figura N° 24: Dilución 100%.Halos de inhibición. Disco 1. 30,53 mm. Disco 2.29, 46mm. Disco 3. 28,30 mm. Vista anterior y posterior.....	76
Figura N° 25: Laboratorio de Farmacognosia y microbiología.....	76

INDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1: Matriz de consistencia.....	60
Anexo N° 2: Documento presentado al INS para donación de la cepa.....	61
Anexo N° 3: Certificación botánica de <i>Persea americana</i>	62
Anexo N° 4: Instrumento de Recolección de Datos.....	63
Anexo N° 5: Instrumento de Recolección de Datos	65
Anexo N° 6: Juicio de expertos.....	66
Anexo N° 7: Juicio de expertos.....	67
Anexo N° 8: Materia prima	68
Anexo N° 9: Selección y procesamiento de la semilla de <i>Persea americana</i>	68
Anexo N° 10: Preparación del macerado del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (alcohol 96°).....	70
Anexo N° 11: Preparación de la marcha fitoquímica	71
Anexo N° 12: Evaluación antifúngico del extracto etanólico de la semilla de palta..	72
Anexo N° 13: Aplicación de los discos a las placas inoculadas.....	73
Anexo N° 14: Resultados de los análisis	74

INTRODUCCIÓN

Desde principios de la humanidad las plantas medicinales constituyeron parte esencial en la historia y cultura de los pueblos indígenas. Hoy en día existen estudios científicos que informan sobre los beneficios de las plantas medicinales en las distintas afecciones crónicas o leves.¹

Muchas poblaciones del mundo todavía dependen de las plantas curativas y los fármacos herbarios para su atención primaria. Es más, durante las últimas décadas los tratamientos naturales se han incrementado enormemente en los países industrializados, y se encuentran en expansión el uso de las plantas curativas y fármacos herbarios. El Perú cuenta con una gran variedad de plantas, especialmente en provincias son de mucha importancia debido a que contribuyen en la solución de problemas de la salud, siendo una gran alternativa a la falta de medicamentos, además de los altos precios en el mercado nacional. Adicional a esto se tienen los problemas del uso irracional de los medicamentos que tienen como consecuencia reacciones secundarias e interacciones medicamentosas.²

Actualmente tenemos acceso a una inmensa cantidad de información científica con respecto a las plantas en todo el universo, sobre el avance de fitofármacos, que son usados en diferentes enfermedades, así como los estudios fitoquímicos, que han descubierto la existencia de una inmensidad de sustancias que tienen efectos beneficiosos. Aunque aún existen un grupo de plantas que no han sido estudiadas, las cuales necesitan ser analizadas para comprobar el uso terapéutico; por tal razón nace el interés por investigar el efecto antifúngico de la especie ***Persea americana*** “*palta*”. Estas investigaciones son fundamentales para determinar los efectos terapéuticos, usos y propiedades de la planta, con la finalidad de conservar la salud.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

Actualmente en el mundo moderno, la población crece aceleradamente y con ella también sus enfermedades, como las infecciosas ocasionadas por virus, hongos, bacterias etc. A pesar de que existen muchos fármacos para su control o tratamiento, la mayoría de ellos tienen efectos colaterales. Por ejemplo, los antibióticos vienen ocasionando resistencia microbiana y otros efectos colaterales. Ciertas variedades de plantas manifiestan alternativas antifúngicas y antibacterianas con menos efectos secundarios.

Parada (2015) manifiesta que las infecciones cutáneas son los contactos de un germén o posible parásito con el hospedador y cuya proliferación provoca la penetración en los tejidos del organismo ocasionando enfermedades. Estas infecciones se transmiten a individuos sanos por contacto directo, vectores u hospedadores no habituales, el ambiente, ropa, utensilios o a través de la ingestión de alimentos. Las infecciones de la piel pueden estar causadas por bacterias, hongos o virus.³

Las micosis superficiales, hoy en día, son infecciones producidas por distintos grupos de hongos patógenos para el hombre que invaden las estructuras queratinizadas, es decir, el estrato córneo, pelo, uñas y/o las mucosas. Están distribuidos ampliamente en la naturaleza y pueden vivir en el organismo humano como saprófitos o parásitos. Solamente, algunas especies de hongos conocidos son patógenas para el ser humano.⁴

La tiña corporis es la variedad topográfica más frecuente de todas las tiñas. Es un padecimiento cosmopolita, aunque se observa más en climas calurosos y

húmedos. Afecta a personas de todos los grupos de edad, siendo la prevalencia más alta en preadolescentes.

Con esta investigación se pretende contribuir a la solución de este problema de salud pública, evaluando el efecto antifúngico del extracto etanólico de la semilla de ***Persea americana*** (Palta) en cepas de *Trichopyton rubrum* como alternativa frente a fármacos con precios elevados y produciendo reacciones adversas que no contribuyen en la recuperación de la salud.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿El extracto etanólico de la semilla de ***Persea americana*** (palta) presentará efecto antifúngico en cepas de *Trichophyton rubrum*?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿Qué tipos de compuestos químicos bioactivos presenta el extracto etanólico de la semilla de ***Persea americana*** (palta)?
2. ¿En qué concentración el extracto etanólico de la semilla de ***Persea americana*** (palta) presenta efecto antifúngico en cepas de *Trichophyton rubrum*?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Determinar si el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) presenta efecto antifúngico en cepas de *Trichophyton rubrum*.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Identificar algunos tipos de compuestos químicos bioactivos en el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta).
2. Determinar la concentración del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) que presenta efecto antifúngico en cepas de *Trichophyton rubrum*.

1.4 Justificación

Nuestro país desde la antigüedad ha tenido sólidas sus tradiciones, utilizando las plantas como recursos al alcance del ser humano para la alimentación y curación de las enfermedades. Los conocimientos de las plantas se transmitieron de generación en generación, pero nadie buscaba saber por qué o como actuaban las llamadas plantas medicinales, ya que creían que sólo eran mágicas. En muchos casos no tenemos datos científicos que respalde sus acciones terapéuticas, mayoría de las personas que radican en lugares alejados acuden a los curanderos o chamanes para curar sus males.

Aún existen muchas plantas que requieren nuestra atención y necesitan ser estudiadas, ya que se ignora por completo su actividad terapéutica. Estas investigaciones son beneficiosas y útiles para nuestra población, aportando así en resolver las diversas creencias medicinales donde la efectividad de sus actividades fitoterapéuticas tengan un dato científico, cubriendo el vacío dejado por generaciones. Existen medicamentos naturales cuya función es importante en el campo de la investigación farmacológica, ya que con ellos se adquieren nuevos conocimientos, que desarrollen moléculas activas para los diferentes tratamientos patológicos.

El empleo prolongado de los medicamentos antifúngicos por vía oral presentan muchos efectos adversos principalmente la hepatotoxicidad y la nefrotoxicidad para el organismo. Por tal motivo, el presente estudio tiene el objetivo de determinar el efecto antifúngico del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta), para tener como alternativa terapéutica en la cura de la tiña corporis, tiña pedís y tiña capitis y así tener una terapia eficaz, segura, accesible, rápida y de fácil administración.

1.5 Limitaciones de la investigación.

Dentro de las limitaciones se puede mencionar que no se pueden medir el efecto antifúngico en seres humanos.

Además se tuvo inconveniente en conseguir las Cepas de *Trichophyton rubrum*.

También se tuvo dificultad en conseguir los reactivos, materiales y equipos necesarios para los respectivos análisis.

Otra limitación que se tuvo fue el no tener acceso al laboratorio de la facultad de Farmacia y bioquímica en la universidad Inca Garcilaso de la vega durante las vacaciones.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 Antecedentes nacionales

Alcalá M, et al. (2011). “Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) comparado con el Fluconazol en el cultivo de *Candida albicans* de Junín”.

Se estudió el efecto antifúngico midiendo 80 halos de inhibición distribuidos en 5 grupos mediante el método Kirby-Bauer. Se usó una cepa clínica de *Candida albicans*. Los grupos de estudio fueron grupo muña 25%, 50%, 100%, un grupo control negativo (aceite mineral), y un grupo control positivo (Fluconazol). El análisis estadístico se realizó por medio de la Prueba de Kruskal-Wallis y el Test de Dunn usando el paquete SPSS v.17.0. Se tomó en cuenta un nivel de significancia $< 0,05$. Los halos de inhibición respectivamente cada uno presentó la mediana de GM25% (32,00 mm); GM50% (40,00 mm); GM100% (46,80mm) y del grupo Fluconazol (39,00mm). No se observó halos de inhibición en el grupo control negativo. Se encontró diferencia significativa entre GM25%, GM100% y el grupo Fluconazol ($p < 0,001$), más no entre este último y GM50% ($p > 0,05$). Se concluye que el aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (al 100%) tuvo más efecto contra la *Candida albicans* que el Fluconazol; por otro lado se observó que la concentración del 25 % y 50 % de *Minthostachys mollis* no tiene efecto ante el Fluconazol .⁵

Soto H M. (2014). “Efecto Antifúngico y Antibacteriano comparativo de los extractos acuosos del *Zea Mays L.* (maíz morado), *Rubus glaucus* (mora andina); *Opuntia soherensii* (ayrampo) y diseño de un gel de limpieza cutánea”.

Se realizó un screening fitoquímico al extracto determinando la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y azúcares reductores. Por otro lado se determinó su efecto antibacteriano y antifúngico por el método de difusión en agar. Los extractos de los frutos se obtuvieron por dos tipos de extracción (una alcohólica y la otra acuosa). Los frutos del *Rubus glaucus* (mora) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) al ser adquiridos por extracción alcohólica demostraron buena actividad. Se hizo la formulación del gel de limpieza de acuerdo a su consistencia del producto y su estabilidad. Los resultados dieron positivos, dando evidencia su actividad antifúngica y antibacteriana por el método de difusión en agar.⁶

Cabrera J, et al. (2015). “Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Miller var.Hass (palta) de Cajamarca”.

Se usó el método de Kirby Bauer, en discos con 10, 50 y 100 µg/mL del extracto etanólico y grupos controles constituidos por discos con 5 µg de ciprofloxacino para la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 y 2 µg de clindamicina para la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Después de medir, analizar y observar los halos de inhibición obtenidos sobre las cepas en estudio, se determina que el efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en la concentración del 100% presenta un halo de inhibición de (28 mm), en comparación con la clindamicina de 2 µg, que tiene un halo de inhibición de (25 mm). El método estadístico utilizado fue el no paramétrico de Mann Whitney, donde se obtuvo un valor de $p = 0,034$ para *Staphylococcus aureus* que fue menor que $p < 0,05$; lo que hace que el estudio sea significativo. Por otro lado, no se evidenció el efecto antibacteriano, cuando fue evaluada la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Persea americana* a concentraciones de 10, 50 y 100 µg/mL sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.⁷

2.1.2 Antecedentes internacionales

Escobar et al (2010). “Evaluación de la actividad antidiarreica y antibacteriana de los extractos de la semilla de palto (*Persea americana*) y buganvilla (*Bougainvillea glabra*)”.

Mediante la prueba de sensibilidad por técnica de difusión en doble capa fue evaluada la actividad antibacteriana; a través de pruebas por inducción bacteriana que generan diarrea en ratas de la cepa Winstar fue evaluada la prueba de la actividad antidiarreica. Los resultados detectan que el extracto etanólico de las hojas de buganvilla tiene actividad antibacteriana y antidiarreica a una concentración de 0.763 gr/kg peso, contra *Escherichia coli* y el extracto de la semilla de palto a una concentración de 0.688 gr/kg peso, contra *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* y *Salmonella typhimurium*. Los principales compuestos responsables de la actividad antibacteriana y antidiarreica es por la presencia de taninos y flavonoides, presentes tanto en hojas de buganvilla y semilla de palto.⁸

Simbaña et al (2014) “Incidencia de *Trichophyton rubrum* en lesiones de pie en pacientes que concurren al centro materno infantil en el período marzo – septiembre 2013.”

Las encuestas fueron importantes para evaluar el nivel de conocimiento de los pacientes sobre esta problemática, se procedió a obtener muestras de uña de pie, al ser cultivadas en Agar sabouraud y ser diferenciadas mediante la prueba de Ureasa, se pudo comprobar que gran parte de los pacientes que concurren al Centro Materno Infantil presenta *Trichophyton rubrum* como principal patógeno de la Onicomicosis. El enfoque del trabajo realizado fue cualitativo, aplicando la investigación de campo, con un nivel tipo descriptivo, porque es indispensable tener conocimiento que las lesiones de pie pueden ser originadas por agentes patógenos los cuales con el pasar del tiempo pueden conllevar a una alteración en la salud de las personas, por no acudir de manera rápida a un Centro de Salud al notar algún tipo de alteración en las uñas.⁹

Chunga AM. (2015). “Determinación de la acción antimicótica in vitro de un gel elaborado a partir del *Aloe vera* y *Persea americana* en la universidad de Guayaquil facultad de Ciencias Química”.

El estudio tuvo como principal objetivo demostrar los principios activos que poseen propiedad antifúngica tanto del gel del *Aloe vera* (sábila) como del aceite de aguacate (*Persea americana*), y así crear un gel antimicótico natural capaz de combatir los efectos generados por la Dermatitis del pañal. El método SOXHLET fue de gran ayuda para el análisis de los metabolitos secundarios, se determinó el porcentaje de aceite presente en la semilla del aguacate con un rendimiento excelente del 24,76% y por medio de la Cromatografía de Capa Fina de Lípidos dió como resultado que el ácido graso insaturado en mayor proporción fue el ácido oleico con un Rf de 0.74 cm. Para los ensayos “in vitro” se realizó un Análisis Microbiológico por medio de pruebas de sensibilidad a los antimicóticos, usando la Técnica de la Difusión en Agar con Disco donde se realizaron 3 formulaciones previamente obteniendo la mayor sensibilidad la formulación # 3 dando un halo de inhibición de 20 mm.¹⁰

2.2 BASES TEÓRICAS:

2.2.1 Plantas Medicinales

Las plantas medicinales son conocidas desde la antigüedad, estas plantas sirven para aliviar y curar los males de la humanidad. Durante años los antídotos naturales, y sobre todo las plantas curativas, fueron el único y primordial recurso para los médicos. Las plantas poseen componentes activos que si usamos correctamente son beneficiosas para nuestra salud porque curan y previenen las enfermedades. La Organización Mundial de la Salud (OMS), define a las plantas medicinales como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos sirven de precursores para elaborar nuevos fármacos. Abundantes variedades de vegetales que fueron utilizadas por sus propiedades medicinales entre los romanos, egipcios y griegos

fueron parte de la farmacopea medieval. Los remedios a base de plantas curativas presentan muchas ventajas con respecto a los tratamientos químicos, por ejemplo la actividad terapéutica de *Minthostachys mollis* “ruyaq muña”, frente enfermedades de las vías respiratorias y del aparato digestivo por su propiedad antimicrobiana.^{11, 12,13}

2.2.2 Fitomedicina y Fitoterapia

La fitomedicina es una ciencia, encargada de estudiar las propiedades y el uso de las plantas medicinales, que está basada en las plantas y vegetales para el alivio terapéutico, restableciendo el cuerpo, la armonía y encontrar la estabilidad que se requiera, en base a terapia con plantas medicinales. Sin embargo para poder utilizarlas es importante saber las propiedades de estas plantas. Para ello contamos con la fitofarmacología y la fitoterapia. Hoy en día, hay variedades de plantas que se utilizan en la fitomedicina, es por ello que existen expertos en este tratamiento y en muchas especialidades de ellas.^{13,14}

La fitoterapia es una ciencia que estudia el uso de las plantas curativas y las integran en forma farmacéutica (fitofármacos), cuya eficacia, seguridad y calidad están aseguradas conservando las características de las drogas vegetales y extractos. La seguridad, la eficacia y la calidad se diagnostican con los análisis físicos, químicos y microbiológicos. La organización mundial de salud (OMS), precisa a los fitofármacos como: manufacturas obtenidos por procedimientos tecnológicamente adecuados, aprovechando únicamente materias primas vegetales, con finalidad profiláctica, medicinal o para fines de diagnóstico. Se distingue por el conocimiento de la efectividad y de los peligros de su uso.¹⁵

2.2.3 Palta (*Persea americana*)

2.2.3.1 Clasificación taxonómica:

La familia de las Lauráceas está formada por 52 géneros y cerca de 3500 especies; la cual es una de las familias más primitivas de las dicotiledóneas.¹⁶

Clasificación taxonómica de la palta

Reino : Plantae
División : Magnoliophyta
Clase : Magnoliopsida
Subclase: Magnoliidae
Orden : Laurales
Familia : Lauraceae
Género : ***Persea***
Especie : ***Persea americana Miller***

2.2.3.2 Descripción Botánica:

Árbol grande o de proporción mediano, habitualmente de 20 a 25 m de alto, de tronco recto y corteza rojiza, con copa muy densa y alargada. Presenta hojas alternas y grandes de color verde de 6 - 30 cm de largo, formada de un ramaje denso y muy abundante.¹⁷ Tiene raíz pivotante, con prolongaciones ramificadas. El tallo es un tronco de forma cilíndrico, ramificado, leñoso, erecto, presentando una corteza áspera y pocas veces surcada longitudinalmente. La copa es de forma globosa y acampanada, con ramas extendidas. Cada árbol llega a elaborar hasta un millón de flores y solo entre el 0,01 % y el 1 % se convierten en fruto. Los órganos femeninos y masculinos son utilizados en distintos tiempos para evitar la autogamia, la etapa floral se da en dos momentos. Es por ello que las variedades se clasifican dependiendo del comportamiento de la inflorescencia en tipo A y B, comportándose primero como flores femeninas y seguidamente como masculinas. El fruto presenta

tres partes: pulpa, corteza y semilla. El fruto es una drupa carnosa, globular, ovoide y de aspecto periforme. El color puede variar de verde claro a verde oscuro. Presenta cáscara gruesa de color verde, amarillo o Violeta. La palta hoy en día es considerada una fruta perenne, debido a que podemos sembrar durante todo el año.

18,19

2.2.3.3 Clasificación según razas ecológicas

Botánicamente se clasifica en tres grupos o razas:

***Persea americana* Var. *Drymifolia*:** Se distinguen por ser muy resistentes a temperaturas bajas y poseer un alto contenido de aceite. Se caracteriza por comprender en sus hojas una esencia a anís, que se distingue al prensar estas hojas. Los frutos al concluir su crecimiento son de tamaño relativamente pequeño. La pulpa presenta baja cantidad de fibra y alto contenido de grasa (llegando a un 30%) y bajo en azúcar (2%). Los frutos tienen tonalidad verde claro, sin embargo algunas variedades otorgan coloraciones moradas, rojas o casi negras.^{20, 21}

***Persea nubigena* Var. *Guatemalensis*:** Presenta un fruto de pequeña dimensión y aspecto redondo, se caracteriza por poseer cáscara gruesa y rugosa al tacto. Al obtener la maduración los frutos tienen diferentes tamaños, dependiendo de las variedades. El color verde tiende a perder el brillo obteniendo unos puntillos de apariencia corchosa a efecto de la suberización de las lenticelas. Los árboles de esta especie se aclimatan a alturas entre 1.000 y 2.000 msnm. La raza antillana es superada por la raza guatemalensis, debido a la calidad de la pulpa y al contenido de grasa (20%). La etapa transcurrida entre la floración y la cosecha dura aproximadamente hasta los 15 meses.^{20,21}

***Persea americana* Mill. Var. *Americana*:** Es un árbol oriundo de la selva, de temperaturas cálidas y húmedas de centro América. Una de las características de esta raza es el gran tamaño de sus frutos, que pueden ser de 250 a 2.500 gramos de peso, tienen formas ovaladas, redondas, o piriformes. Así mismo su coloración varía de verde radiante a verde oscuro, con pulpa muy baja en grasa (5 a 15%) y alta en azúcar (5%). Las hojas de los árboles no son aromáticas. Presenta cáscara suave al tacto, de consistencia correosa, flexible y de grosor mediano. De los tres tipos

raciales, la raza antillana migró más lejos de su procedencia en la costa del Pacífico de Guatemala (Storey y col. 1986), y lo hizo muy pronto, llegando al Perú hace aproximadamente 3000 a 4 000 años (Williams 1977).^{18, 21}

2.2.3.4 Clasificación según híbridos:

Estas son originarias de Guatemala, México y Antillana, a partir de ello se desarrollaron los llamados híbridos entre los que destacan son.²²

- a) Hass:** Esta variedad de palta se encuentra durante todo el año, ya que proviene del injerto de mezclas de distintas variedades de aguacate, la cual fue desarrollada en el estado de California de los Estados Unidos por Rudolph G.Hass. Cuando está maduro, la cáscara obtiene un tono oscuro casi negro y la piel es gruesa (resistente al transporte). La pulpa no tiene fibra, tiene un contenido de aceite de 18 a 22%. La floración corresponde al del tipo "A", el cual tendrá una primera apertura como hembra en la mañana y una segunda iniciación como macho en la tarde del siguiente día; lo contrario sucede con el tipo "B". El fruto es una masa cremosa que conserva un sabor deleitable.^{18, 20}
- b) Fuerte:** Esta variedad de palta lo encontramos desde finales de otoño hasta primavera. La piel es ligeramente áspera, con pequeños puntos amarillos. Tienen forma de una pera, de gran sabor y una masa cremosa. La palta presenta hibridación, ya que es el cruce entre los precursores de la raza guatemalteca y mexicana. Según el comportamiento de floración, corresponde al tipo "B". El fruto es piriforme, tiene un tamaño mediano y con un peso promedio de 320 a 400 g. Con cáscara ligeramente áspera al tacto, medianamente gruesa de color verde y resistencia carnosa. La pulpa tiene una buena calidad, sus frutos tienen poca fibra y semillas de mediano tamaño. Su contenido de aceite varía entre un 18% y un 26%.^{18, 20}
- c) Criollo:** La principal característica de esta variedad de palta, es ser resistente al frío. Presenta una cáscara muy delgada y suave, que agarra firmemente a la masa. Son frutos de cuello largo y bajo contenido de aceite. Por lo general la calidad de la palta criollo es muy irregular, ya que normalmente posee un alto contenido de fibra, semilla muy grande, producción tardía y árboles de

portes muy altos, que van a dificultar su cosecha. Por lo tanto, es preciso clasificar y reproducir los mejores tipos para conservar esta riqueza natural.^{20,}
21

- d) Bacón:** Es un híbrido resultado del cruce de las razas Guatemalteco-Mexicano, originado en California por James Bacón. Esta variedad la encontramos durante otoño hasta primavera. El fruto se caracteriza por ser de forma ovalada, presenta masa amarilla verdosa con gran sabor y de textura suave y cuyo peso oscila de 198 a 340 g. Es fácil de pelar y contiene una semilla entre mediano a grande. Tiene cáscara verde oscuro, delgada, buen sabor y pulpa de color amarillo-verde pálido. La fructificación se da en la parte terminal del árbol. Tipo de floración es “B”.^{18, 20}
- e) Gwen:** Nueva variedad que fue lanzada en California con mucha expectación, procede de la variedad “Hass” y “Whitsell”, la encontramos desde principios de primavera hasta finales de verano. El árbol presenta un hábito vegetativo, tiende a desarrollarse en altitud, por lo tanto su fructuosa vegetación procede en el sentido de neutralizar esta tendencia. Es una fruta redonda, teniendo una piel delgada y granulada de color verde. El sabor de la masa es suave y mantecoso. El rendimiento parece ser algo mayor que del “Hass”.^{18,20}
- f) Nabal:** Pertenece a la raza guatemalteca. Presenta cáscara lisa y algo gruesa, de color verde oscuro. Su semilla es redondeada y de pequeña magnitud. La pulpa es de color amarillento, de buen sabor y casi sin fibras; el contenido de aceite varía entre 15% y 18%. La fruta tiene una excelente calidad, ocupando así el tercer lugar en las preferencias de los peruanos. La planta se adapta bien en la costa peruana, se cosecha a partir de setiembre hasta noviembre.¹⁸

2.2.3.5 Zona de Cultivo

El cultivo de la palta se recomienda en altitudes entre 800 y 2.500 msnm. En éstas condiciones se evita los problemas de enfermedades que atacan a la planta principalmente a las raíces. Uno de los factores que limita el desarrollo del cultivo es la temperatura y la precipitación.¹⁰

2.2.3.6 Usos Etnomédicos:

Los estudios farmacológicos y fitoquímicos encontrados en la cáscara del fruto y la semilla de la palta, demuestran que hay presencia de sustancias con actividades antimicrobianas y antifúngicas. Para el tratamiento del cabello reseco y otros males del cuero cabelludo, es recomendado el aceite extraído de la semilla de palta, ya que son usados desde siglos pasados. También se usa como ungüento para calmar el dolor y ablandar la piel de las partes lastimadas. La cáscara de la fruta seca y molida son usadas como antidisentéricos, al igual que la infusión a base de las hojas suministradas para lavar padecimientos infecciosos e inflamatorios de la piel. Para el tratamiento de parasitosis intestinal es recomendable la infusión de cáscara de la palta.^{23, 24}

2.2.3.7 Propiedades de la palta:

Se han realizado distintos estudios a nivel internacional en el cual hablan de la gran cantidad de propiedades benéficas y que ayudan a mejorar la calidad de vida. Esta fruta tiene la mayoría de sustancias recomendadas para una dieta favorable.¹³

- Presenta 12 de las 13 vitaminas existentes.
- Posee alto contenido de vitamina E, (ayudando así en el proceso de cicatrización).
- Todas las vitaminas B. (B2, Riboflavina, para la regeneración de tejidos).
- Respecto a los minerales de la palta, se sabe que tiene potasio, magnesio, hierro, zinc y calcio (contribuyendo en la cicatrización de heridas).
- Tiene propiedades hipolipemiantes y antianémicas.²⁴
- El cocimiento de las semillas se utilizaron habitualmente como abortivo y anticonceptivo.

2.2.3.8 Semillas de la Palta:

Las semillas contienen ácidos grasos insaturados, así como abundante tocoferol. El epispermo de la semilla es una capa fina fibrosa de color marrón oscuro. La semilla contiene menor porcentaje de lípidos que la pulpa, por ello no se considera de interés para el proceso de obtención de aceite a nivel industrial. Algunos estudios revelaron que el aceite de semilla presenta mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados que el aceite de pulpa. También es posible obtener enzimas y sustancias con propiedades antibióticas, como así también extraer taninos y pigmentos de la semilla.²⁵

2.2.3.9 Compuestos químicos

a) TANINOS:

Están constituidos por un extenso grupo de compuestos hidrosolubles que presenta estructuras polifenólicas, capaces de precipitar algunas macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulosa y gelatina). Presenta dos propiedades principales: la capacidad de curtir la piel y su poder astringente.²⁶

Clasificación de Taninos

- **Taninos hidrolizables:** Son ésteres constituidos por una molécula de azúcar (frecuentemente la glucosa) acoplada a un número variable de moléculas de ácidos fenólicos (ácido gálico o su dímero, el ácido elágico). Se hidrolizan por hidrólisis enzimática como ácida o básica. Da una reacción de color azul al tratar los taninos hidrolizables con cloruro férrico.²⁶
 - **Taninos condensados:** Son dímeros o polímeros flavánicos unidos entre carbono – carbono a través de las diferentes unidades de flavan – 3-ol. Solo son afectados por la hidrólisis enzimática o ácida (que rompe ciertos enlaces) y se transforman en antocianidinas, los cuales pueden polimerizar para generar los flobáfenos insolubles (color rojo intenso). Se observa una coloración verde al tratar los taninos condensados con cloruro férrico (FeCl_3).²⁶
- Las acciones y los usos de los taninos se encuentran en la (tabla N° 1).

Tabla N° 1: Acciones y usos de los taninos

Acciones y usos	
<ul style="list-style-type: none">• Antidiarreico• Cicatrizantes• Hemostáticos• Curtido de la piel• Protector tisulares• Protectores venosos y capilares• Antihemorrágicos	<ul style="list-style-type: none">• Antiséptico(bactericida,bacteriostática y efecto antifúngico)• Antioxidante• Antídoto de metales y alcaloides• Hipocolesterolémicos• Antinutrientes

Fuente: Farmacognosia²⁶

b) FENOLES Y ÁCIDOS FENÓLICOS

Dentro de los compuestos fenólicos están incluidos los fenoles simples, taninos, flavonoides, polifenoles, etc. Todos ellos presentan en común un anillo bencénico que puede estar unido a un grupo hidróxido libre o combinado en forma de éster, heterósidos y éter.^{26, 27}

Propiedades de los fenoles:

Las propiedades encontradas de los compuestos fenólicos son: antioxidantes, antifúngicas, antitumorales, hepatoprotectoras, antimicrobianos y antiinflamatorias, que está asociada a la acción analgésica y antipirética.²⁷

c) SAPONINAS

Son heterósidos (azúcar mas aglicón) cuya característica principal es producir espuma cuando se agita una solución acuosa que las contiene. ²⁶

Acciones y usos

Las sustancias con saponinas muestran distintas acciones farmacológicas.

1. Acción irritante de las células: Se da principalmente en tres niveles: Pulmonar, renal y hemático.
2. Efecto antiedematoso y antiinflamatorio, se da a nivel de insuficiencia venosa en las extremidades inferiores.
3. Acción antihemorroidal y cicatrizante.
4. Acción adaptógena: Provoca un efecto que puede resultar tonificante, anti estrés y estimulante.
5. Efecto antimicótico, antimicrobiano, antivírico y molusquicidas:

2.2.4 HONGOS

Son células eucariotas que no poseen desplazamientos ni tampoco realizan el proceso de la fotosíntesis en comparación de las plantas. Millones de especies son reconocidas y 50 de ellas son patógenas para el ser humano. Estos gérmenes se manifiestan en el medio ambiente o pueden subsistir con los individuos sin provocar riesgos para la salud.²⁸

En la importancia clínica los hongos se pueden clasificar en cuatro grupos:

- ✓ Hongos de tipo levaduriforme elaborando una estructura semejante al micelio.
- ✓ Levaduras.
- ✓ Hongos filamentosos.
- ✓ Hongos dimórficos.

Los hongos producen infecciones micóticas en los humanos que se agrupan en micosis superficiales, cutáneas, subcutáneas y profundas (sistémicas o generales).²⁹

2.2.4.1 Micosis Cutáneas

2.2.4.1.1 Definición

La micosis cutáneas es generada por un grupo de hongos que tienen la capacidad de invadir tejidos queratinizados (piel, cabellos y uñas) excepto tejidos más profundos. Se clasifican en tres géneros: *Trichopyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*. Solo forman hifas y arthroconidios en tejidos queratinizados no viables, si se realiza un cultivo los hongos desarrollan conidios característicos y colonias que es útil para dividirlos en especies. Los dermatofitos tienen una amplia diseminación mundial en su distribución, algunas especies tienen mayor frecuencia en distintas regiones que en otras, por ejemplo, *T.rubrum* en los climas tropicales y *T.shoenleinii* en el mediterráneo.²⁹

2.2.4.1.2 Clasificación de los dermatofitos

La clasificación de dermatofitos es:

a) *Microsporum*

Los macroconidios forman parte del conidio, el género *microsporum*, tiene la característica de ser grande, de paredes rugosas, fusiformes y multicelulares, formándose entre los extremos de las hifas, tienden a infectar habitualmente el cabello y la piel, pero muy rara vez las uñas.²⁹

b) *Epidermophyton floccosum*

Este género monotípico sólo se forman macroconidios con 1 a 5 células, juntando colonias de color verdoso amarillento que rápidamente muta e invade las uñas y piel, pero nunca el cabello.²⁹

c) *Trichophyton rubrum*

Los macroconidios tienen forma de lápiz y una pared lisa con extremos romos. Los microconidios son considerados de tipo de espora predominantes. Cada especie varía conforme a la pigmentación y la morfología de la colonia. La formación de conidios puede variar también según la cepa bajo observación. Mucho influye el

medio en el que se desarrollan para determinar sus características. La especie varía en su morfología de acuerdo al medio en que se desarrollan los hongos. El *T.rubrum* presenta hifas enrolladas que por lo general tiene microconidios en forma de lágrimas a lado de las hifas y las colonias desarrollan un color rojo en el reverso. ²⁹

Las infecciones micóticas principales y microorganismos causales se encuentran en la (tabla N°2).

Tabla N° 2: Infecciones micóticas principales y microorganismos causales

Tipo de infección	Microorganismo causal	Enfermedad
Superficial	<i>Malassezia furfur</i>	Pitiriasis versicolor
Cutánea	<i>Trichophyton, Epidermophyton y especies de Microsporum</i> <i>Candida albicans</i>	Dermatofitosis (tiña de piel, cuero cabelludo y uñas) Candidiasis cutánea y bucal (algodoncillo) de mucosas.
Subcutánea	<i>Sporothrix schenckii</i>	Esporotricosis
Profunda	<i>Blastomyces dermatitidis</i> <i>Coccidioides iminitis</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Blastomicosis Coccidioidomicosis Histoplasmosis Paracoccidioidomicosis
Profunda oportunista	<i>Aspergillus fumigatus y otras especies de Aspergillus</i> <i>Candida albicans y otras especies de Candida</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Especies de Mucor y Rhizopus</i>	Aspergilosis Candidiasis Criptococosis Cigomicosis

Fuente: Micología médica²⁹

2.2.4.1.3 Datos Clínicos

a) Tiña de los pies (pie de atleta)

Esta dermatofitosis es la más común. Son infectados los espacios interdigitales con una especie de *Trichophyton* o con *Epidermophyton floccosum*.

Al principio hay prurito entre los dedos y se desarrollan pequeñas vesículas que se rompen y derraman un líquido. En éstos espacios de los dedos se pelan y macera apareciendo orificios que están expuestas a infectarse con bacterias. Si la micosis se hace crónica las manifestaciones principales son la fisuración y la descamación de la piel. Las uñas tienen ciertas características, se engrosan o se desmenuzan, se tornan de color amarillo y se vuelven frágiles.²⁹

b) Tiña Corporal, tiña crural (dermatofitosis)

La tiña corporal origina lesiones anulares, en el centro es limpio y claro, lleno de escamas en el borde rojizo creciente que casi siempre contiene vesículas. Los más comunes son *E. floccosum*, *T. mentagrophytes* y *T. rubrum*.

Los hongos solo se desarrollan dentro del tejido queratinizado muerto. Los productos del metabolismo del hongo se difunden a través de la capa malpighiana provocando eritema, formación de prurito y vesículas. Conforme envejecen las hifas y se rompen en artrosporas, las células que la contienen son liberadas, lo que explica en parte del centro claro de la lesión anular.²⁹

c) Tiña cefálica (tiña del cabello)

La infección por *Microsporum* ocurre en la niñez y cicatriza por lo general en la pubertad. Las infecciones causadas por *Trichophyton* no curadas pueden seguir hasta la edad adulta. La infección comienza en el cuero cabelludo por la parte baja de la diáfisis del pelo en desarrollo.²⁹

Las características clínicas por dermatofitos se encuentran en la (tabla N°3).

Tabla N° 3: Algunas características clínicas por dermatofitos

Enfermedad cutánea	Localización de las lesiones	Aspecto clínico	Hongo causante con mayor frecuencia
Tiña corporal (circinada)	Piel no pilosa, lisa	Parches circulares con bordes rojos, vesiculoso, crecientes y descamación central. Prurito	<i>M. canis</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i>
Tiña de los pies (pie de atleta)	Espacios interdigitales de los pies en personas que usan zapatos	Prurito, piel roja, vesiculosa en la fase aguda. Prurito, escamas y fisuras en la fase crónica.	<i>Trichopyton rubrum.</i> <i>T. mentagrophytes.</i> <i>Epidermophyton floccosum</i>
Tiña crural	Ingle	Escamas eritematosas en zona intertriginosa. Prurito	<i>Trichopyton rubrum.</i> <i>T. mentagrophytes.</i> <i>Epidermophyton floccosum</i>
Tiña cefálica	Cabello, endotrix:hongo dentro de diáfisis pilosa. Ectotrix:hongo sobre superficie del cabello	Parches circulares de la calvicie con cabellos cortos o rotos dentro de los folículos pilosos. Querión raro. Cabellos infectados con <i>Mycosporum</i> dan fluorescencia	<i>M. canis</i> , <i>Trichophyton tonsurans</i>

Onicomycosis	Uña	Uñas gruesas o desmenuzadas distalmente, cambio de color, sin lustre. Por lo general, relacionada con tiña de los pies	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>E. floccosum</i>
Dermatofitides	Lados y cara flexora de dedos, palmas. Cualquier sitio del cuerpo	Lesiones pruriginosas vesiculares o ampulares. Acompañadas muy comúnmente de tiña de los pies	No hay hongos en las lesiones. Puede infectarse secundariamente con bacterias

Fuente: **Micología médica**²⁹

2.2.4.2 Fármacos antifúngicos:

Actualmente los fármacos que se utilizan se pueden clasificar en dos grupos: principalmente antibióticos naturales, como las equinocandinas y los polienos, y como segunda opción los fármacos sintéticos, como los pirimidinas fluoradas y los azoles. Gran parte de estas infecciones son causadas externamente y se encuentran abundantes compuestos preparados para la administración tópica. Las variedades de fármacos antimicóticos son tóxicos y se requiere de estricta vigilancia médica cuando se utiliza un tratamiento sistémico.²⁸

Algunas infecciones frecuentes por hongos y su sensibilidad frente a los distintos antimicóticos se observa en la (tabla N^o4).

Tabla N° 4: Algunas infecciones frecuentes por hongos y su sensibilidad frente a los distintos antimicóticos

Microorganismo principales	Enfermedades	Tratamiento más frecuente					
		Polienos	Equinocandinas	Azoles / Triazoles	Flucitosina	Griseofulvina	Terbinafina
Levaduras							
<i>Cryptococcus neoformas</i>	Meningitis	+++	-	+	+	-	-
Hongos levaduriformes							
<i>Candida albicans</i>	Muguet , candidiasis sistémica	++	raramente	++	-	-	-
Hongos filamentosos							
Especies de <i>Trichophyton</i> <i>Epidermophyton floccosum</i>	Todos éstos gémenes pueden causar infecciones de la piel y las uñas , que se suelen llamar tiñas	-	-	+++	-	+++	+++
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Aspergilosis pulmonar	++	+	+	-	-	-
Hongos dimórficos							
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Histoplasmosis	++	-	++	-	-	-
<i>Coccidioides immitis</i>	Coccidioidomicosis	++	-	++	-	-	-
<i>Blastomyces dermatitides</i>	Blastomicosis	++	-	+	-	-	-

Fuente: Farmacología ²⁸

2.2.4.2.1 Antibióticos Antimicóticos

a) ANFOTERICINA

El lugar de acción se da en las membranas celulares de los hongos, donde obstaculizan las funciones de transporte y permeabilidad.

Forma grandes poros en la membrana. Se forma un canal iónico transmembranal mediante el núcleo hidrófilo de la molécula en forma de rosquilla, ya que se traduce en alteraciones notables en el equilibrio iónico, principalmente en pérdida de potasio intracelular. Este actúa frente a la mayoría de levaduras y hongos y se puede utilizar como tratamiento selectivo para infecciones diseminadas por muchos gérmenes como *Candida* y *Aspergillus*.²⁸

Aspectos Farmacocinéticas

Se utiliza por vía oral, muy escasamente ésta puede ser absorbida, se administra por ésta vía en caso de micosis digestivas altas. Otra forma de aplicación es por vía tópica, pero en infecciones sistémicas se suele administrar en forma de complejo con liposomas u otros preparados que contienen lípidos mediante una inyección lenta.

Efectos adversos

Uno de los efectos adversos más graves es la toxicidad renal en más del 80 % de los pacientes que son medicados con dicho fármaco, la alteración de las funciones hepática y la trombocitopenia son otros de los efectos adversos que presenta la anfotericina.

b) GRISEOFULVINA

La griseofulvina es un antifúngico de espectro reducido que se aísla de cultivos de *Penicillium griseofulvum*. Interrumpe en la mitosis uniéndose a los microtúbulos del hongo. Se puede emplear para tratar dermatofitosis de la piel o las uñas cuando fracasa el tratamiento local, pero el tratamiento debe ser muy prolongado. La griseofulvina se administra por vía oral.²⁸

Efectos adversos

La griseofulvina tiene efectos muy infrecuentes, pero podría originar cefalea y fotosensibilidad. Puede producir reacciones alérgicas (fiebre, erupciones). No debe ser administrado a mujeres que estén en gestación.²⁸

2.2.4.2.2 ANTIMICÓTICOS SINTÉTICOS

a) AZOLES

Son un grupo de fármacos micostáticos que tiene un núcleo imidazol por lo que se da su actividad debido a su amplio espectro (econazol, clotrimazol, fenticonazol, miconazol , tioconazol, ketoconazol y sulconazol) o triazol (voriconazol , itraconazol y fluconazol).²⁸

Estos inhiben la enzima 3 A del citocromo P450 micótico (CYP3A), la responsable de convertir lanosterol en ergosterol es la lanosina 14 α - desmetilasa, por la pérdida de ergosterol se altera la fluidez de la membrana y ésta va ha interferir en la acción de las enzimas.²⁸

b) TERBINAFINA

La terbinafina es parte de un nuevo grupo de antimicóticos llamados las alilaminas. Queratinófilo y muy lipófilo que es activo frente a una amplia gama de patógenos cutáneos. Su utilización es de mucha importancia en las infecciones ungueales. La acción que realiza la terbinafina es inhibiendo selectivamente la enzima escualeno epoxidasa, que interviene en la síntesis de ergosterol a partir del escualeno de la pared de la célula micótica. Cuando se utiliza para tratar hongos o tiñas de las uñas se administra por vía oral. Por esta vía se absorbe rápidamente y es captada por la uñas, la piel y el tejido adiposo, Cuando se aplica por vía tópica, penetra en la piel y las mucosas. Este fármaco se metaboliza en el hígado por el sistema del citocromo P450 y los metabolitos se eliminan en la orina.

La terbinafina se utiliza por vía oral, a la dosis de 250 mg/ día durante 2 – 4 semanas (tinea cruris/ corporis y candidiasis cutánea). 2-6 semanas (tinea pedis), 1,5-12

meses (micosis de uñas). Cuando se utiliza en aplicación tópica deber ser crema al 1 %,1-2 semanas (tinea corporis/cruris y candidiasis cutánea), Presentan efectos adversos en alrededor del 10 % de los individuos y generalmente son leves y autolimitados. Producen trastornos digestivos, prurito, erupciones, mareo y cefalea.^{28,30}

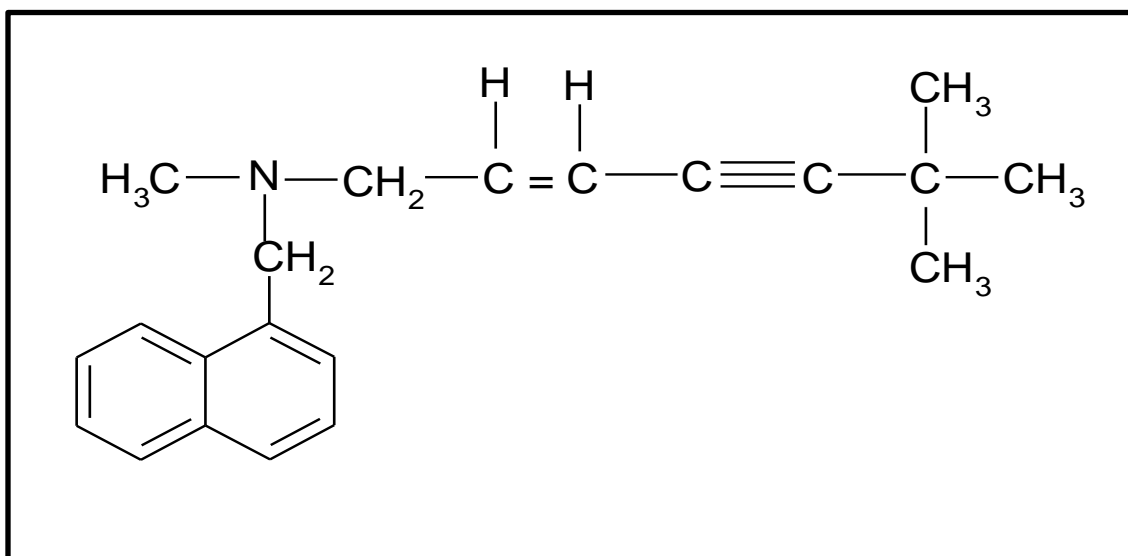


Figura N° 1: Fórmula estructural de Terbinafina.³¹

2.3 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

2.3.1 Hipótesis general

El extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) presenta efecto antifúngico en cepas de *Trichophyton rubrum*.

2.3.2 Hipótesis específicas

1. Existen algunos tipos de compuestos químicos bioactivos en el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta).
2. Existe una concentración del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) que presenta efecto antifúngico en cepas de *Trichophyton rubrum*.

2.4 VARIABLES

- Variable independiente: Compuestos químicos de la semilla de *Persea americana* (palta).
- Variable dependiente: Efecto antifúngico

2.4.1 Tabla de Operacionalización de las Variables

Tabla N° 5: Variables e indicadores

VARIABLE	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA
<p>Variable Independiente Compuestos químicos de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta)</p>	Fitoquímica	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración del extracto de Palta. • Identificación de los compuestos químicos 	<ul style="list-style-type: none"> • 20 % • 50% • 100%
<p>Variable Dependiente Efecto antifúngico</p>	Microbiológica	<ul style="list-style-type: none"> • Diámetro de halo de inhibición 	<ul style="list-style-type: none"> • Milímetros de diámetro

Fuente: Elaboración propia

2.5 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- ***Persea americana***: Sánchez EF (2016) Es una especie arbórea cuyo origen se encuentra entre México y Guatemala, pertenece a las familias de las lauráceas. Se conoce como aguacate, palta, avocado o abacate, según las regiones. La palta es una fruta muy versátil, el sabor neutro favorece la afinidad de mezclas a la hora de incluirlo en una receta.³²
- ***Trichophyton rubrum***: Hernández-Salazar A, et al (2007) Es el agente causal más frecuente en tiñas del cuerpo, de la ingle, de los pies y como también de onicomicosis.³³
- **Antifúngico**: Vallejos EC (2017) Sustancias que destruyen hongos al suprimir su capacidad para crecer o reproducirse.³⁴
- **Agar Sabouraud**: Ambuludi MJ. (2015) Este medio se adapta particularmente al cultivo de la mayoría de levaduras y hongos patógenos. El medio contiene una cantidad mínima de nutrientes y un pH ácido (5,6) que lo hace selectivo.³⁵
- **Medicina tradicional o folklórica**: Quispe JS, Suazo F (2014) Es el conjunto de conocimientos y prácticas que tiene como fundamento el saber médico ancestral de la población modificado a lo largo del tiempo. Es una práctica que se transmite por la tradición familiar o comunitaria, que tienen sus propios agentes de salud y las ideas específicas sobre la enfermedad y curación.¹⁶
- **Inflorescencias**: Guadalupe A. (2012) Son conjunto de flores que se encuentran agrupadas. Existen muchas maneras de agruparse las flores, de ahí que haya muchas maneras de flores.³⁶
- **Extracto etanólico de semilla de *Persea americana***: Quispe JS, Suazo F (2014) Es el residuo seco obtenido al coleccionar las semillas de *Persea americana*, molidos y macerado en etanol 96° por 12 días, luego filtrado, y evaporado el solvente.¹⁶
- **Drupa**: Cuzcano PL (2017) En general, se denomina así a todo fruto carnoso con un hueso en su interior. Por ejemplo melocotón, ciruelo, cerezo, etc.¹⁸

- **Conidios:** Campozano NJ, et al (2014) son esporas que se encuentran en aparatos esporíferos conidiogénicos, de estas se conocen siete tipos de esporas.³⁷
- **Cotiledones:** Rengifo PG (2014) Hojas primordiales o embrionarias de las plantas con flores (fanerógamas- angiospermas), cuya función es la reserva de nutrientes para la plántula durante la germinación de la semilla.²⁵
- **Dermatofitosis:** Campozano NJ, et al (2014) La dermatofitosis cutánea son producidas por hongos llamados dermatofitos que pertenecen a tres géneros básicos: Trichophyton, Microsporum y Epidermophyton.³⁷
- **Difusión en disco:** Tapia JA (2012) El método de difusión en disco se basa en la determinación de una zona de inhibición del crecimiento que es proporcional a la sensibilidad de la bacteria frente al antimicrobiano presente en el disco.³⁸
- **Principios activos:** Villar del Fresno, AM (1999) Son sustancias puras, responsables de las acciones y efectos farmacológicos que posee la droga y por lo tanto del uso terapéutico, pudiendo servir para la producción de medicamentos. Son parcialmente estables, por lo que la mayor parte de ellos se puede encontrar en la planta fresca y en la planta desecada.³⁹
- **Escala McFarland:** Riverón E, et al (2012) Es una técnica de medición de turbidez, su utilidad es destacada para crecimiento de microorganismos como medida de la concentración celular.⁴⁰
- **Maceración:** Carrión AV, et al. (2010) Es la técnica de extracción más simple, al conjunto de droga más solvente se protege de la luz, para evitar posibles reacciones y debe agitarse continuamente.⁴¹

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo de estudio

a) Esta investigación por su alcance es de tipo:

Descriptiva: Se pretende medir y recoger información de manera independiente de las variables.

b) Esta investigación por su propósito es:

Aplicada: Este estudio se llevó a cabo de manera práctica mediante experimentos en cepas de cultivos de *Trichophyton rubrum*. Los resultados podrán tener aplicaciones beneficiosas para la salud.

c) Esta investigación por su ubicación temporal es:

Transversal: Este estudio evaluó las muestras una sola vez.

d) Planificación de toma de datos:

Prospectivo: Porque los datos se planificaron para tomarse en Enero 2018.

3.2 Nivel de investigación.

Esta investigación alcanza un nivel explicativo y descriptivo donde se identifica el efecto del extracto de Palta en muestras experimentales de cultivos antifúngicos.

3.3 Diseños de investigación.

El diseño de ésta investigación es experimental.

3.4 Población Y Muestra

3.4.1 Población

La población está constituida por las semillas de *Persea americana* provenientes del Fundo Misaray, en el mes de noviembre (2017). Distrito Luricocha, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho.

3.4.2 Muestra

La muestra es 200g de la semilla secas de *Persea americana*.

3.5 Estudio Microbiológico

3.5.1 Población

Cepas de hongos

3.5.2 Muestra

Trichophyton rubrum ATCC 10218 obtenidos del cepario del laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud.

3.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.6.1. Técnicas.

La recolección de datos de la investigación se realizó mediante la técnica de observación por la cual se registraron datos que nos permitieron desarrollar la presente investigación.

3.6.2. Instrumentos de Recolección de Datos:

El instrumento de recolección de datos que se utilizó en la presente investigación fueron fichas de observación ad-hoc elaboradas para los fines específicos de la investigación.

El instrumento que se utilizó para la recolección de datos del estudio fitoquímico fue una Ficha de Observación ad-hoc. (Anexo N°4)

Así mismo el instrumento que se utilizó para la recolección de datos para el estudio microbiológico fue una Ficha de Observación ad-hoc. (Anexo N°5)

3.6.3. Validación de Instrumentos:

El instrumento que se empleó fueron fichas de observación Ad-hoc de recolección de datos, estas fueron viables debido a su sencillez y económicas para la aplicación del investigador. Así mismo se validaron las fichas previas a su aplicación final, la cual se estableció en base a la determinación de su viabilidad, validez y confiabilidad.

La validez del contenido de las fichas de observación Ad-hoc de recolección de datos se realizó mediante la evaluación por juicio de 2 expertos (Anexo 6 y 7).

- Dra. Ruíz Sánchez, Maritza
- Mg. Muruguza López, Óscar.A

3.7 Equipos, materiales y reactivos

3.7.1 Equipos.

- Incubadora 35°C.
- Autoclave Vertical Digital.
- Potenciómetro.
- Baño María.
- Balanza analítica.
- Mechero Bunsen.
- Estufa.

3.7.2 Materiales.

- Vernier.
- Pinza punta plana.

- Placas Petri de vidrios estériles.
- Asa de Drigalsky.
- Tubos estériles con tapa rosca.
- Puntas para micropipeta de 20-200 μL y 0.5-5mL.
- Micropipetas calibradas de 20-200 μL y 0.5-5mL.
- Discos vacíos para difusión en placa.
- Frascos de vidrio de 500mL de capacidad con tapa rosca.
- Viales de vidrio.
- Fiolas de 10mL.
- Embudos de vidrio.
- Pipetas graduadas.
- Rayadores de acero inoxidable.
- Recipiente de plástico.
- Vaso precipitado de vidrio.

3.7.3 Reactivos.

- Alcohol de 96°.
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 10%.
- Reactivo de Mayer.
- Reactivo de Dragendorff.
- Reactivo de Wagner.
- Reactivo de Baljet.
- Ácido clorhídrico concentrado.
- Reactivo de Kedde.
- Reactivo de Lieberman.
- Agua destilada.
- Cloruro férrico.
- Limadura de magnesio.
- Fehling A y Fehling B.

3.7.4 Insumos.

3.7.4.1 Medios de cultivo.

- Agar Sabouraud.
- Suero fisiológico estéril (NaCl 0.9%).

3.7.4.2 Inóculo.

Solución de *Trichophyton rubrum* ATCC 10218 a una concentración de 1×10^8 unidades formadoras de colonias por cada mililitro (UFC/mL) de suero fisiológico.

3.7.4.3 Muestra.

Extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) al 100%, 50% y 20%.

3.8 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.8.1 Recolección del material botánico

Se recolectó 2Kg de paltas del fundo Misaray del distrito de Luricocha, ubicada a 2580 m.s.n.m. en la provincia de Huanta, departamento de Ayacucho. La recolección de la especie se realizó de manera aleatoria. En el mes de Noviembre del 2017.

Un ejemplar completo de la planta se llevó al Herbarium para su identificación y determinación taxonómica quedando registrado con N° 37. (Anexo N°3)

3.8.2 Obtención del extracto etanólico de semilla de *Persea americana* (palta)

La obtención del extracto etanólico de las semillas de *Persea americana* (palta), se realizó en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

2.8.3. Tratamiento del material botánico

- **Selección y lavado:** Una vez separadas las semillas del fruto de la palta, se limpiaron mecánicamente y se lavaron con abundante agua potable, para luego enjuagar con agua destilada.
- **Secado:** Con ayuda de un rallador se procede a rayar, hasta tener unas laminillas delgadas y se añaden en varias placas Petri marca pirex. Después se llevan a secar a una estufa de 40 °C por 10 días hasta peso constante.
- **Pulverización:** Con la ayuda de un mortero se procede a triturar las semillas obteniendo así muestras pulverizadas.
- **Almacenamiento:** El polvo obtenido, se guardó en un frasco de vidrio color ámbar de boca ancha.

3.8.4 Preparación del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana*

La preparación del extracto etanólico de las semillas de palta se realizó por el método de maceración, en un recipiente de vidrio ámbar de boca ancha de 3 litros de capacidad, se colocaron 200 g de polvo de palta previamente pulverizadas. Luego se añadió 1500 mL de alcohol etílico de 96°.(volumen/volumen).Se dejó en reposo por un periodo de 12 días con agitación periódica de 10 minutos, dos veces al día. Culminada el tiempo de maceración, se filtró la solución. Al líquido filtrado se le llamó extracto etanólico. Finalmente, el extracto se colocó en unas placas Petri y se llevó a la estufa a 40 °C hasta obtener un extracto seco de peso de 40g y se reconstituyeron con 80 ml de alcohol de 96° para realizar los análisis microbiológicos y la marcha fitoquímica.

3.8.5 Ensayos fitoquímicos

Marcha Fitoquímica:

Para la detección de los tipos de compuestos químicos bioactivos, se realizan las reacciones de precipitación y coloración. (Ver tabla 06) – (Anexo N°4)

3.8.6 Obtención de la cepa fúngica

La cepa de *Trichophyton rubrum* ATCC 10218, fue obtenida del cepario del laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud (INS) (Anexo N°2)

3.8.7 Tratamiento de la Muestra

Para el análisis microbiológico se usó 20 ml del extracto reconstituida con etanol de 96°. Las muestras fueron diluidas en viales de 5 mL de capacidad y se prepararon de la siguiente manera:

Muestra al 100%, se tomó 2 mL del extracto reconstituida en un vial.

Muestra al 50%, se tomó 1 mL del extracto reconstituida en un vial y se agregó 1 mL de etanol.

Muestra al 20%, se tomó 0.4 mL del extracto reconstituida en un vial y se agregó 1.6 mL de etanol.

Se utilizó discos vacíos para difusión en placa, los cuales se embebieron con las distintas diluciones de la muestra a analizar. Para cada dilución se usó tres discos.

La cantidad de muestra agregada a los discos fue de 100µL.

También se agregó etanol 96° en tres discos para utilizarlos como control negativo.

3.8.8 DESARROLLO DEL MÉTODO:

3.8.8.1 Preparación del Agar Sabouraud:

El agar Sabouraud se preparó con agua destilada de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Autoclavar el agar a 121°C y 15 lb/pg² durante 15 minutos. Inmediatamente después de autoclavar dejar enfriar en Baño María entre 45 y 50°C. Una vez temperado verter el preparado fresco y tibio a placas petri de vidrios estériles, para conceder un fondo uniforme de más o menos 4 mm. Esto proporciona de 25- 30 ml para placas de 100 mm de diámetro. El medio de agar debe dejarse enfriar a temperatura ambiente. El pH de cada lote de agar Sabouraud debe tener un pH entre 5,5 - 5,6. Esta medición puede realizarse sumergiendo el bulbo del electrodo del potenciómetro en el agar antes de autoclavar.

3.8.8.2 Preparación de los inóculos bacterianos:

A partir de colonias puras del microorganismo *Trichophyton rubrum* tomar una cierta cantidad de colonias y diluirlas en un tubo de ensayo conteniendo 10 mL de suero fisiológico (cloruro de sodio 0.9%) de tal manera que la solución resultante tenga una turbidez muy similar al tubo N°1 de la escala de MacFarland, el cual concierne a una concentración de 3×10^8 ufc/mL.

A partir de esta última solución realizar una dilución de 1 en 3, para ello de ésta solución preparada tomar 3 mL y diluirlo a un volumen total de 9 mL con suero fisiológico en un tubo con tapa rosca. Todos los materiales usados deben ser estériles y también el área de trabajo. La solución resultante tendrá una concentración de 1×10^8 ufc/mL.

3.8.8.3 Inoculación de las placas:

Agregar 100 uL del inóculo bacteriano preparado (1×10^8 ufc/mL) a cada una de las placas y con la ayuda de una espátula de Drigalsky esparcir el inóculo por toda la placa de tal manera que se obtenga un crecimiento homogéneo, para lo cual se desliza el asa en la placa en forma paralela y bien compacta abarcando toda la superficie de la misma. Luego se repite el procedimiento rotando la placa 60° en dos oportunidades más. Deben extremarse los cuidados en sembrar las placas de borde a borde, porque de lo contrario puede haber problemas en la realización de las lecturas. Antes de colocar los discos, dejamos secar de 3 a 5 minutos.

3.8.8.4 Preparación de los discos de antibióticos:

El control positivo se realizó a partir de tabletas de Terbinafina 250 mg, se preparó una solución de 0.3 mg/mL y de ésta se agregó 20 uL a tres discos vacíos.

3.8.8.5 Aplicación de los discos a las placas inoculadas:

Para la aplicación de los discos se emplearon los dispensadores o pinzas estériles. Luego de estar sobre el agar se deben someter los discos levemente para que queden adheridos al mismo. Tienen que estar a más de 15 mm del límite de la placa y deben distribuirse de tal manera que no haya superposición de los halos de inhibición. Los discos de antibióticos se colocaron de la siguiente manera:

Tres discos del antibiótico en una placa inoculada con un microorganismo de tal manera que se obtengan resultados por triplicado.

Luego de colocados los discos la placa debe incubarse a 25°C durante 7 días. Para evitar la contaminación las placas deben colocarse dentro de una bolsa.

Los discos con la muestra fueron colocados de manera similar, tres discos por cada placa, estos también se incubaron a 25°C durante 7 días.

3.8.8.6 Interpretación de los resultados

Después de 7 días de incubación, cada placa es examinada. Las zonas de inhibición resultantes tienen que ser uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento. Los diámetros de la zona de inhibición completa son medidos en milímetros atravesando por el centro del disco. La medición se realiza con un vernier digital. Los valores de las mediciones por triplicado deben promediarse y compararse con las medidas de los halos de inhibición producidos por los antimicóticos. (Ver tabla N°7) - (Anexo N°5)

CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 Presentación de resultados

En la tabla N°6 se aprecia que la semilla de *Persea americana* (palta) contiene fundamentalmente taninos, saponinas, fenoles y azúcares reductores

Tabla N° 6: Análisis fitoquímico de la semilla de *Persea americana* (palta)

TUBOS	COMPUESTO QUÍMICO	ENSAYO	RESULTADO
1	ANTOCIANINAS	Reacción con H ₂ SO ₄ 10%	-
2	ALCALOIDES	Reacción de Mayer	-
3		Reacción de Dragendorff	-
4		Reacción de Wagner	-
5	LACTONAS	Reacción de Baljet	+
6	FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	-
7	CÁRDENOLIDOS	Reacción de Kedde	-
8	ESTEROIDES	Reacción de Lieberman Burchad	-
9	SAPONINAS	Reacción de espuma	+++

10	TANINOS	Reacción de Cloruro Férrico	+++
11	AZÚCARES REDUCTORES	Reacción de Fehling	+++
12	FENOLES	Reacción de Cloruro Férrico	+++

Fuente: Elaboración propia

Leyenda:

+++ : Reacción muy evidente

++ : Reacción evidente

+ : Reacción poco evidente

- : No hubo reacción

Los resultados de la actividad antifúngica de los extractos etanólicos se presenta en la tabla N°7.

En ésta tabla (tabla N°7) se observa que a la concentración del 100% del extracto etanólico de la semilla de palta tiene un mayor halo de inhibición

Tabla N° 7: Análisis microbiológico de la semilla de *Persea americana* (palta)

EFECTO ANTIFÚNGICO CONTRA <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 10218 POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR CON DISCOS					
N° DE PLACA	CONCENTRACION (%)DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE <i>Persea americana</i> (Palta)			CONTROLES	
				Terbinafina µg	Etanol 96°
	LONGITUD DEL HALO DE INHIBICION (mm)				
	20%	50%	100%	6 µg	100µl
1	24.12	-	-	-	-
	23.73				
	23.04				
2	-	26.94	-	-	-
		25.00			
		23.13			
3	-	-	30.53	-	-
			29.46		
			28.30		
4	-	-	-	100	-
				100	
				100	
5	-	-	-	-	0
					0
					0

Fuente: Elaboración propia

Se realizó el análisis estadístico descriptivo, cuyos resultados se muestran en la (Tabla N°8). Podemos observar el promedio de los halos de inhibición de cada extracto etanólico, la desviación estándar y los límites superior e inferior. Los halos de inhibición encontrados en el extracto etanólico de la semilla de palta al 50% difieren entre sí, es por ello que presenta la mayor desviación estándar.

Tabla N° 8: Estadística Descriptiva para los halos obtenidos de cada tratamiento aplicado

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1	3	29,4300	1,11530	,64392	26,6594	32,2006	28,30	30,53
2	3	25,0233	1,90511	1,09991	20,2908	29,7559	23,13	26,94
3	3	23,6300	,54690	,31575	22,2714	24,9886	23,04	24,12
4	3	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
Total	12	19,5208	12,02118	3,47022	11,8829	27,1587	,00	30,53

Leyenda:

1. Extracto Etanólico al 100%
2. Extracto Etanólico al 50%
3. Extracto Etanólico al 20%
4. Control negativo (Alcohol de 96°)

La prueba de homogeneidad de varianzas (Tabla N°9) nos permite determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente, depende de ello para determinar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicado. Observamos que $p > 0.05$, por lo tanto, se concluye que las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneas, aceptando la hipótesis alternativa.

Tabla N° 9: Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
2,160	3	8	,171

Dónde:

H_0 = Las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneos ($P < 0.05$)

H_1 = Las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneos ($P > 0.05$)

La prueba ANOVA (Tabla N°10) permite conocer si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de cada uno de ellos. Al observar el resultado ($P < 0.05$) se considera la hipótesis alternativa, es decir, existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados.

Tabla N° 10: ANOVA de un factor

	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1579,252	3	526,417	407,094	,000
Dentro de grupos	10,345	8	1,293		
Total	1589,597	11			

Dónde:

H_0 = No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0.05$)

H_1 = Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0.05$)

La prueba de TUKEY (Tabla N°11) es una prueba estadística que nos permite realizar comparaciones múltiples y además determina que medias son estadísticamente homogéneas. En el cuadro adjunto observamos que existen diferencias significativas entre los extractos etanólicos de diferentes concentraciones. Por ello se debe aplicar la prueba de Subconjuntos de TUKEY para identificar las diferencias antes mencionadas.

Tabla N° 11: Comparaciones múltiples (variable dependiente: longitud)

(I) CONCENT RACION	(J) CONCENTRACION	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
1	2	5,80000*	,92848	,001	2,8267	8,7733
	3	4,40667*	,92848	,006	1,4334	7,3800
	4	29,43000*	,92848	,000	26,4567	32,4033
2	1	-5,80000*	,92848	,001	-8,7733	-2,8267
	3	-1,39333	,92848	,480	-4,3666	1,5800
	4	25,02333*	,92848	,000	22,0500	27,9966
3	1	-4,40667*	,92848	,006	-7,3800	-1,4334
	2	1,39333	,92848	,480	-1,5800	4,3666
	4	23,63000*	,92848	,000	20,6567	26,6033
4	1	-29,43000*	,92848	,000	-32,4033	-26,4567
	2	-25,02333*	,92848	,000	-27,9966	-22,0500
	3	-23,63000*	,92848	,000	-26,6033	-20,6567

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Leyenda:

1. Extracto Etanólico al 100%
2. Extracto Etanólico al 50%
3. Extracto Etanólico al 20%
4. Control negativo (Alcohol de 96°)

En la tabla N°12 podemos observar que el extracto etanólico de palta al 50% es homogéneo con el extracto etanólico al 20%, es decir no existen diferencias significativas entre ellos, por ende presentan el mismo efecto antifúngico frente a *Trichophyton rubrum*. El extracto etanólico al 100% presenta diferencias significativas con las distintas concentraciones, por ende presenta el mejor efecto antifúngico.

Tabla N° 12: Prueba de Subconjuntos de Tukey

CONCENTRACION	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
4	3	,0000		
3	3		23,6300	
2	3		25,0233	
1	3			29,4300
Sig.		1,000	,480	1,000

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

Leyenda:

1. Extracto Etanólico al 100%
2. Extracto Etanólico al 50%
3. Extracto Etanólico al 20%
4. Control negativo (Alcohol de 96°)

4.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

En la investigación sobre el efecto antifúngico del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta), se encontró que la concentración etanólico al 100% tiene mayor efecto antifúngico en *Trichophyton rubrum*, en comparación a las concentraciones de 50% y 20%. Según los resultados de ANOVA y TUKEY indican que si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de cada uno de ellos. Por otro lado, en la investigación de Chunga AM, encontró que el aceite de la semilla de palta presenta un efecto antimicótico contra la *Cándida albicans* evidenciando un halo de inhibición de 20mm por la presencia de ácido oleico en la semilla. Por tanto, el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) tiene efecto antifúngico.¹⁰

En éste estudio se encontró que el extracto etanólico de la semilla de palta al 50% es homogéneo con el extracto etanólico al 20%, es decir no existen diferencias significativas entre ellos, por ende presentan el mismo efecto antifúngico frente a *Trichophyton rubrum*. Este análisis se determinó con la ayuda de la Prueba de Subconjuntos de Tukey, sin embargo el extracto etanólico al 100% presenta diferencias significativas con las otras concentraciones (50 y 20%). Además, es la concentración que tiene mejor efecto antifúngico. Sánchez EF. en su estudio del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, determinó mediante el análisis estadístico, que existen diferencias significativas en las concentraciones de 10%, 25%, 50% y 100%. Por consiguiente a diferentes concentraciones presenta efecto antibacteriano “in vitro” sobre *Enterococcus faecalis*.⁴¹

En el estudio realizado mediante la marcha fitoquímica del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) se evidencia la presencia de los compuestos químicos como: taninos, compuestos fenólicos, azúcares reductores y saponinas en grandes cantidades (Tabla N° 6). Quispe JA, Suazo F (2014). reportaron que la semilla de *Persea americana* (palta) presenta una elevada concentración de compuestos químicos como saponinas, taninos y fenoles en comparación a los otros compuestos.¹⁵

En el estudio de la semilla de ***Persea americana*** (palta) se observa en la marcha fitoquímica mayor presencia de compuestos fenólicos y taninos, estos son los compuestos químicos que tienen la actividad antifúngica. Kuklinski C, en su libro “Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural” menciona que el efecto antifúngico se debe a la presencia de los Taninos.²⁶ La Rosa S. en su investigación de la obtención de extractos fenólicos de *Theobroma cacao L.* con actividad antifúngica y antioxidante, reafirma que la presencia de los compuestos fenólicos poseen mayor efecto antifúngico.⁴²

Cabrera J, et al. (2015), determinó el efecto antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de la semilla de ***Persea americana Miller*** (palta) de Cajamarca. Mediante el método de Kirby bauer, en discos embebidos con 10, 50, y 100µg /mL del extracto etanólico y grupos controles compuestos por discos con 5 µg de ciprofloxacino para la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 y 2 µg de clindamicina para la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Después de medir, observar y analizar los halos de inhibición producido sobre las cepas en estudio, se finaliza que el efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en la concentración del 100% obtiene un halo de inhibición de (28 mm) .⁷ Por lo mencionado, se puede afirmar que el extracto etanólico de la semilla de ***Persea americana*** (palta) presenta efecto antifúngico “In vitro” sobre *Trichophyton rubrum* y que a mayor concentración del extracto etanólico mayor será el halo de inhibición debido al mayor efecto antifúngico.

CAPITULO V.CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en la presente investigación se puede concluir que:

1. El ensayo fitoquímico del extracto etanólico de la semilla de ***Persea americana*** (palta) determinó la presencia de taninos (+++), compuestos fenólicos (+++), saponinas (+++) y azúcares reductores (+++) siendo estos compuestos químicos bioactivos con mayor presencia.
2. El extracto etanólico de la semilla de ***Persea americana*** (palta) tiene efecto antifúngico. Al probar varias concentraciones se ha demostrado que la concentración al 100 por ciento presenta mayor efecto en comparación con las otras concentraciones al 50 y 20 por ciento "In vitro" en cepas de *Trichophyton rubrum*.

5.2 RECOMENDACIONES

1. Realizar ensayos microbiológicos con otros tipos de extractos (oleoso, acuoso) y/o solventes (agua, éter) de la semilla de ***Persea americana*** (palta).
2. Desarrollar en posteriores estudios la cuantificación de los compuestos químicos encontrados en el extracto etanólico de la semilla de ***Persea americana***.
3. Realizar con los estudios del extracto etanólico de la semilla de ***Persea americana*** (palta), elaborando una crema natural (fitofármaco) a base de la palta. Realizando ensayos In vitro, para posteriormente trabajar In vivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. Vega PC. Uso de las plantas con propiedades medicinales en la comunidad del Cantón Yacuambi durante el periodo julio / diciembre 2011. [Tesis de grado]. Ecuador: Universidad Técnica Particular de Loja Ecuador; 2013.
2. López M. Manual de plantas medicinales para Guinea ecuatorial. publicación: Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID) - Edita y distribuye: Fundación de Religiosos para la Salud (FRS).1ra edición. Ecuador. Mayo. 2012.
3. Parada CZ. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de las hojas de Jarilla frente a cepas de tiña capitis- Juliaca Noviembre 2014 a Febrero 2015. [Tesis de grado].Juliaca-Perú: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez; 2015.
4. Sánchez L, Rebeca M, Héctor. Infecciones micóticas superficiales. Dermatología Peruana 2009; 19(3).
5. Alcalá M,et al. Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (Muña) comparado con el Fluconazol en cultivo de *candida albicans*.Rev.CIMEL.2011; 16(2):83-86.
6. Soto HM. Efecto antibacteriano y antifúngico comparativo de los extractos acuosos del *zea mays L.* (maíz morado), *Rubus glaucus* (mora andina);*Opuntia soherensii* (ayrampo) y Diseño de un gel de limpieza cutánea.[Tesis de grado]. Lima – Perú: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.

7. Cabrera J, Dilas L, Minchán P. Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana miller var. hass* “palta”. Rev. Perspectiva. 2015; 16(18): 209-219.
8. Simbaña VR. Incidencia de trichophyton rubrum en lesiones de pie en pacientes que concurren al centro materno infantil en el período marzo – septiembre 2013. [Tesis de grado].Ecuador: Universidad técnica de Ambato; 2014.
9. Escobar ML, Pinto J, Zabalaga S, Escalante A, Bustamante Z. Evaluación de la actividad antidiarreica y antibacteriana de los extractos de la semilla de palto (*Persea americana*) y buganvilla (*Bougainvillea glabra*).Biofarbo.2010; 18(2):53 – 60.
- 10.Chunga AM. Determinación de la acción antimicótica in vitro de un gel elaborado a partir del aloe vera y *Persea americana* en la universidad de Guayaquil, facultad de ciencias químicas. Guayaquil. [tesis de grado].Guayaquil: Universidad de Guayaquil; 2014.
- 11.Agapito, T. Sung,I. Fitomedicina 1100 Plantas Medicinales. Lima –Perú: Edit Isabel: tomo I; 2000.
- 12.Cruz D, López VN.Plantas medicinales (OMS).
http://www.sgpwe.izt.uam.mx/files/users/.../Plantas_medicinales_Seminario_Final_Silva_Nataly.pdf:2017-11-18
- 13.Santamaría EJ. Comparación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Malva (*Malva sylvestris L.*) y Aguacate (*P.americana*) En ratones (*Mus musculus*). [Tesis de grado]. Riobamba – Ecuador: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Superior de Chimborazo; 2013.
- 14.Fitomedicina.<https://www.blogdefarmacia.com/Suplementos:2017-11-18>
- 15.Cea de Amaya, R. Célula Inventa Química y Farmacia. Fitofármacos.
<http://www.dbbe.fcen,uba.ar/contenido/objetos/Cea2013.pdf>: 2017-11-18
- 16.Quispe JS, Suazo F. Efecto anticonceptivo del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (*Palta*) en ratones hembras durante el periodo Enero- Marzo

2014. [Tesis de grado]. Lima – Perú: Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
17. Guasgua JM. Efecto inhibitorio de los extractos de arrayán (*myrcianthes halli*) y aguacate (*Persea americana*) sobre la cepa porphyromona gingivalis. estudio in vitro. [Tesis de grado]. Quito: Universidad Central del Ecuador Facultad de Odontología Carrera de odontología; Enero 2017.
18. Cuzcano PL. Efecto del extracto etanólico de la semilla *Persea americana*- Variedad fuerte, sobre la fertilidad en ratas Rattus Norvegicus Arequipa Julio 2016- Enero 2017. [Tesis de grado]. Arequipa – Perú: Facultad de Obstetricia y Puericultura, Universidad Católica de Santa María; 2017.
19. Rojas R. Estudio de la actividad antifúngica de cubiertas comestibles en Ensayos in vitro e in situ sobre Aguacate Hass. [Tesis de grado]. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2008.
20. Monografía de cultivos. Aguacate. Subsecretaría de fomentos a los agronegocios. 2011.
www.gobiernofederal.gob.mx/www.sagarpa.gob.mx.pdf:2017-11-09
21. Boletín mensual Insumos y Factores Asociados a la Producción Agropecuaria. El cultivo del aguacate (*Persea americana Miller.*), fruta de extraordinarias propiedades alimenticias, curativas e industriales (Primera parte). Rev. Todos por un Nuevo País. 2015; 40:1-15.
22. Sánchez YC. Efecto de la aplicación de coberturas biodegradables y la temperatura sobre el color, firmeza, pérdida de peso y la aceptabilidad general en la Palta (*Persea americana Mill*) Variedad fuerte, durante el almacenamiento. [Tesis de grado]. Trujillo – Perú: Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Privada Antenor Orrego; 2014.
23. Vera YC. Estudio de la dispepsia y del grado de conocimiento sobre el uso terapéutico de la semilla de Aguacate para esta patología, en estudiantes de 18 a 25 años de la universidad técnica de Babahoyo. [Tesis de grado]. Guayaquil – Ecuador: Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil; 2015.

24. Jiménez MM, Lazo EA. Determinación de taninos en epicarpio de *Persea americana* G.(Aguacate), corteza de *Psidium guajava* L.(Guayabo) y semillas de *Vitis vinífera* DC.(Vid). [Tesis de grado]. San Salvador – Centro América: Facultad de Química y Farmacia, Universidad de el Salvador; 2005.
25. Rengifo PG. Caracterización del aceite de la semilla de palta *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte y medición de su actividad antioxidante. [Tesis doctoral]. Lima – Perú: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
26. Kuklinski Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. edi. omega; 2000.
27. Dueñas JC. Extracción y caracterización de principios activos de estructura fenólica con propiedades antioxidantes y antibacterianas, a partir de residuos del procesamiento de alcachofas. [Tesis de grado]. Sangolqui: Facultad de Ingeniería en Biotecnología; 2009.
28. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Rang y Dale Farmacología. 7^a. edición. el sewer; 2012.
29. Jawetz, Helnick, Adelberg. Microbiología médica. 15^a. edi. Mexico: El manual moderno; 1997.
30. Flórez J, Armijo J.A, Mediavilla A. Farmacología humana 3^a .edi. Barcelona: Masson, S.A; 1997.
31. García LB. Levaduras asociadas a infecciones nosocomiales y su sensibilidad a los azoles. [Tesis de grado]. Toluca – México: Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México; 2014.
32. Sánchez EF. “Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC29212”. [Tesis maestría]. Trujillo – Perú: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
33. Hernández-Salazar A, et al. Dermatofitosis por *Trichophyton rubrum*. Experiencia de 10 años (1996-2005) en un servicio de dermatología de un hospital general de la ciudad de México. Rev. Iberoan Micol 2007; 24:122-124.

34. Vallejos EC. Efecto antifúngico in vitro del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* "**Romero**" contra *Candida albicans*. [Tesis de grado]. Lambayeque – Perú: Facultad de Ciencias de la Salud en Estomatología, Universidad Señor de Sipán; 2017.
35. Ambulidi M J. Identificación de dermatofitos presentes en uñas de pies mediante examen directo y cultivo micótico en agar sabouraud y agar papa en ganaderos del cantón celica. [Tesis de grado]. Loja – Ecuador: Facultad laboratorio clínico, universidad Nacional de Loja; 2015.
36. Guadalupe A. Estructura y desarrollo de las inflorescencias de especies de *Abildgaardia*, *Bulbostylis* y *Fimbristylis* (Cyperaceae, Cyperoideae, Abildgaardieae). [Tesis doctoral]. Argentina: Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad nacional del litoral; 2012.
37. Campozano N J, Heras VA. Determinación de la prevalencia de dermatofitosis en los niños de la Escuela de Educación General Básica "Padre Juan Bautista Aguirre" de la parroquia Miraflores de la ciudad de Cuenca. [Tesis de grado]. Cuenca: facultad de Ciencias Químicas, universidad de Cuenca; 2014.
38. Tapia JA. Determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólico y subextractos clorofórmico y etéreo de *Senna multijuga*, *Tagetes zipaquirensis*, y *Coursetia dubia*. [Tesis de grado]. Riobamba – Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias escuela de bioquímica y farmacia; 2012.
39. Villar del Fresno, AM. Farmacognosia General. Vallehermoso – Madrid: Editorial Síntesis, S.A; 1999.
40. Riveron E, et al. Estación de trabajo para el estudio de la cinética de crecimiento de *Escherichia coli* mediante el método de turbidez. Revista CENIC Ciencias Biológicas. 2012; Vol. 43(2).
41. Carrión AV, García CR. Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de métodos. [Tesis de grado]. Cuenca – Ecuador: Universidad de Cuenca facultad de ciencias químicas; 2010.
42. Olga Lock de Ugaz. Investigación Fitoquímica. Método en el estudio de productos naturales. 2da ed. Lima-Pontificia Universidad Católica del Perú 1994. pp.5-7.

43. Cavalieri, Stephen, y col. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. [Internet]. Seattle, Washington; 2005 [citado el 27 enero 2018].242p. Disponible en:http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=22691&Itemid=270
44. La Rosa S. Obtención de extractos fenólicos de Theobroma cacao L. con actividad antifúngica y antioxidante. [Tesis de grado]. Santa Clara – Facultad de ciencias agropecuarias; 2015.

ANEXOS

Anexo N°1: Matriz de Consistencia

Efecto antifúngico del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) en cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> , in vitro						
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		METODOLOGIA	INTRUMENTOS
			VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES	ENFOQUE	
¿El extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) presentará efecto antifúngico en cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ?	Determinar si el extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) presenta efecto antifúngico en cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> .	El extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) presenta efecto antifúngico en cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> .	Compuestos químicos de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta)	Concentración 20% Concentración 50% Concentración 100% Presencia de compuestos químicos	Cuantitativo	Instrumento a ser empleado será una ficha de observación Ad-hoc, elaborado por el investigador y debidamente validado, para los fines específicos del estudio.
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADORES	NIVEL	TÉCNICAS
¿Qué tipos de compuestos químicos bioactivos presenta el extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta)? ¿En qué concentración el extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) presenta efecto antifúngico en cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> ?	Identificar algunos tipos de compuestos químicos bioactivos en el extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta). Determinar la concentración del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) que presenta efecto antifúngico en cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> .	Existen algunos tipos de compuestos químicos bioactivos en el extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta). Existe una concentración del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) que presenta efecto antifúngico en cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> .	Efecto antifúngico	Microbiológica • Diámetro de halo de inhibición	Explicativo - Descriptivo DISEÑO Experimental TIPO: Por su alcance: Descriptiva Por su propósito: Aplicada Por su ubicación temporal: Transversal Planificación de toma de datos: Prospectivo	Técnica de observación estructurada. Técnica de procesamiento de datos: SPSS ver.22

Anexo N° 2: Documento presentado al INS para donación de la cepa



Universidad
Inca Garcilaso de la Vega

Nuevos Tiempos. Nuevas Ideas

Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

Pueblo Libre, 05 de Diciembre 2017

Carta N° 277- D/FCsFB-2017

SEÑOR DOCTOR
CESAR CABEZAS SANCHEZ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
Presente.-

De mi consideración:

Es grato dirigirme a usted con la finalidad de saludarlo y, a la vez, presentarle a la Srta. **MARIELA MISARAY MONTES** y **MAYTE CANAZA LARICO**; Bachilleres de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas Y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, quienes solicitan la colaboración mediante la donación de las Cepas de *Trichophyton rubrum* para realizar su trabajo de Investigación de Tesis, para optar el Título Profesional con la realización de la Tesis Titulada: "**Efecto Antifungico del Extracto Etanólico de la semilla de *Persea americana* (Palta) de la Cepa *Trichophyton rubrum in vitro*".**


Agradeciendo anticipadamente su apreciada colaboración, hago propicia la oportunidad para expresar los sentimientos de mi especial consideración y estima personal.

Cordialmente

JAT/ym.

H.T. 785082.
Comunicarse al
Telf. 925925581-980642919.
Correo: Mariela_lala@hotmail.com,
mayteci89@hotmail.com.




Dr. Jaime Aliaga Tovar
DECANO (e)
Facultad de Ciencias Farmacéuticas y
Bioquímica

Av. Bolívar 165 - Pueblo Libre
Teléfonos: 463-0000
E-mail: farmacia@uigv.edu.pe
Página Web: www.uigv.edu.pe

Anexo N° 3: Certificación botánica de *Persea americana*

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

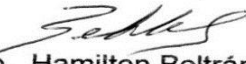
CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "PALTA" proporcionada por las Srtas. MISARAY MONTES MARIELA y CANAZA LARICO MAYTE, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Persea americana* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Magnoliidae
Orden: Laurales
Familia: Lauraceae
Genero: *Persea*
Especie: *Persea americana* Mill.

Se expide la presente certificación a solicitud de las interesadas para los fines que estime conveniente.

Lima, 08 noviembre 2017


Blgo. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilmer Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
CBP. 2719



Anexo N° 4: Instrumento de Recolección de Datos

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

FICHA DE OBSERVACIÓN AD – HOC DE SCREENING FITOQUÍMICO

EFFECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Persea americana*
(PALTA) EN CEPAS DE *Trichophyton rubrum*, IN VITRO

INSTRUCCIONES

Antes de iniciar con la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático. Si se siente cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación. Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad. En el caso de no tener certeza sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación. Registre los datos sin borrones ni enmendaduras. Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea.

SCREENING FITOQUÍMICO

	REACTIVO	DEMOSTRACION	IDENTIFICACION	RESULTADOS
IDENTIFICACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES	Fehling A + Fehling B	2 mL extracto + 5 gotas de Fehling A + Fehling B, agitar luego llevamos a baño maría por 10 minutos.	Formación de un precipitado anaranjado rojizo	
IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS	FeCl ₃	2 mL extracto + 5 gotas del reactivo	Precipitación azul oscuro o verde oscuro	
IDENTIFICACIÓN DE TANINOS	FeCl ₃	2 mL de extracto + 5 gotas del reactivo	Cambio de coloración de amarillo a azul oscuro	

IDENTIFICACIÓN SAPONINAS	H ₂ O	2 mL extracto + 1mL de H ₂ O destilada caliente agitación por 2 minutos	Forma espuma	
IDENTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	2 mL de extracto + limadura de magnesio + 1° gotas de HCl (agitar)	Cambio de coloración a naranja, rojo o violeta	
IDENTIFICACIÓN DE ANTOCIANINA	Reacción con H ₂ SO ₄ al 10%	2mL de extracto + 6 gotas de H ₂ SO ₄ al 10%	Cambio de coloración rojo naranja	
IDENTIFICACIÓN DE LACTONAS	Reacción de Baljet	2 mL de extracto + 4 gotas de reactivo	Cambio de coloración a color naranja o rojo oscuro	
IDENTIFICACIÓN DE CARDENÓLIDO	Reacción de Kedde	2 mL de extracto + 2 gotas de reactivo	Cambio de coloración a azul o violeta	
IDENTIFICACIÓN DE ESTEROIDES	Reacción de Lieberman Burchad	2 mL de extracto + 4 gotas de reactivo	Cambio de coloración azul, verde o rojo	
IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES	Dragendorff	2 mL extracto + 3 gotas del reactivo	Precipitado color rojo marrón	
	Reactivo de mayer	2 mL extracto + 3 gotas del reactivo	Precipitado color blanco lechoso	
	Reactivo de wagner	2 mL extracto + 3 gotas del reactivo	Precipitado color marrón	

Leyenda: (++) Moderado,(+++) Abundante,(-) Ausente



Anexo N° 5: Instrumento de Recolección de Datos.

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFFECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO ETÁNOLICO DE LA SEMILLA DE *Persea americana* (PALTA) EN
CEPAS DE *Trichophyton rubrum*, IN VITRO

INSTRUCCIONES

Antes de iniciar con la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático.

Si se siente cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación.

Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad.

En el caso de no tener certeza sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación.

Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.

Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea.

EFFECTO ANTIFÚNGICO CONTRA <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 10218 POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR CON DISCOS					
N° DE PLACA	CONCENTRACIÓN(%)DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE <i>Persea americana</i> (Palta)			CONTROLES	
				Terbinafina µg	Etanol 96°
	LONGITUD DEL HALO DE INHIBICION (mm)				
	20%	50%	100%	6 µg	100µl
1					
2					
3					
4					
5					

Anexo Nº 6: Juicio de expertos.

Ficha de Validación por Juicio de Expertos.



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS
Y BIOQUÍMICA

Nº:

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFFECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO ETÁNOLICO DE LA SEMILLA DE *Persea americana* (palta) EN *TRICHOPHYTON RUBRUM*, IN VITRO

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

- | | MENOS DE | | | | | |
|--|----------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| 1. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograrán los objetivos propuestos?..... | () | () | () | () | () | (X) |
| 2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidas a los conceptos del tema?..... | () | () | () | () | () | (X) |
| 3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?..... | () | () | () | () | () | (X) |
| 4. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?..... | () | () | () | () | () | (X) |
| 5. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?..... | () | () | () | () | () | (X) |
| 6. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrían datos similares si se aplicara en otras muestras?..... | () | () | () | () | () | (X) |

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?

.....
.....

2. ¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?

.....
.....

3. ¿Qué ítems considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....
.....

Fecha: 4 Abril 2018

Validado por: Dra. Maritza Galve Ruiz Sandoval

Firma:

Anexo N° 7: Juicio de expertos.

Ficha de Validación por Juicio de Expertos.



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS
Y BIOQUÍMICA

N°:

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFFECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO ETÁNOLICO DE LA SEMILLA DE *Persea americana* (palta) EN *TRICHOPHYTON RUBRUM*, IN VITRO

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	MENOS DE					
	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograrán los objetivos propuestos?.....	()	()	()	()	(x)	()
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidas a los conceptos del tema?.....	()	()	()	()	()	(x)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?.....	()	()	()	()	()	(x)
4. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?.....	()	()	()	()	(x)	()
5. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?.....	()	()	()	()	(x)	()
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrían datos similares si se aplicara en otras muestras?.....	()	()	()	()	()	(x)

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?

..... *Ninguna*

2. ¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?

..... *Ninguna*

3. ¿Qué ítems considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

..... *Longitud del halo de inhibición (mm)*

Fecha: *06/04/18*

Validado por: *M. Oscar Alberto Murguruzá López*

Firma:



OSCAR A. MUGURUZA LÓPEZ
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C.Q.F.P. 06288

Anexo N° 8: Materia prima



Figura N° 2: Recolección de la semilla de *Persea americana* (palta)

Anexo N° 9: Selección y procesamiento de la semilla de *Persea americana*



Figura N° 3: Selección y lavado de las semillas de *Persea americana* con agua potable.



Figura N°4: Enjuague de las semillas con agua destilada, y rallado de las Semillas.



Figura N°5: Semillas de palta ralladas. Secado de las semillas a 40°C por 10 días.



Figura N° 6: Semillas después de 10 días, y trituración de la semilla de palta

Anexo N° 10: Preparación del macerado del extracto etanólico de la Semilla de *Persea americana* (alcohol 96°)



Figura N° 7: Agregando 200g de muestra y 1500 mL de etanol de 96°



Figura N° 8: Agitación del extracto etanólico, pasado los 12 días de almacenar el extracto se procede a filtrar.



Figura N° 9: Secado del extracto etanólico en la estufa de 40°C

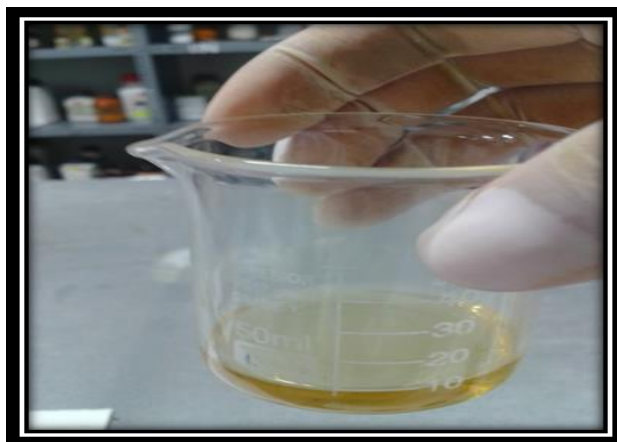


Figura N° 10: Extracto reconstituida para la marcha fitoquímica

Anexo N° 11: Preparación de la marcha fitoquímica

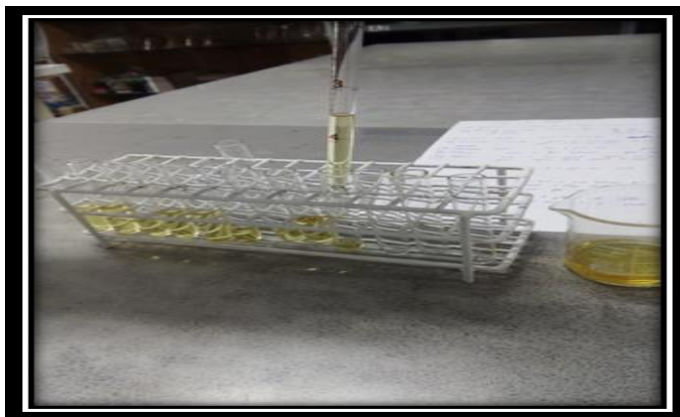


Figura N° 11: Agregando 2mL del extracto etanólico a cada tubo de ensayo

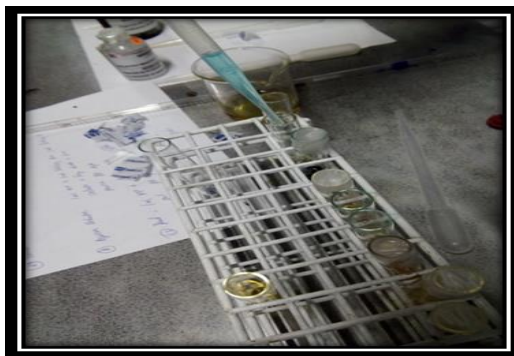


Figura N° 12: Agregando los reactivos a cada tubo de *ensayo*.



Figura N° 13: Agitando las muestras para determinar presencia de compuestos químicos.

Anexo N° 12: Evaluación antifúngico del extracto etanólico de la semilla de palta

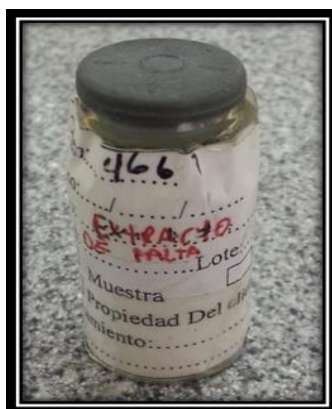


Figura N° 14: Extracto de la semilla de palta



Figura N° 15: Preparación de las diluciones del extracto etanólico al 100,50 y 20%.



Figura N° 16: Control positivo Terbinafina 300µg/mL

Anexo N°13: Aplicación de los discos a las placas inoculadas



Figura N° 17: Colocando los discos en placa ya inoculada.



Figura N° 18: Agregando 100µl a los discos inoculados en las placas.



Figura N° 19: Placas inoculadas con los extractos etanólicos y el control positivo.

Anexo N°14: Resultados de los análisis



Figura N° 20: Blanco (solo alcohol). No presenta crecimiento de halo de inhibición.

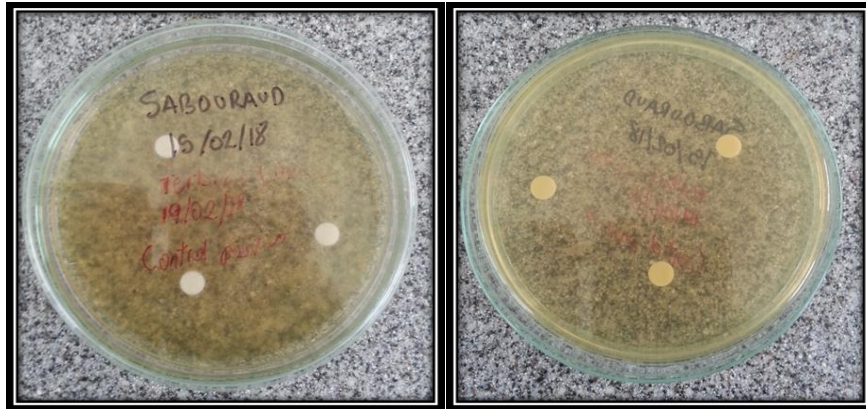


Figura N° 21: Control positivo. No hubo crecimiento. Vista anterior y vista posterior.

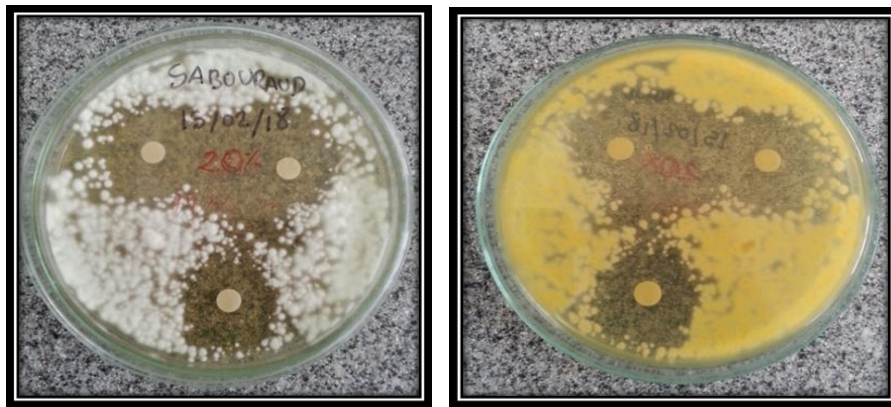


Figura N° 22: Dilución 20%. Halos de inhibición. Disco 1. 24,12mm. Disco 2. 23,73mm. Disco 3. 23,04mm. Vista anterior y posterior.

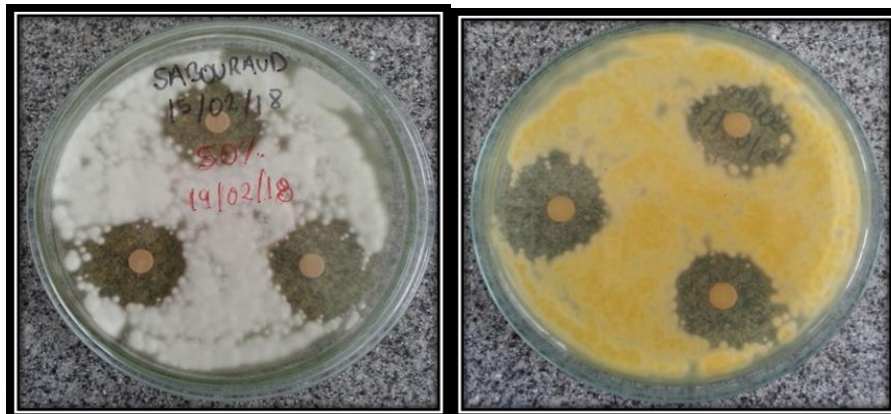


Figura N° 23: Dilución 50%. Halos de inhibición. Disco 1. 26,94mm. Disco 2. 25,00mm. Disco 3. 23,13mm. Vista anterior y posterior.

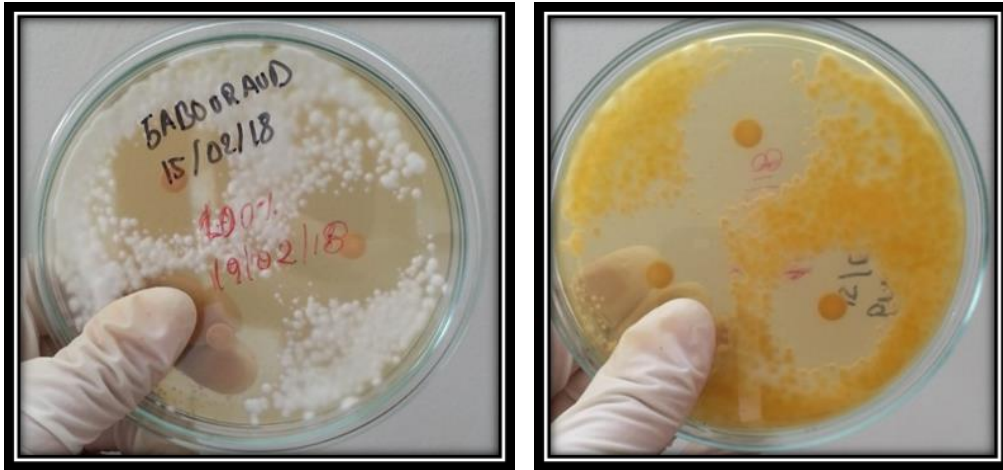


Figura N° 24: Dilución 100%. Halos de inhibición. Disco 1.30, 53mm. Disco 2. 29,46mm. Disco 3.28, 30mm. Vista anterior y posterior.



Figura N° 25: Laboratorio de Farmacognosia y microbiología