

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**“EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE ACÍBAR DEL *Aloe Vera* (L) Burn.
(Sábila) Y SU EFECTO ANTIFÚNGICO SOBRE CULTIVOS DE *Trichophyton
rubrum* ESTUDIOS IN VITRO”**

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

TESISTAS:

Bach. DENISSE MARIELA SARAIVA MENDOZA

Bach. FRANK ERNESTO QUILLASH RAMOS

ASESOR:

Dr. Q. F. HECTOR VILCHEZ CACEDA

LIMA – PERÚ

2019

TÍTULO:

**“EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE ACÍBAR DEL *Aloe Vera* (L) Burn.
(Sábila) Y SU EFECTO ANTIFÚNGICO SOBRE CULTIVOS DE *Trichophyton
rubrum* ESTUDIOS *IN VITRO*”**

DEDICATORIA

El presente trabajo es dedicado a Dios, por darme la fortaleza de seguir luchando por mis metas y a mi Madre, sé que siempre me cuidas y proteges. A mi padre, por depositar su confianza en mí, por sus sabios consejos y su apoyo incondicional, son mis pilares para enfrentar nuevos retos.

A mi hermano por estar conmigo en todo momento brindándome la fuerza y motivación para no rendirme nunca.

Frank

El presente trabajo es dedicado a Dios, por darme la fortaleza de seguir luchando por mis metas, A mi mamá y tía Yenny por depositar su confianza en mí, por sus sabios consejos y su apoyo incondicional.

A mi novio, por estar conmigo en todo momento brindándome la fuerza para nunca rendirme y a mi querida hermana Claudia quien me enseña cada día a ser más fuerte y me impulsa ser una mejor versión de mi misma.

Denisse

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por brindarnos la oportunidad de desarrollar nuestras capacidades y adquirir nuevos conocimientos, formarnos profesionalmente; así mismo a todos los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica que nos brindaron sus sabios conocimientos y consejos.

A nuestro asesor de Tesis Dr. Q.F. Hector Vilchez Caceda por su valioso apoyo, sirviendo de guía en la orientación, corrección y contribución para la culminación de este trabajo.

A todos nuestros amigos y personas maravillosas que hemos conocido a lo largo de esta etapa universitaria, Gracias por su amistad y por acompañarnos durante toda la carrera profesional.

ÍNDICE GENERAL

Introducción.....	1
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
1.1. Descripción de la realidad problemática	3
1.2. Formulación del problema	5
1.2.1. Problema General	5
1.2.2. Problema Específicos.....	5
1.3. Objetivos.....	6
1.3.1. Objetivo General	6
1.3.2. Objetivo Específicos.....	6
1.4. Justificación e importancia de estudio	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	8
2.1. Antecedentes del Estudio	8
2.1.1. Nacionales	8
2.1.2. Internacionales.....	9
2.2. Bases Teóricas	11
2.2.1. Descripción general del <i>Aloe Vera</i> (L) Burn. (Sábila).....	11
2.2.2. Características	11
2.2.3. Clasificación taxonómica.....	12
2.2.4. Propiedades curativas.....	12
2.2.5. Metabolitos secundarios.	14
2.2.6. Tipos de metabolitos secundarios básicos.....	14
2.2.7. Métodos de extracción.....	16
2.2.8. Extracción por arrastre con vapor de agua	17
2.2.9. Tamizaje fitoquímico.	17
2.2.10. Generalidades del hongo <i>Trichophyton rubrum</i>	17
2.2.10.1. <i>Trichophyton rubrum</i>	17
2.2.10.2. Tratamiento.....	19
2.2.11. Efecto Antifúngico	19
2.2.11.1. Tipos de efecto Antifúngico.....	20
2.2.11.2. Blanco de Acción de los Antifúngicos	20

2.2.12. Método de Kirby-Bauer	21
2.3. Hipótesis.....	21
2.3.1. Hipótesis general	21
2.3.2. Hipótesis específicas	21
2.4. Variables	22
2.4.1. Tabla de Operacionalización de variables	22
2.5. Marco Conceptual.....	22
CAPITULO III: MÉTODO	25
3.1. Tipo de estudio.....	25
3.2. Diseño a utilizar	25
3.3. Población.....	26
3.4. Muestra	26
3.5. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos	26
3.5.1. Técnicas.....	26
3.5.2. Instrumentos	27
3.6. Procedimiento experimental	28
3.6.1. Recolección de la muestra vegetal	28
3.6.2. Preparación del material vegetal.....	28
3.6.3. Obtención del extracto hidroalcohólico	28
3.6.4. Marcha fitoquímica: Identificación de metabolitos.....	29
3.6.5. Cromatografía en capa fina.....	30
3.6.6. Disolución de los diferentes extractos.....	30
3.6.6.1. Disolución de las concentraciones.....	30
3.6.7. Procedimiento de análisis microbiológico	31
3.6.7.1. Preparación de Agar Saboroud.....	32
3.6.7.2. Preparación del estándar (0.5mc. Mc. Farland) para el inóculo..	32
3.6.7.3. Preparación de discos de sensibilidad con el extracto.....	33
3.6.7.4. Preparación del inóculo.....	33
3.6.7.5. Inoculación de las placas	33
3.6.7.6. Aplicación de los discos	34
3.6.7.7. Incubación.....	34
3.6.7.8. Medición de los halos de inhibición.....	35
3.6.7.9. Fórmula para determinar el porcentaje de inhibición.	35

3.7. Procesamiento de datos	36
CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y ANALISIS DE RESULTADOS	37
4.1. Presentación de resultados	37
4.1.1. Resultados de la prueba de solubilidad	37
4.1.2. Resultados del screening fitoquímico	37
4.1.3. Resultados del ensayo microbiológico	40
4.2 Contrastación de Hipótesis.....	55
4.3. Discusión de resultados.....	61
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	65
5.1. Conclusiones	65
5.2. Recomendaciones	65
REFERENCIAS.....	66
ANEXOS	69

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla N° 01: Operacionalización de variables e indicadores	22
Tabla N° 02: Resumen de resultados de juicio de expertos	27
Tabla N° 04: Resultado del ensayo de solubilidad	37
Tabla N° 05: Resultados del screening fitoquímico	38
Tabla N° 06: Resultados cromatografía del extracto hidroalcohólico de acíbar del <i>Aloe Vera</i> (L) Burn. (Sábila)	39
Tabla N°07: Interpretación del crecimiento antifúngico según el Porcentaje de efectividad de la concentración del extracto hidroalcohólico de acíbar del <i>Aloe Vera</i> (L) Burn. (Sábila)	40
Tabla N° 08: Lectura de porcentaje de efecto antifúngica sobre <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188 a las 120, 144 y 168 horas	41
Tabla N° 09: Lectura de formación de los halos de inhibición según el porcentaje de efectividad de la concentración del extracto hidroalcohólico de acíbar del <i>Aloe Vera</i> (L) Burn. (Sábila)	42
Tabla N° 10: Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de acíbar del <i>Aloe Vera</i> (L) Burn. (Sábila) según concentración.	45
Tabla N° 11: Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los Halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de acíbar del <i>Aloe Vera</i> (L) Burn. (Sábila) sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> a las 120h	46

Tabla N° 12: Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de acíbar del <i>Aloe Vera</i> (L) Burn. (Sábila) sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> a las 144h	47
Tabla N° 13: Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de acíbar del <i>Aloe Vera</i> (L) Burn. (Sábila) sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> a las 168h	48
Tabla N° 14: Contrastes post hoc y comparaciones múltiples (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de acíbar del <i>Aloe Vera</i> (L) Burn. “sábila” sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> a las 120h	50
Tabla N° 15: Contrastes post hoc y comparaciones múltiples (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de acíbar del <i>Aloe Vera</i> (L) Burn. (Sábila) sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> a las 144h	51
Tabla N° 16: Contrastes post hoc y comparaciones múltiples (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de acíbar del <i>Aloe Vera</i> (L) Burn. (Sábila) sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> a las 168h	53
Tabla N° 17: Prueba de ANOVA de la media de los halos de inhibición en las cepas <i>Trichophyton rubrum</i>	58
Tabla N° 18: Comparaciones Múltiples	60
Tabla N° 19: Subconjuntos homogéneos según el método de DSH de Tukey de las medias de halos de inhibición en las cepas de <i>Trichophyton rubrum</i>	60

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura N° 1: Métodos de extracción	16
Figura N° 2: Tipos de AB y su blanco	20
Figura N° 3: Cromatografía ascendente	30
Figura N° 4: Direcciones en el sembrado del inóculo sobre la superficie del Agar	33
Figura N° 5: Macroconidios y microconidios de <i>Trichophyton rubrum</i> tinción azul algodón, x60(A) y x360 aumentos (B)	18
Figura N° 6: Macroconidios y microconidios de <i>Trichophyton rubrum</i> Microscopía electrónica de barrido, x1450 aumentos	18
Figura N° 7: Anverso (A) y reverso (B) del crecimiento de <i>Trichophyton rubrum</i> en agar glucosado de sabouraud durante 19 días a 24°C	19

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1	Matriz de consistencia	70
Anexo N° 2	Certificado botánico	72
Anexo N° 3	Identificación del hongo	73
Anexo N° 4	Evaluación de la actividad antibacteriana mediante el método de Kirby-Bauer	75
Anexo N° 5	Instrumento de recolección de datos microbiológico	76
Anexo N° 6	Ficha de validación por juicio de expertos	77
Anexo N° 7	Ficha de validación por juicio de expertos	78
Anexo N° 8	Ficha de validación por juicio de expertos	79
Anexo N° 9	Testimonios fotográficos	80

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, evaluó determinar la actividad del extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe vera* (L.) Burn (Sábila) posee efecto antifúngico en cepas de *Trichophyton rubrum*, *in vitro* a diferentes concentraciones: 25%, 50%, 75% y 100 %. **Objetivo:** Determinar si el extracto hidroalcohólico de *Aloe vera* (L.) Burn (Sábila) posee efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro* **Metodología:** Fue un estudio de tipo descriptivo, transversal y analítico. La muestra de estudio estuvo conformada por el extracto hidroalcohólico del acíbar *Aloe vera* (L.) Burn (Sábila) que fueron analizadas mediante exámenes: screening fitoquímico y antifungigrama con extractos a diferentes concentraciones: 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente, los discos fueron aplicados y comparados con un disco de antibiograma de Ketoconazol al 2% frente a *Trichophyton rubrum* para comparar y observar la inhibición y actividad antifúngica de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico del acíbar *Aloe vera* (L.) Burn (Sábila). **Resultados:** Se encontró que *Aloe vera* (L.) Burn (Sábila) tiene como principales metabolitos a los flavonoides, taninos, saponinas y quinonas, el estudio *in vitro* nos dio como resultado que los extractos hidroalcohólico del acíbar de *Aloe vera* (L.) Burn (Sábila) de 75% y 100% tienen actividad antifúngica frente a *Trichophyton rubrum* **Conclusiones:** La actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe vera* (L.) Burn (Sábila) al 75 y 100% frente a *Trichophyton rubrum* encontrada fue alta de un 21,91%, 47,96% respectivamente y se demostró la Relación con el screening fitoquímico y el antibiograma. .

Palabras Clave: *Aloe vera* (L.) Burn (Sábila); Efecto antifúngico; Efecto inhibitorio relativo (PEIR)

ABSTRAC

The present research work evaluated the activity of the hydroalcoholic extract of Aloe vera (L.) Burn (Aloe) acíbar has an antifungal effect on *Trichophyton rubrum* strains, *in vitro* at different concentrations: 25%, 50%, 75% and 100% Objective: To determine if the hydroalcoholic extract of Aloe vera (L.) Burn (Aloe Vera) has an antifungal effect on *Trichophyton rubrum* cultures *in vitro* studies Methodology: It was a descriptive, cross-sectional and analytical study. The study sample was made up of the hydroalcoholic extract of the Aloe vera (L.) Burn (Aloe) acíbar which were analyzed by means of tests: phytochemical screening and antifungigram with extracts at different concentrations: 25%, 50%, 75% and 100% respectively, the discs were applied and compared with a 2% Ketoconazole antibiogram disc against *Trichophyton rubrum* to compare and observe the inhibition and antifungal activity of the different concentrations of the hydroalcoholic extract of the aloe vera (L.) Burn (Aloe). Results: It was found that Aloe vera (L.) Burn (Aloe Vera) has as its main metabolites flavonoids, tannins, saponins and quinones, the *in vitro* study resulted in the hydroalcoholic extracts of Aloe vera (L.) acíbar Burn (Aloe) of 75% and 100% have antifungal activity against *Trichophyton rubrum* Conclusions: The antifungal activity of the hydroalcoholic extract of Aloe vera (L.) Burn (Aloe) 75 and 100% against *Trichophyton rubrum* found was high of 21.91%, 47.96% respectively and the relationship with phytochemical screening and antibiogram was demonstrated. .

Keywords: Aloe vera (L.) Burn (Aloe Vera); Antifungal effect; Relative inhibitory effect (PEIR)

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos pasados de nuestra historia las plantas han sido utilizadas por nuestros ancestros con fines medicinales. En nuestra actualidad las especies de las plantas promisorias de uso etnofarmacológico son información valiosas para el descubrimiento de posibles sustancias con importante actividad biológica. Las plantas tienen unas sustancias curativas que al pasar de los años han ido descubriendo sus metabolitos. Al pasar el tiempo las bacterias han demostrado resistencia bacteriana así generando nuevos intereses en la búsqueda de medicamentos con poder antibacteriano, actualmente hay muchas publicaciones, relacionando actividad antimicrobiana y productos naturales, siendo de importancia en las investigaciones los productos naturales (1).

El Perú es un país rico en recursos naturales y sustenta esa riqueza en su gran biodiversidad; las bacterias se han vuelto resistente a causa de la proliferación y casos de resistencia bacteriana de microorganismos que sufren cambios al verse expuestos a los antimicrobianos (antibióticos, antifúngicos, antivíricos) Como consecuencia, los fármacos se tornan ineficaces y las infecciones perduran en el organismo lo que eleva el riesgo de contagio. Los pacientes farmacorresistentes corren mayor riesgo clínico hasta el punto de producir la muerte (2).

Nuestro país no es ajeno a este problema, “El Perú está interesado en la investigación de los principios activos y de la actividad farmacológica de la biodiversidad existente en nuestros diferentes biotopos tropicales” (3).

Dentro de estos microorganismos, *Trichophyton rubrum* es un hongo que con mayor frecuencia causan infecciones tanto a nivel ambulatorio como intrahospitalario representando un serio problema para el área de la salud.

El compuesto biológico más activo en el ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) es el acíbar Además del Yodo la planta del ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) contiene 74 principios activos diferentes que brindan distintos beneficios al organismo, tanto sean de uso interno como de uso externo. Su acción antioxidante permite actuar sobre diversas enfermedades.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.

CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción de la realidad problemática

En el mundo, cada año el 40% de los enfermos que han visitado en un primer momento a un médico tradicional, acaban probando la medicina natural; de vegetales y plantas, por lo que tiene muchas ganancias y prestigio. La salud en los últimos años y la tendencia naturista ha hecho que muchas personas y empresas privadas vuelquen sus ojos hacia productos que pueden ser rentables en términos de mercados; Los tratamientos de marcas sofisticadas cada día están por las nubes y si se valorara su composición, tiene una variedad de elementos naturales y orgánicos, además no son accesibles a la comunidad en general por su alto costo (4).

Las infecciones micóticas representan una problemática en el sector salud a nivel nacional y mundial, debido a que afecta tanto a hombres y mujeres de diferentes edades, condición social y poblaciones en situaciones vulnerables.

La mayoría de estas infecciones pueden ser causadas por bacterias y no tener importancia significativa por ser benignas y autolimitadas, sin embargo, la infección micótica constituye una importante causa de infecciones dérmicas cuando no recibe el tratamiento oportuno (1).

La micosis constituye una de las infecciones dérmicas agudas de mayor relevancia para la salud pública cuyo agente son los hongos dermatofitos los cuales se clasifican fundamentalmente en tres géneros: *Trichophyton* (especies: tonsurans, rubrum, mentagrophytes), *Microsporum* (canis) y *Epidermophyton* (floccosum).

Presentando diferentes sintomatologías y que afecta con mayor frecuencia en niños y adultos y las causas pueden ser diversas lo que conlleva a las visitas médicas en los diversos centros de salud

Aloe Vera (L) Burn. (Sábila) es una planta medicinal usada desde hace miles de años por egipcios, griegos, árabes y chinos. Fue usada para ungir el cuerpo de Jesús según el evangelio de San Juan. En Oriente se le da nombre de bebida de la perfección. Crece en climas cálidos, sus hojas son duras y carnosas, en forma de flecha, los bordes tiene pequeñas espinas y florece en primavera con un racimo de flores amarillas o rojas (Ernst, et al., 2002).

Aloe Vera (L) Burn. (Sábila) por sus propiedades curativas y regeneradoras es mencionada en pasajes bíblicos y en los antiguos jeroglíficos egipcios, siendo llevada por Alejandro Magno a sus conquistas como único paliativo para los golpes y heridas. Durante siglos fue utilizada por sus propiedades medicinales y terapéuticas sin ningún entendimiento claro o análisis científico de cada una de sus propiedades. En la actualidad, se usa en muchos lugares del mundo en medicina moderna para tratar múltiples enfermedades, además de ser utilizada en la industria cosmetología, farmacéutica y alimentaria, se ha sometido a investigaciones más seguras y profundas haciéndose análisis de laboratorio y pruebas clínicas controladas que aseguren la efectividad de las propiedades curativas (36). La principal acción curativa es contra las bacterias (gram positivas) y hongos (36).

A través de los años los nuevos medicamentos desarrollados contra las diferentes bacterias, principalmente gram positivas, que son consideradas patógenas al ser humano, diferentes científicos realizan investigaciones de nuevas sustancias capaces de controlar y eliminar a bacterias y hongos. Dichos medicamentos se elaboran a partir de plantas resaltando el poder medicinal. Por tanto el presente trabajo busca contribuir con la determinación de la actividad antibacteriana del macerado de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) proveniente de la región (5).

PRONÓSTICO. El pronóstico de esta investigación es contribuir con el conocimiento sobre el efecto antifúngico que poseen las plantas naturales que son una fuente muy útil para la obtención de nuevos principios activos. Se basa en evaluar “El extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) y su efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum*, estudios *in vitro*. Basada en la evaluación fitoquímica y actividad biológica de ***Aloe***

Vera (L) Burn. (Sábila), refiriendo como principales metabólicos activos a los flavonoides. Las consecuencias que se pueden presentar a futuro de no controlarse las causas de las infecciones micóticas.

Pueden infectar el área de entre los dedos de los pies y causar la infección conocida como pie de atleta. Los hongos forman un micelio directamente en las capas exteriores de la piel, esto produce una llaga inflamada desde la que las esporas pasan fácilmente a otras áreas del pie cuando la infección es resistente y fuerte infecta hasta las uñas. En la mayoría de los antimicóticos tópicos y sistémicos el principal mecanismo de acción es el bloqueo de la síntesis de la membrana de la célula fúngica, Sin embargo, En las últimas décadas la terapia antifúngica de las micosis superficiales ha tenido un importante avance con el advenimiento de moléculas más seguras y efectivas, como ketoconazol, fluconazol, itraconazol y terbinafina. Nistatina y griseofulvina son más antiguos y la tendencia es ocuparlos cada vez menos, si el cuadro clínico se complica será necesario hacer una muestra de exudado micótico, para así determinar el agente causal y brindar un tratamiento dirigido específicamente utilizando un antibiograma y así a futuro aliviar los aspectos negativos de las infecciones micóticas causales por *Trichophyton rubrum* frente al extracto hidroalcohólico de **Aloe Vera** (L) Burn. (Sábila).

1.2. Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿El extracto hidroalcohólico de acíbar del **Aloe Vera** (L) Burn. (Sábila) tendrá efecto antifúngico en cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿Qué metabolito secundario presenta el extracto hidroalcohólico del acíbar del **Aloe Vera** (L) Burn. (Sábila) responsable del efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*?

2. ¿Qué concentración del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) tendrá mayor efecto antifúngico sobre los cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*?
3. ¿Cuál será el efecto del extracto hidroalcohólico de acíbar del ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) respecto al ketoconazol frente al *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*?

1.3. Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de acíbar del ***Aloe vera*** (L.) Burn (Sábila) sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Determinar los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de acíbar del ***Aloe Vera*** (L.) Burn (Sábila) como posibles responsables del efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.
2. Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L.) Burn (Sábila) con mayor efecto antifúngico respecto al ketoconazol sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.
3. Comparar el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de acíbar del ***Aloe Vera*** (L.) Burn (Sábila), respecto al ketoconazol sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.

1.4. Justificación e importancia de estudio

Desde la antigüedad un conjunto de especies vegetales ha tenido un rol importante en su uso como recursos medicinales, para el tratamiento de diversas enfermedades. En la actualidad se han convertido en un motivo de estudio científico a nivel mundial para el beneficio de la salud y también

en el aspecto productivo y económico; Teniendo como problemas enfermedades de la piel como por ejemplo el pie de atleta, prurito del jockey y tiña. El crecimiento de las colonias de *Trichophyton* es de lento a moderadamente rápido. La coloración de frente puede ser blanco, beige amarillento claro o violeta rojizo. Reverso pálido, amarillento, marrón o marrón rojizo. Así mismo este hongo es la causa más común de infecciones en las uñas. Entre otras patologías las cuales se han convertido en una problemática en el sector salud, debido a que afecta de forma general a varones y mujeres, de edades distintas y de diferente condición económico social. Siendo más perjudicial en, niños y adultos mayores. Estas afecciones pueden producir lesiones a nivel dérmico manifestándose de la siguiente manera: una infección micótica llamada dermatofitosis. Ocurre en la piel de los pies y entre las uñas de los dedos. También puede causar pie de atleta, gusano anular, tiña inguinal e infección por hongos en las uñas. Con esta investigación se pretende brindar una alternativa terapéutica y complementaria al tratamiento farmacológico del *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, y poder demostrar las propiedades curativas de El extracto hidroalcohólico del acíbar de **Aloe Vera** (L) Burn. (Sábila), basándose en el estudio de la penca y poder determinar sus componentes y a su vez buscar nuevas formas para tratar eficazmente las infecciones a nivel del sistema dérmico (6).

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

2.1.1. Nacionales

Vásquez, J. (2015), en La Libertad, realizaron un trabajo titulado: “Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Aloe Vera* (L) Burn. “sábila” sobre listeria monocytogenes y pseudomonas aeruginosa”. El objetivo fue determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Aloe Vera* (L) Burn. “sábila” sobre Listeria monocytogenes y Pseudomonas aeruginosa. Para la preparación del extracto hidroalcohólico, se pesó 200 g de mucilago fresco de *Aloe Vera* (L) Burn. “sábila”. La actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Aloe Vera* (L) Burn. “sábila” se determinó utilizando la técnica de difusión en Agar en placas, conteniendo Agar Muller-Hinton inoculado con la suspensión de los cultivos de Listeria monocytogenes y Pseudomonas aeruginosa. A cada placa se le realizó 4 orificios de 4 mm de diámetro a los cuales se les adicionó 50 uL de cada una de las concentraciones de extracto hidroalcohólico, se utilizó a Sulfametoxazol Trimetropin como control. Se determinó que L. monocytogenes y P. aeruginosa presentaron mayor actividad antimicrobiana en las concentraciones de 30 y 40% del extracto hidroalcohólico de *Aloe Vera* (L) Burn. “sábila”, también se determinó que existe diferencia significativa entre la sensibilidad de L. monocytogenes y P. aeruginosa frente al extracto hidroalcohólico de *Aloe Vera* (L) Burn. “sábila”.(7)

Vilca, M. (2017), en Arequipa, realizaron un trabajo titulado: “Eficacia del *Aloe Vera* (L) Burn. “sábila” y del Plax en el Aspecto Clínico de la Encía en Pacientes Intervenidos de Curetaje de Bolsa de la Consulta Privada, Cercado. Arequipa, 2017”. El objetivo fue determinar por objeto y evaluar el efecto del *Aloe Vera* (L) Burn. “sábila y del Plax en el restablecimiento del aspecto clínico de la encía en pacientes intervenidos de curetaje de bolsa. El

diseño es rangomizado, no cegado, emparejado intrasujeto, de modo que el sector experimental recibe el influjo del **Aloe Vera** (L) Burn. “sábila”, el sector control, del Plax, en 27 bolsas periodontales con los criterios de inclusión. Los resultados muestran que el **Aloe Vera** (L) Burn. “sábila” produjo normalización de todas las características gingivales a los 21 días al 100%, y una ganancia de inserción de 3.04 mm. Por su parte el Plax normalizó el color gingival, la consistencia, el contorno, tamaño, PGA en el 62.96%, remisión del sangrado gingival al 88.89%, y una ganancia de inserción del 1.97 mm. Las pruebas X2 y T, indicaron según el caso haber diferencia estadística significativa en color, textura, consistencia, contorno, tamaño y PGA, excepto en la remisión del sangrado gingival y PGR. Con lo que se acepta la hipótesis alterna en la mayoría de características clínicas de la encía, y la hipótesis nula en sangrado gingival y PGR, con un nivel de significación de 0.05. (8)

Garate, A. (2016), en Arequipa. Realizaron un trabajo titulado: “Estudio Comparativo de la eficacia en la Aplicación Tópica de Aloe Vera (Aloe Barbadensis Mil) y de Digluconato de Clorhexidina al 0.12% en el Aspecto Clínico de la Encía, en personas sometidas a Curetaje Subgingival en Consulta Privada, Arequipa 2016” como objetivo se buscó determinar la Investigación fue diseñado para plantear una alternativa adicional a los tratamientos convencionales para la enfermedad periodontal. Se pudo observar en la investigación que la aplicación tópica del Aloe Vera mejoró notablemente el aspecto clínico de la encía, alcanzando su estado óptimo en menor tiempo, mientras que el Digluconato de Clorhexidina alcanzó el mismo resultado pero en un tiempo mayor. Con estos resultados se plantea ampliar la gama de alternativas de tratamiento, así como mejorar la capacitación de los estudiantes de odontología en el pre y posgrado. (9)

2.1.2. Internacionales

Garces, M. (2014), en Ecuador, realizaron un trabajo titulado: “Identificación de los Aminoácidos Esenciales para uso medicinal en la sábila (Aloe Vera) 2017” como objetivo se identificó los aminoácidos esenciales en la sábila (aloe vera), para ello se analizaron 42 pencas de sábila. Se utilizó la técnica de cromatografía en capa fina en papel para el reconocimiento de los

aminoácidos esenciales, identificados en el material de estudio. Los datos obtenidos, fueron: El 100% de pencas de sábila determinó la presencia del triptófano, en un 93% el aminoácido treonina, en un 86% de valina, en un 50% de lisina, en un 43% de metionina, en un 21% de leucina y en 7% de iso leucina y fenilalanina. La identificación de los aminoácidos esenciales de la sábila (aloe vera). (10)

Pineda A. (Santa cruz 2014), en Guatemala. En el trabajo Titulado: “Producción y aprovechamiento de la sábila (Aloe vera) como planta medicinal y sus beneficios en los alumnos de Quinto Perito Agronomía del Instituto Adolfo V. Hall de Santa Cruz del Quiché” como objetivo se buscó informar acerca de la producción y aprovechamiento de la sábila y sus beneficios en los estudiantes de Quinto Perito Agronomía del Instituto Adolfo V. Actualmente en el municipio de Santa Cruz de Quiché no se produce la sábila con fines medicinales esto hace que el trabajo de tesis tenga como propósito elaborar una guía que ayude dar a conocer las propiedades y los beneficios que tiene la sábila por medio de recetas elaboradas a base de plantas medicinales (11).

Alarcón, M., Fraile, S., Michelangeli, F. Contreras, M.; (2016) en Venezuela. En el trabajo Titulado: “Evaluación in vitro de dos extractos de Aloe vera en bacterias patógenas. El incremento en los mecanismos de resistencia bacteriana”. como objetivo se buscó evaluar el comportamiento de dos tipos de extractos; uno de gel fresco procesado con DMSO, y otro obtenido del mesófilo por un proceso de extracción con etanol que luego fue filtrado, concentrado y liofilizado. Ambos extractos fueron evaluados con la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en disco contra *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*. El extracto etanólico del mesófilo liofilizado se ensayó en concentraciones de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 y 2,5 mg/ mL, con cada una de las bacterias de referencia, evidenciándose ausencia de inhibición sobre el crecimiento bacteriano en todas las concentraciones. El extracto Gel-DMSO se ensayó con las cepas H. pylori, E. coli y S. aureus; obteniendo halos de inhibición de 14, 8,5 y 8,5 mm respectivamente. La evidencia científica de la actividad antibacteriana de esta planta suele ser

contradictoria, donde el procesamiento del extracto, es un factor importante en esta variabilidad. Según nuestros resultados se puede concluir que *H. pylori*, fue la bacteria más sensible al extracto Gel- DMSO en comparación con *E. coli* y *S. aureus*; asimismo, para futuras investigaciones, se debería desestimar el uso de extractos liofilizados diluidos y considerar otros procesos de extracción (12).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Descripción general del *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila)

Son plantas de tallo corto de 40 a 50 cm de largo y de 6 a 10 cm, de márgenes con dientes de 2 a 3 mm de longitud y de 1 a 1.5 cm de distancia de grosor con hojas en rosetas ascendentes, alargadas, lanceoladas, presentan flores pequeñas, de forma tubular, y se presentan en inflorescencias densas de color amarillo o rojo.

Originario de África o de la parte norte del Nilo, el aloe del Cabo, crece espontáneo en Sudáfrica y Kenia. Se cultiva abundantemente en Venezuela, la cuenca del Caribe, Texas, Arizona y el Perú (13).

2.2.2. Características

El *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) necesita una tierra porosa o incluso arenosa y también estar expuesto al viento. El viento fortifica a la planta y la hace crecer sana y sin problemas. Al menos un par de horas de sol al día son también necesarias. Deberá regarse con abundante agua, pero no con demasiada frecuencia. De hecho, casi las dos únicas formas de arruinar una planta de aloe son regándola demasiado frecuentemente ó exponiéndola al frío. Puede soportar temperaturas ligeramente inferiores a 0 grados centígrados, pero siempre que la tierra no llegue a congelarse. Crece bien en toda la zona tropical, subtropical y templada, con tal que durante los inviernos no haya nevadas ni heladas violentas. (13)

2.2.3. Clasificación taxonómica

Fue realizado en el Museo de Historia Natural del Perú (ver anexo N° 2)

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Liliopsida
Subclase	: Liliidae
Orden	: Liliales
Familia	: <i>Liliaceae</i>
Género	: <i>Aloe</i>
Especie	: <i>Aloe Vera</i> (L) Burn.

2.2.4. Propiedades curativas

El ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) se utiliza las Antraquinonas como: antronas Aloe-emodina, ácido aloético, antranol, aloína A y B (conocidos conjuntamente como barbaloina).

- **Carbohidratos:** Mannan, Acemannan, glucomannan acetilado.
- **Cromonas:** 8-C-glucosil-(2'-O-cinamoil)-7-O-metilaloediol A.
- **Enzimas:** Fosfatasa alcalina, amilasa, lipasa, catalasa.
- **Compuestos Inorgánicos:** Calcio, cloro, cromo, cobre, hierro, magnesio, manganeso, potasio, fósforo, sodio, zinc.
- **Compuestos orgánicos y lípidos:** Ácido arachidónico, sorbato de potasio, esteroides (campesterol, colesterol, β -sitosterol), triglicéridos.
- **Amino ácidos esenciales y no esenciales:** Alanina, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico, glicina.
- **Proteínas:** Lectinas y sustancias similares.
- **Azúcares:** Manosa, glucosa, L-ramnosa, aldopentosa.
- **Vitaminas:** B1, B2, B6, C, β -caroteno, ácido fólico, α -tocoferol.
- **Hormonas:** auxinas, giberelina.

ACÍBAR DEL ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila)

El acíbar es una sustancia amarillenta que se encuentra en la hoja del ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila), la encontrarás si incides en la superficie de la hoja,

de hecho, cuando separas una hoja o penca de la planta madre se desprenderá esta sustancia de la penca. El acíbar tiene un sabor amargo que se concentra al calor del sol, o por ebullición.

El acíbar está compuesto por resinas y por antraquinonas, una de las más importantes y que se encuentra en mayor cantidad es la aloína.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACÍBAR O JUGO DE SÁBILA

El acíbar es el jugo obtenido a partir de las hojas de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila); presenta una apariencia mucilaginosa, glutinosa y de color amarillo verdoso oscuro.

La especie del género *Aloe* contiene una mezcla de glucósidos llamados aloína colectivamente, la cual es el principio activo de la planta. La proporción de compuestos es la siguiente:

- Dos resinas amarillo-brillantes, muy activas, posiblemente idénticas, solubles en bicarbonato de sodio (30%). Una resina muy activa soluble en bicarbonato de sodio (6.8%).
- Aloína ligeramente activa (15.0%). Emodina ligeramente activa (1.5 a 1.8%).
- Sustancias hidrosolubles inactivas (15.2%). Sustancias amorfas que producen alteraciones estomacales, pero que no llegan al efecto purgativo (5.1%).

El acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) contiene 12 enzimas. Estas enzimas constan de una fracción protéica o apoenzima y un grupo prostético o coenzima. La enzima actúa formando un complejo con la piel, la parte de la proteína que se une a éste se convierte en un centro activo; en la mayoría de los casos la acción de la enzima depende de la coenzima y específicamente para el tipo de sustrato (piel abierta, cuero cabelludo, entre otros) de la apoenzima.

Se han observado efectos curativos del acíbar fresco del *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) en quemaduras por radiación, accidentes nucleares o exposición a rayos X, también se ha encontrado actividad antibiótica, astringente, inhibidora del dolor, desinflamatorio, coagulante y estimulante. Se han realizado experimentos para encontrar inhibición de tejidos

tumorosos, tratamiento de quemaduras (incluyendo las de origen radioactivo), inhibición de la artritis, enfermedades de la piel como psoriasis, dermatitis e infecciones diversas, entre muchas otras (13).

2.2.5. Metabolitos secundarios.

Los metabolitos secundarios son todas aquellas moléculas activas que son generadas por diversas especies vegetales, cada planta en las pencas poseen diferentes tipos de componentes químicos con acción farmacológica y cosmética (21).

2.2.6. Tipos de metabolitos secundarios básicos

Los metabolitos secundarios se clasifican de acuerdo a sus grupos funcionales, los cuales son: alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas (22).

a. Alcaloides.

Son compuestos nitrogenados que contienen uno o más átomos de nitrógeno como parte del sistema cíclico que manifiestan su actividad farmacológica. Aproximadamente el 80% del reino vegetal no contiene alcaloides esto hace sospechar que estos metabolitos no son vitales para los organismos vivientes. Sin embargo, desde hace años, es conocido la acción farmacológica, por ejemplo: La berberina es antibacteriano y antiinflamatorio, carpaina es antibacteriano, emetina es emético, antihelmíntico y expectorante, estricnina y cafeína son estimulantes, cocaína es sedante y anestésico para aplicación tópica (17).

b. Terpenoides y esteroides.

Los compuestos esteroidales pueden impedir determinada transformación de síntesis vital en la célula bacteriana. Los terpenos, su clasificación determina el número de isoprenos, monoterpenos (2 isoprenos) pueden llegar a tener hasta 8 isoprenos. Los iridoides pertenecen a los monoterpenos. Se caracteriza por su sabor amargo y han manifestado poseer una gran variedad de acciones biológicas y farmacológicas entre las que más destacan es la actividad hepatoprotectora, coleretica, antimicrobiana, antiviral, antitumoral y antiinflamatoria (16).

c. **Compuestos fenólicos.**

Son un grupo de sustancias que tienen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, estos compuestos son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua (17).

- **Flavonoides:** Están ampliamente distribuidos en constituyentes naturales y son uno de los grupos más numerosos. Estos compuestos poseen acciones farmacológicas muy variadas entre ellas tenemos, actividad antimicrobiana de los flavonoides prenilados, antivíricos, acción fungitóxica de isoflavonas, la actividad espasmolítica de los glicósidos de la epigenina, antihepatotóxica de los flavanolignanos conocidos como la silimarina, actividad estrogénica de isoflavonas, el uso de rotenona como insecticida (18, 17).
- **Quinonas:** Son anillos aromáticos con dos funciones ceto. Estos metabolitos se encuentran en la corteza, la raíz y en algunos casos en las hojas están ampliamente distribuidos. Las quinonas han sido distinguidos desde la antigüedad por sus propiedades tintoreras, sin embargo, una gran cantidad de ellas están asociadas a la actividad antibacteriana, antimalarica, antifúngica y antitumoral, etc (17).
- **Taninos:** Son sustancias polifenólicos de origen vegetal, solubles en alcohol, agua, acetona y glicerina, su carácter hidrosoluble permite que sea de fácil extracción. Esta sustancia tiene dos propiedades principales: su capacidad de curtir la piel y su poder astringente, sus acciones farmacológicas están relacionadas con su propiedad, entre ellas tenemos: Bactericida y bacteriostático, antifúngico, antidiarreico, cicatrizante, antioxidante, analgésico, hipocolesterolemia, antihemorrágico (18).
- **Saponinas:** Son heterósidos (azúcar + aglicón) se caracteriza por su capacidad de producir espuma cuando se agita una solución acuosa, es componente de varios extractos de las plantas con acciones farmacológicas de: antimicrobiano, antivírico, antimicótico, antihemorroidal, estimulante, antiestres, antiinflamatorio, diurético, expectorante (18).

2.2.7. Métodos de extracción.

Procedimiento de separación de sustancias medicinalmente activas de tejidos animales o vegetales de componentes inactivos o inertes utilizando solventes selectivos (27). La extracción sigue siendo de considerable interés para poder mejorar la obtención de drogas derivadas de fuentes vegetales y animales.

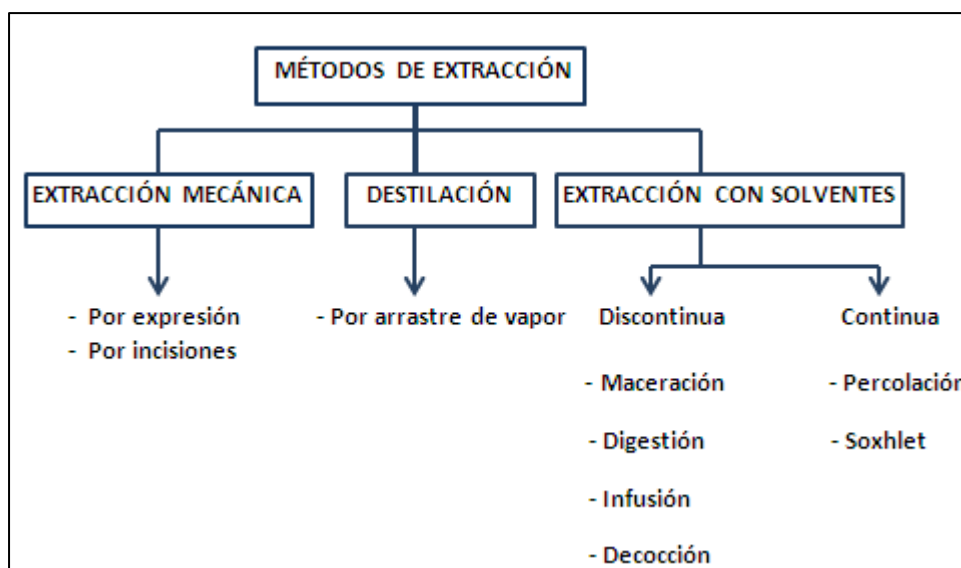


Figura 1. Métodos de extracción(12)

Fuente: Alfonso R. Gennaro, Remington (2003)

- **Maceración:** Consiste en fragmentar en pequeñas partes el vegetal y dejar reposar con un disolvente apropiado, hasta que penetre en los tejidos ablandando y disolviendo las porciones solubles (28). Los medios pueden ser diversos, tales como: Alcohólico, Glicérico, Agua, Oleoso o con medios más sintéticos tales como el Propilenglicol, según sea el fin a desarrollar (28). La maceración es esencial cuando los principios son claramente solubles en frío y cuando la acción de la temperatura los transforma. Generalmente se utilizan los frascos de vidrio oscuro, tanto para el proceso de extracción y al momento de envasar (19).
- **Percolación:** Se coloca el material fragmentado en una vasija cónica, y verter un disolvente adecuado. El material debe estar bien

compactado para que el disolvente fluya con cierta lentitud y los componentes se puedan extraer con mejor precisión (19).

2.2.8. Extracción por arrastre con vapor de agua

Este método permite la difusión del vapor a través del tejido vegetal, aminorando el deterioro de los componentes de las esencias extraídas por otros métodos. Es el método más sencillo para obtener aceites esenciales, ya que son sustancias volátiles e insolubles en agua (19).

2.2.9. Tamizaje fitoquímico.

El tamizaje fitoquímico o screening fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. De acuerdo a la marcha Fitoquímica de Miranda y Cuellar (8), cada muestra es sometida a la acción extractiva de solventes de polaridad creciente éter, alcohol, y agua, modificando el pH del medio con el fin de obtener los metabolitos secundarios de acuerdo a su solubilidad. Luego de separar las fracciones se realiza la identificación de metabolitos secundarios haciendo uso de reactivos de coloración y precipitación (20).

2.2.10. Generalidades del hongo:

Clasificación científica

- Phylum: Ascomycota
- Clase: Eufungi
- Orden: Onygenales
- Familia: Arthrodermatacea

2.2.10.1. *Trichophyton rubrum*

El *Trichophyton rubrum* es un hongo dermatofito antropofílico (que afecta al ser humano). Es la causa más frecuente de enfermedades de la piel como el pie de

atleta, prurito del jockey y tiña. Este hongo se describió por primera vez por Malmsten en 1845. El crecimiento de las colonias de *Trichophyton* es de lento a moderadamente rápido. La coloración de frente puede ser blanco, beige amarillento claro o violeta rojizo. Reverso pálido, amarillento, marrón o marrón rojizo. Así mismo este hongo es la causa más común de infecciones en las uñas (23).

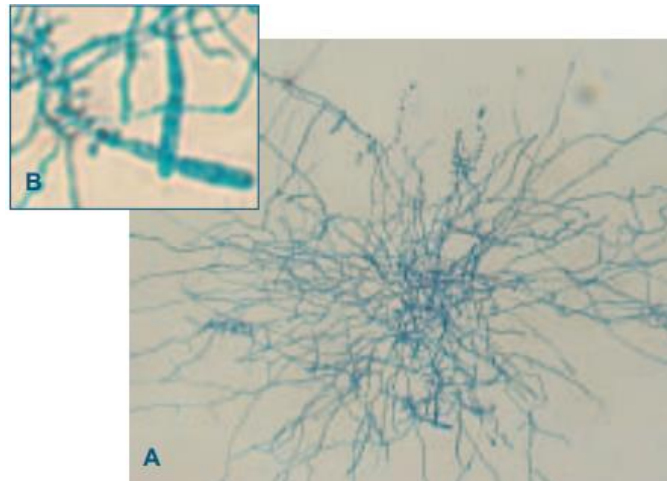


Figura 5: Macroconidios y microconidios de *Trichophyton rubrum*. Tinción Azul de algodón, x60(A) y x360 aumentos (B).

Fuente: Bial – Arístegui (2002)

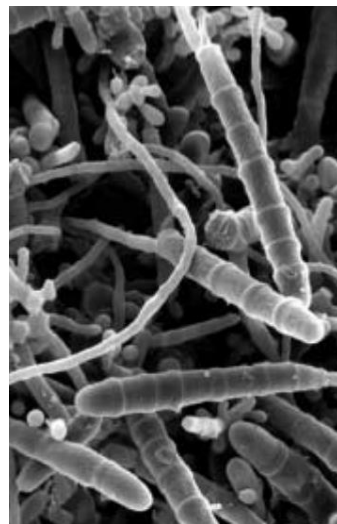


Figura 6: Macroconidios y microconidios de *Trichophyton rubrum*. Microscopio electrónica de Barrio x1450aumentos.

Fuente: Bial – Arístegui (2002)

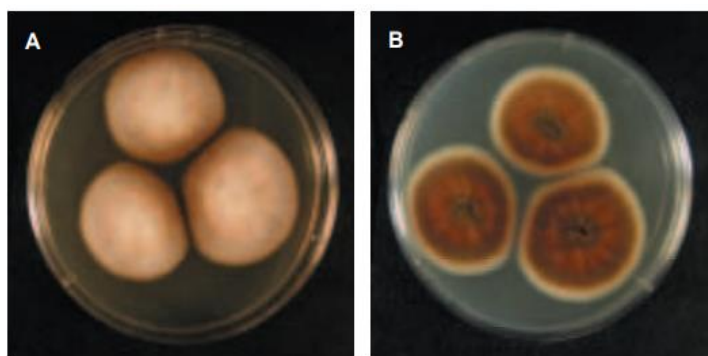


Figura 6: Anverso (A) y reverso (B) del crecimiento de *Trichophyton rubrum* en agar glucosado de Sabouraud durante 19 días a 24 °C.

Fuente: Bial – Arístegui (2002)

2.2.10.2. Tratamiento

En principio, la gran mayoría de las micosis superficiales son susceptibles de ser tratadas tópicamente, exceptuando los casos en pacientes inmunodeprimidos. Tópicamente, los antifúngicos más activos son los derivados azólicos (bifonazol, cotrimazol, ketoconazol, etc.). Tienen un mecanismo de acción común: inhiben la síntesis del ergosterol, el principal esteroide de la membrana citoplasmática del hongo. La administración de una aplicación de una crema, spray o polvo con estos fármacos, dos veces al día durante al menos 2-4 semanas es eficaz en la gran mayoría de las micosis superficiales; aunque las formas que afectan a regiones pilosas, tiñas extensas de piel lampiña, formas crónicas de tinea pedis y onicomicosis suelen constituir una excepción. Los medicamentos del grupo tienen prácticamente la misma eficacia, aunque la potencia (expresada en concentración mínima inhibitoria para el 90% de las cepas, CMI 90% en cada especie susceptible), pueda variar entre ellos.

DOSIFICACIÓN

En adultos: Cuando hay infecciones de la piel, gastrointestinales y sistémicas; Se recomienda tomar 1 tableta (200 mg), una vez al día durante el transcurso de una comida. Si no tuviese la respuesta adecuada deberá ser incrementada a 2 tabletas (400 mg) una vez al día.

2.2.11. Efecto antifúngico

Es un efecto antifúngico a toda aquella sustancia que tenga capacidad de evitar el crecimiento o tipos de hongos hasta provocar su muerte. Además los hongos tienen usos además beneficiosos como una de ellos pueden ser hongos de fermentación para queso, fermentación para vinos, para las bebidas cerveceras, levaduras de pan y muchos más para la industria alimentaria. Son parte de los seres vivos llegando a poder originar enfermedades en el ser humano, el conocimiento y uso de los antifúngicos es de vital importancia a la hora de tratar muchas enfermedades (24).

2.2.11.1 Tipos de efecto Fúngico

Son efectos antifúngicos siendo de tres tipos para el cultivo de los hongos (24).

- a. **Efecto fungilítico:** los agentes causan la muerte del hongo y producen lisis a las células que conforman el cultivo.
- b. **Efecto fungicida:** su función importante es eliminar los hongos, pero no les ocasiona ruptura o lisis.
- c. **Efecto fúngico:** su función es inhibe el crecimiento de los microorganismos, pero las células del hongo no mueren.

2.2.11.2 Blanco de acción de los antifúngicos

Los antifúngicos actúan sobre los hongos de diferentes maneras, se agrupan de acuerdo a su blanco de acción aunque no compartan una estructura química similar (16).

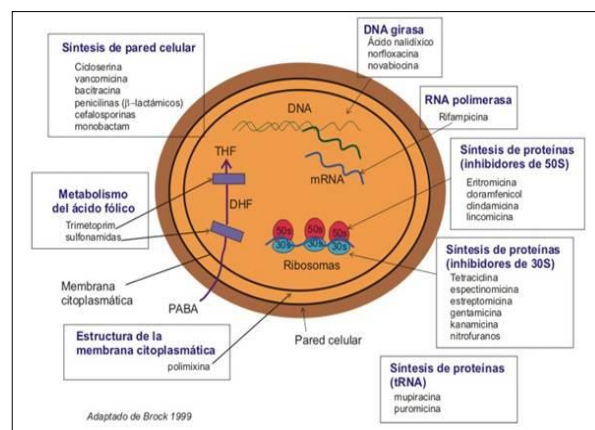


Figura 2. Tipos de AB y su blanco.

Fuente: Brock 1999

- 1. Inhibición de la síntesis proteica:** (tetraciclinas, eritromicina, lincomicina)
- 2. Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos:** bloquea la replicación del ADN o su transcripción. (quinolonas)
- 3. Sobre la pared celular de los hongos:** Impiden que se propaguen, mediante una modificación de la permeabilidad de la membrana bacteriana. (Beta-lactámicos, glicopéptidos, polimixinas)

2.2.12. Método Kirby – Bauer

Existen diversos métodos que van a ayudar a facilitar la determinar in vitro de las bacterias ante posible agentes bacterianos. Siendo así los resultados pueden estar influenciados por el método, cepas utilizadas y el grado de solubilidad de cada compuesto evaluado. El método de Kirby - Bauer es cualitativo, nos permite evaluar extractos de plantas con actividad antibacteriana, sus resultados son altamente reproducibles. Este método se basa en la relación entre la concentración necesaria del extracto para inhibir una cepa bacteriana y el diámetro del halo de inhibición. Este método se puede realizar en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia o en disco (25).

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de acíbar del ***Aloe Vera*** (L.) Burn (sábila) presenta efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.

2.3.2. Hipótesis específicas

1. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de acíbar del ***Aloe Vera*** (L.) Burn. (sábila) son los posibles responsables del efecto antifúngico sobre cultivos de *trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.

2. El extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L.) Burn. (sábila) presenta una concentración con mayor efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.
3. El extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L.) Burn. (sábila) presenta mayor efecto antifúngico respecto al ketoconazol sobre cultivos de *trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.

2.4. Tabla de Operacionalización de variables

Tabla N° 1: Operacionalización de variables e indicadores

Variable	Dimensión	Indicador	Escala
VI: Extracto hidroalcohólico del acíbar de <i>Aloe Vera</i> (L.) Burn. (sábila)	Análisis Fitoquímico	VI: Dosis: Concentración al 25% Concentración 50% Concentración al 75% Concentración al 100%	Diferentes concentraciones: 100%, 75% y 50% 25%
VD: Efecto antifúngico	Estudio microbiológico	VD: -Medición diámetro de halos -Tiempo: 120, 144 Y 168 h	Observación de unidad formadora de colonia. Medida de los halos de inhibición en mm.

2.5. Marco Conceptual

Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila):** Se denomina ***Aloe Vera (L) Burn. (Sábila) a una planta del conjunto de las suculentas que forma parte de la familia de las Arthrodermatacea. Este arbusto también se conoce como aloe de Curazao, aloe de Barbados o sábila (en ocasiones escrito con V: sávila) (26).

Antifúngico: Que evita el desarrollo de hongos, los destruye o detiene su crecimiento (27).

Hongo: Reino al que pertenecen los organismos sin clorofila, provistos de talo, generalmente filamentosos y ramificados, mediante el cual absorben los principios orgánicos nutritivos del medio, de tamaño muy variado y reproducción preferentemente asexual (por esporas); viven parásitos o sobre materias orgánicas en descomposición o parásitas de vegetales o animales (27).

In vitro: Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. La fecundación in vitro es un ejemplo ampliamente conocido (27).

Cultivos: En biología, bacteriología y específicamente en microbiología, un cultivo es un método para la multiplicación de microorganismos, tales como lo son bacterias en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado. Un cultivo es empleado como un método fundamental para el estudio de las bacterias y otros microorganismos que causan enfermedades en medicina humana y veterinaria (27).

Microbiología: La microbiología es la ciencia encargada del estudio y análisis de los microorganismos, seres vivos pequeños no visibles al ojo humano también conocidos como microbios. Se dedica a estudiar los organismos que son sólo visibles a través del microscopio: organismos procariotas y eucariotas simples (27).

Concentración: Cantidad de una sustancia (el soluto) disuelta en otra (el disolvente) en una mezcla homogénea o una disolución (28).

Metabolitos primarios: Son importantes para la vida del vegetal como proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas, hormonas (28).

Metabolitos secundarios: No cumplen ningún rol fisiológico en los vegetales: alcaloides, glicósidos, aceites esenciales, resinas, etc. Sirven para comparar perfiles químicos y diferenciar entre las diferentes especies vegetales (28).

ATCC: American Type Culture Collection (29).

Inóculo: Alícuota de un cultivo bacteriano transferido a un medio de cultivo (30).

UFC: Unidad formadora de colonias (30).

Cepa: Cultivo puro formado por bacterias descendientes de un solo aislamiento (30).

Colonia: Crecimiento visible bacteriano, generalmente en medios sólidos, originada por la multiplicación de una sola bacteria preexistente (30).

Disco de sensibilidad: Discos impregnados con algún antimicrobiano usados para determinar la susceptibilidad antimicrobiana por disco difusión (30).

Halo de inhibición: Es la zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano (33).

CLSI: Comité de Estandarización de Laboratorios Clínicos (30).

Estándar de Mc. Farland: Estándar de turbidez de sulfato de bario. La escala usada para el inóculo de las pruebas de susceptibilidad por el método de disco difusión es 0.5 (30).

PEIR: porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (30).

CAPITULO III METODOLOGÍA

3.1. Tipo de estudio

3.1.1. Tipo de la investigación

- **Por su alcance es de tipo**

Descriptiva: Se mide y recoge información de manera independiente de las variables.

- **Por su finalidad es de tipo**

Básica: Este estudio busca más el conocimiento para poder así ser aplicadas en otras investigaciones.

- **Por su ubicación temporal es de tipo**

- **Transversal:** Debido a que el investigador solo evaluó una única vez el efecto antifúngico sobre las placas inoculadas de la hongo *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

3.2. Diseño a utilizar

Es un diseño experimental donde se manipulan variedad de variables, vinculadas a la forma aleatoria, para medir el efecto que tienen en otra variable de interés y las pruebas controladas para entender los procesos causales después del estadístico. Así mismo se tuvo un grupo control y uno experimental, los mismos que se midieron a través de que son presentados en tablas y gráficos. Los resultados se evaluaron mediante el método de Análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Science) v.23, por Windows 10, con el fin que tenga consistencia la información levantada de la ejecución del instrumento de investigación. Empleamos este método ya que permite comparar varias medias en diversas situaciones; muy ligado, por tanto, al diseño experimental. Las diferencias entre medidas de grupos fueron analizadas mediante el test de comparaciones múltiples. Valor $p < 0.05$ fue considerado como significativo. Los resultados muestrales fueron inferidos mediante estimación por intervalo a un 95% de confianza.

Prueba estadística:

Análisis de Varianza:

Es el procedimiento estadístico que nos sirve para medir la variación total de las observaciones, la que se divide para sus componentes, quedando el residuo como error experimental. Este análisis nos indica la relación entre una variable dependiente (El efecto antifúngico sobre cultivos de estudios in vitro) y los factores independientes (Extracto hidroalcohólico de acíbar del *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila)). Es un método en el que se puede comparar dos o más medias de las observaciones, además nos permite medir la variación de las respuestas numéricas como valores de evaluación de diferentes variables.

3.3. Población

- Se emplearon pencas de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila), que fueron recolectadas en el distrito Sayán, provincia de Huaura-Lima, latitud - 11.1473075 y longitud -77.2444348.

3.4. Muestra

- 2 kg de penca de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila).

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.5.1. Técnicas

- La obtención del extracto hidroalcohólico del acíbar de las pencas se realizó mediante el método de maceración, donde el uso del solvente depende del tipo de planta a emplear y de principios activos de la planta por extraer.
- La identificación de metabolitos secundarios se realizó mediante la marcha fitoquímica, donde fue utilizado diferentes reactivos que al entrar en contacto con la muestra genera una reacción y es evaluado por la presencia o ausencia de coloración y precipitado de cada metabolito presente en la muestra.
- La actividad antifúngica se realizó utilizando el método de Difusión en disco (Kirby - Bauer). La cual tuvo como objetivo evaluar la eficacia de una muestra vegetal con propiedades antifúngicas frente

a un determinado microorganismo, donde se realizó la medición en mm de los halos de inhibición de las muestras y los controles respectivos.

3.5.2. Instrumentos

Ficha de recolección de datos

La ficha de recolección de datos de la marcha fitoquímica y el análisis microbiológico se realizó en base a los indicadores con sus respectivos criterios, dicho juicios de expertos tuvieron una mínima y máxima calificación (ver anexos 6, 7 y 8) Fue elaborado por los autores con el propósito de recolectar los datos para la prueba en estudio y su validación se realizó a través de la técnica del juicio de expertos. Los expertos fueron tres Químicos Farmacéuticos, especialistas y con amplia experiencia en la investigación. Dicha revisión dio como resultado que el instrumento sea considerado válido y aplicable presentándose concordancia entre los tres expertos.

Juez experto	Resultados	Condicion
Mg Q.F Mario Pineda Pérez	95	Aplicable
Mg Q.F Luis Antonio Aranguren Belaunde	95	Aplicable
Mg Q.F Oscar flores Lopéz	95	Aplicable

Tabla N° 2: Resumen de Resultados de Juicio de expertos

El proceso permitió al investigador recolectar todos los datos necesarios para relacionar las dos variables de estudio teniendo en cuenta que a la planta en estudio se le realizaron una serie de pruebas e identificación para lograr la preparación del extracto y posteriormente realizar el tratamiento microbiológico en las placas Petri. Los resultados obtenidos de la medición del efecto antifúngico fueron realizados en el laboratorio de microbiología de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, dichos resultados fueron recopilados en respectivos informes de ensayo para ser evaluados estadísticamente.

3.6. Procedimiento experimental

3.6.1. Recolección de la muestra vegetal

La muestra fue recolectada en el norte chico, en el distrito de Sayán provincia de Huaura-Lima a 685 m.s.n.m. Con una latitud de -11.1473075 y longitud de -77.2444348, En el mes de abril del 2018. La planta fue transportada teniendo en consideración las Buenas Prácticas de Transporte para su conservación hasta el laboratorio de Fisicoquímico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Luego se procedió a su identificación botánica, la planta fue identificada y autenticada por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se adjunta certificado de identificación taxonómica ver anexo N°2.

3.6.2. Preparación del material vegetal

- Se utilizó 2 Kg de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (sábila).
- Se procede a limpiar y lavar las pencas con agua destilada estéril para retirar los residuos de tierra que pudiera tener la planta.
- Luego de terminar de limpiar las pencas, procedimos a cortar y extraer el acíbar de penca de sábila.

3.6.3. Preparación del extracto hidroalcohólico

- Las pencas se limpian con agua destilada y se cubren con papel kraff colocan dentro de un recipiente de vidrio ámbar de 4 litros estériles de boca ancha.
- Se obtiene el acíbar utilizando un embudo y papel filtro por medio de filtración realizando un corte diagonal de la penca de la sábila y gota a gota se obtiene el acíbar al ser filtrada, se obtiene el acíbar
- Se agrega alcohol al 96 por ciento y hasta cubrir la mitad de la muestra y la otra mitad con agua destilada por completo tapar y dejar macerar por una semana. Durante este tiempo de maceración se agitó 15 minutos 3 veces al día.
- Cumplido el tiempo de maceración se hace el filtrado con papel de filtro y algodón.

- Posteriormente se procede a la evaporación del alcohol en caliente mediante baño María y al concentrar la muestra se obtuvo 9,75ml.
- El extracto obtenido se guardó en recipiente de vidrio ámbar.
- Posteriormente se va realizar la dilución de las siguientes concentraciones respectivas: al 25 % 50 %, 75 % y 100 %.

3.6.4. Marcha fitoquímica: Identificación de metabolitos

Se realizó reacciones de identificación basado en la aplicación de pruebas de coloración y precipitación para determinar la presencia o ausencia de metabolitos activos en la planta, haciendo uso de reactivos específicos (28).

Identificación de carbohidratos generales

- **Reactivo Molisch:** en un tubo de ensayo se adicionó 2 ml de MP, luego se agregó II gotas del reactivo y se agitó lentamente. Luego con el tubo inclinado se agregó IV gotas de ácido sulfúrico concentrado.

Identificación de Flavonoides

- **Shinoda:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml MP, luego se agregó II gotas de reactivo Mg metálico y 10 gotas de HCl al 1%.

Identificación de compuestos fenólicos

- **Reactivo FeCl₃ al 5%:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml MP, luego se agregó II gotas de reactivo y se agitó lentamente.

Identificación de taninos

- **Reactivo gelatina:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml de MP, luego se agregó II gotas de reactivo y se obtuvo un precipitado.

Identificación de Alcaloides

- **Reactivo Dragendorff:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml de MP, luego se agregó II gotas de reactivo, y se obtuvo una coloración rojo ladrillo.
- **Reactivo Mayer:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml de MP, luego se agregó II gotas de reactivo y se obtuvo una coloración blanca, pp blanco delgado.
- **Reactivo Wagner:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml de MP, luego se agregó II gotas de reactivo y se obtuvo un precipitado rojo.

Identificación de Aminoácidos

- **Rvo Ninhidrina:** Al realizar este ensayo se encontró que el reactivo ninhidrina reaccionó con el grupo alfa-amino libre dando positivo a la presencia de aminoácidos.

Identificación de Quinonas

- **Rvo Borntrager:** Al realizar este ensayo se encontró que el reactivo borntrager se utiliza frecuentemente para investigar la presencia de principios antraquinónicos en vegetales. Esta reacción consiste en agregar un reactivo alcalino como amoníaco, solución de hidróxido de sodio o de potasio directamente a la droga en polvo o a un extracto y se basa en la coloración roja que dan los derivados antraquinónicos en medio alcalino; la aparición de una coloración rojiza indicará la presencia de antraquinonas y la intensidad del color será proporcional a la concentración de principios activos.

3.6.5. Cromatografía en capa fina

- Se sembró la muestra en la lámina de cromatografía usando un tubo capilar.
- Preparamos la fase móvil correspondiente y se colocó en la cámara cromatografía. Cubrimos para que se sature.
- Se colocó la lámina cromatografía en el interior de la cámara. Esperamos hasta que la fase móvil suba por capilaridad a través de la lámina, hasta un centímetro por debajo del borde superior y retiramos.
- Se visualizó la lámina en la lámpara de luz ultravioleta.

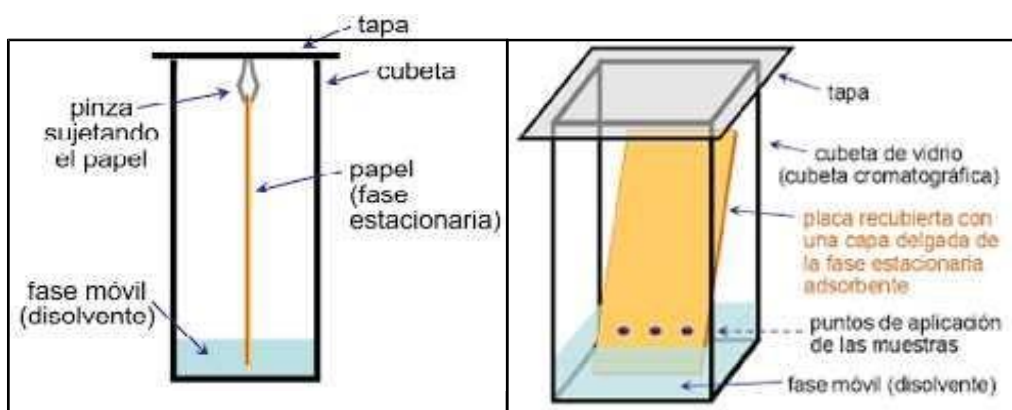


Figura 3. Cromatografía ascendente.(28)

Fuente: Veronica Quezada (2015)

3.6.6. Dilución de los diferentes extractos

- Para obtener concentraciones al 25%, 50 %, 75% y 100% respectivamente los extractos hidroalcohólicos del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (sábila), se guardaron en frascos de color ámbar.

3.6.6.1. Dilución de las concentraciones

Muestra total a utilizar en ml fue de 7.5 ml

Para dilución al 25%: Se utilizó 0.75 ml de extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila), más 2.25ml de agua destilada.

Para dilución al 50%: Se utilizó 1.5 ml de extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila), más 1.5ml de agua destilada.

Para dilución al 75%: Se utilizó 2.25 ml de extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila), más 0.75 ml de agua destilada.

Para dilución al 100%: Se utilizó 3 ml de extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila).

3.6.7. Procedimiento del Análisis microbiológico

Se utilizó el método de Kirby Bauer, consiste en la difusión de una muestra a través de una capa de agar solidificado, en una extensión tal que el crecimiento de microorganismos sensibles es inhibido en zonas alrededor del área que contiene los discos de papel secante impregnados con el antifúngico y la muestra del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) (32). ver anexo N°4.

Cepa control

Se trabajó con la cepa control, *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

Controles

Como control negativo se utilizó agua destilada estéril y como control positivo siguiendo lo establecido por el INS (33), se utilizaron discos de

sensibilidad L y D Insumed. SAC del antifúngico ketoconazol contra solución del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) al 25 %, 50 %, 75 % y 100 % frente a la bacteria *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

Medio de cultivo

El Agar Sabouraud se adicionó en placas de Petri para ensayo de sensibilidad Antifúngica. (30)

3.6.7.1 Preparación de Agar Sabouraud

- Se utilizó el medio de cultivo Sabouraud
- Se preparó el medio de cultivo de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se pesó 10,88 gr del agar y se disolvió en 320 ml de agua destilada, pH a 7.2-7.4 con solución de NaOH 0.1N.
- Se esterilizó en autoclave a una temperatura de 121° C por 15 minutos.
- Se llevó a baño María para enfriar a temperatura 48-50°C.
- Se distribuyó el medio en las placas de Petri hasta un nivel aproximado de mm. Esto corresponde a 20 ml de medio en placas Petri de 15 x 100 ml de diámetro interno.
- Se dejó solidificar el medio de cultivo durante 30 minutos.

3.6.7.2. Preparación del estándar (0,5 Mc. Farland) para el inóculo

- Para preparar este estándar se agregó 0.5 ml de BaCL₂ a 9,9 ml de una solución de H₂SO₄. Mezclar perfectamente en constante movimiento para mantener la suspensión.
- Se distribuyó de 4 ml a 6 ml en 10 tubos con tapa rosca similares a los que se usarán para preparar el inóculo.
- Se ajustó bien las tapas y se almacenó en un lugar oscuro a temperatura ambiente.

3.6.7.3. Preparación de discos de sensibilidad con el extracto

Los discos de sensibilidad se prepararon utilizando papel Whatman N°4, empleando un perforador convencional. Estos discos fueron

esterilizados en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Luego se procedió a agregar a cada uno de los discos 20 µl de las concentraciones al 25 %, 50 %, 75 % y 100 % del extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) y se dejó secar a temperatura ambiente.

3.6.7.4. Preparación del inóculo

- Se transfirió el hongo a un tubo que contiene de 4 a 5 mL de caldo Trypticasa soya.
- Se incubó el caldo a una temperatura entre 35°C a 37°C, hasta que alcance o exceda la turbidez del estándar 0,5 de la escala de Mc. Farland (por lo general de 2 a 6 horas).
- La suspensión que se preparó contendrá aproximadamente 1.5×10^9 U.F.C/mL para *Trichophyton rubrum*.

3.6.7.5. Inoculación de las placas

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión, rotamos varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo.

Se inoculó la superficie seca de la placa, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Ver Figura 4.

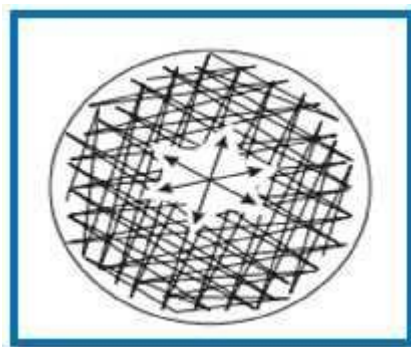


Figura 4. Direcciones en el sembrado del inóculo sobre la superficie del agar.

Fuente: Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión, INS (2002)

3.6.7.6. Aplicación de los discos

Se colocaron los discos individuales de menor a mayor concentración (25 %, 50 %, 75 % y 100 %) del extracto hidroalcohólico de acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) y el disco de antifúngico ketoconazol sobre la superficie del agar de Sabouraud con ayuda de pinzas estériles presionando suavemente para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.

Los discos cargados con las diferentes concentraciones del extracto, los controles positivos y control negativo se colocaron sobre placas inoculadas con extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila).

Un disco no debe ser removido una vez que tomó contacto con la superficie del agar debido a que algunos antibióticos se difunden rápidamente.

3.6.7.7. Incubación

Después de 15 minutos de aplicar los discos, se incubaron las placas en posición invertida a 35°C durante 18 horas. Después del tiempo recomendado de incubación, se examinó cada placa, donde se procedió a medir los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

3.6.7.8. Medición de los halos de inhibición

Se midió la zona de inhibición de cada disco contra una superficie oscura bajo luz reflejada.

Medimos el diámetro de la zona incluyendo los mm del disco, con una regla o Vernier sobre el respaldo de la placa Petri sin remover la placa.

Todos los ensayos fueron llevados por duplicado y se realizó cultivos de control de todas las cepas para comprobar su viabilidad. El criterio utilizado para la clasificación de la actividad antifúngico de los extractos evaluados en la tabla N°8.

3.6.7.9. Fórmula para determinar el porcentaje de inhibición

- Se midió la zona de inhibición de cada disco contra una superficie oscura bajo luz reflejada.
- Medimos el diámetro de la zona incluyendo los mm del disco, con una regla o Vernier sobre el respaldo de la placa Petri sin remover la placa.
- Fórmula para la Determinación del Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)

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

Tabla N° 3: Clasificación del efecto antifúngico según el porcentaje de inhibición.

Actividad antibacteriana	Porcentaje de inhibición
Inactiva	<19%
Poco activo	20 – 30%
Moderadamente activo	31 – 50%
Buena actividad	>61%

Fuente: Carvalho Xavier, 2002

3.7. PROCESAMIENTO DE DATOS

Se calculó la media y desviación estándar de los diámetros de inhibición, como medidas de tendencia central, obtenidas del extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila), que son presentados en tablas y gráficos. Los resultados se evaluaron mediante el método de Análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Science) v.23, por Windows 10, con el fin que tenga consistencia la información levantada de la ejecución del instrumento de investigación. Empleamos este método ya que permite comparar varias medias en diversas situaciones; muy ligado, por tanto, al diseño experimental. Las diferencias entre medidas de grupos fueron analizadas

mediante el test de comparaciones múltiples. Valor $p < 0.05$ fue considerado como significativo. Los resultados muestrales fueron inferidos mediante estimación por intervalo a un 95% de confianza.

Prueba estadística:

Análisis de Varianza:

Es el procedimiento estadístico que nos sirve para medir la variación total de las observaciones, la que se divide para sus componentes, quedando el residuo como error experimental. Este análisis nos indica la relación entre una variable dependiente (El efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios in vitro) y los factores independientes (Extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila)).

El análisis de varianza es un método en el que se puede comparar dos o más medias de las observaciones, además nos permite medir la variación de las respuestas numéricas como valores de evaluación de diferentes variables.

Se calculó el porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila), en la prueba de actividad antifúngica por el método de Difusión en agar (Kirby Bauer), estos valores son presentados en tablas y gráficos, clasificados de acuerdo a las especificaciones.

CAPITULO IV

PRESENTACIÓN Y ANALISIS DE RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Resultados de la prueba de solubilidad

Los resultados del ensayo de solubilidad obtenidos del extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) se muestra en la tabla N° 4.

Tabla N° 4: Resultados del ensayo de solubilidad.

1	Agua destilada	Soluble (++)
2	Alcohol	Soluble (++)
3	Metanol	Soluble (++)
4	Cloroformo	Insoluble (-)
5	Ciclohexeno	Insoluble (-)
6	Éter de petróleo	Insoluble (-)

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados se determinaron en tres niveles, siendo el nivel (-) la insolubilidad del extracto y los niveles (+) y (++) los que indican si el extracto es: moderadamente soluble y soluble, respectivamente.

4.1.2. Resultados del screening fitoquímico.

Los resultados de la identificación de tipos de metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila), se muestra en la tabla N° 5.

Tabla N° 5: Resultados del screening fitoquímico.

METABOLITOS	REACTIVO DE IDENTIFICACIÓN	RESULTADO
Flavonoides	Reactivo de Shinoda	+++
Flavonoides	Reacción $Pb(CH_3COO)_2$	++
Taninos	Cloruro Férrico al 5%	+++
Taninos	Gelatina Salada	+++
Aminoácidos	Reacción con Ninhidrina	++
Saponinas	Reacción con agua	+++
Cumarinas	Reacción NaOH al 10%	++
Alcaloides	Reacción Dragendorff	+
Alcaloides	Reacción Mayer	+
Alcaloides	Reacción Wagner	+
Quinonas	Reacción borntreger	++

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados fueron medidos en cuatro niveles, siendo el nivel (-) la ausencia de metabolitos y los niveles (+), (++) y (+++) que indican presencia de metabolitos en nivel bajo, medio y alto, respectivamente.

Interpretación de los resultados:

Como se observa en la tabla N° 5, el extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila), presento un abundante contenido de metabolitos en su composición.

La presencia de alcaloides en el extracto se presenta como cantidad baja. Referente a los flavonoides que se encuentran en una cantidad abundante gracias a los resultados obtenidos. Los taninos se encuentran en una cantidad abundante porque al añadir $FeCl_3$ al 5% la coloración se tornó verde entendiéndose como la presencia de taninos y con la gelatina salada (1% de gelatina + 10 % de NaCl) si se logró identificar el precipitado blanco.

Al analizar la presencia de saponinas se observó la presencia abundante de estos ya que formó una cantidad alta de espuma cuando se añadió agua y se agitó la mezcla. Con respecto a los aminoácidos y cumarinas se encuentran en cantidad media. Gracias a la investigación fitoquímica del extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila). Se logró determinar la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, quinonas, saponinas, aminoácidos y cumarinas.

Tabla 6. Resultados cromatografía del extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila)

Principio activo	Fase Móvil	Revelador	Número de manchas	Rf
Alcaloides	Cloroformo: metanol (18:1)	Reactivo de Dragendorff	1	0.92
Flavonoides	Butanol: ácido acético: agua (4:1:5)	UV Fluorescencia	6	0.98 0.56 0.58 0.18 0.16

Fuente: Salazar, Alexis. 2015

Rf = factor de retención de cada compuesto calculado como: distancia recorrida por el compuesto / distancia recorrida por la fase móvil.

Interpretación de los resultados:

En la cromatografía de capa fina realizada al extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) a 365 nm para flavonoides se evidenció la presencia de compuestos con fluorescencia verde que corresponderían a 6 flavonoides diferentes. Y una débil fluorescencia a 254 nm en la cromatografía de capa fina para alcaloides indica la presencia de alcaloides.

4.1.3. Resultados del ensayo microbiológico

Evaluación de la actividad antifúngica in vitro

Tabla N°7: Interpretación del crecimiento antifúngico según el porcentaje de efectividad de la concentración del extracto hidroalcohólico del acíbar de Aloe Vera (L) Burn. (Sábila).

Crecimiento Microbiano	Especificación Crecimiento
-	Ausencia
+/-	Escaso
+	Moderado
++	Abundante
+++	Muy abundante

Tabla N°8: Lectura de porcentaje de actividad antifúngica sobre

Trichophyton rubrum ATCC 28188 a las 120, 144 y 168 horas.

Concentración EHA(VS)	Placa Petri	Tiempo (horas)		
		120h	144h	168h
25 %	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-
50 %	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-
75 %	1	++	+++	++
	2	+++	++	+++
	3	+++	+++	++
100 %	1	++	+++	++
	2	+++	++	+++
	3	+++	+++	++

Tabla N° 9: Halos de inhibición según el porcentaje de efectividad de la concentración del extracto Hidroalcohólico del Acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila).

Concentración de discos	Lectura										Promedio (mm)
	120 horas			144 horas			168 horas			Σ	
	Lectura 1 (mm)	Lectura 2 (mm)	Lectura 3 (mm)	Lectura 1 (mm)	Lectura 2 (mm)	Lectura 3 (mm)	Lectura 1 (mm)	Lectura 2 (mm)	Lectura 3 (mm)		
EHAAS(S) 25%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EHAAS(S) 50%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EHAAS(S) 75%	4	4	4	5	5	4	6	6	5	43	4,77
EHAAS(S) 100%	6	4	6	10	10	12	14	16	16	93.99	10,44
Ketoconazol 2%	16	18	16	22	22	20	28	28	26	196	21,77
Agua Destilada 0%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Interpretación de los resultados:

De acuerdo a lo reportado en la tabla N° 10, los resultados obtenidos de la lectura de formación de los halos de inhibición son:

- El extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) a una concentración al 25 y 50% no presentan formación del halo de inhibición, por lo tanto a dicha concentración no posee efecto antifúngico.
- El extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) a una concentración al 75% si presenta formación del halo de inhibición en las muestras por triplicado que se realizó, el mejor resultado se observó a las 168 h de incubado. La suma promedio fue de 43 y el rango promedio de 4,77.
- Se reporta que el extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) a una concentración al 100% si presenta formación del halo de inhibición en las muestras por triplicado que se realizó, los resultados fueron más significantes en comparación a la concentración al 75%. La suma promedio fue de 93.99 y el rango promedio de 10,44.
- En las muestras procesadas por triplicado, los resultados en los controles positivos fueron: el antibiótico ketoconazol, presenta mayor medida de la formación de los halos de inhibición. La suma promedio fue de 196 y el rango promedio de 21,77

Fórmula para la determinación del porcentaje de inhibición.

El porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) se calculó aplicando la siguiente fórmula (53) teniendo como referencia la medición del diámetro de la zona de inhibición del control positivo y la medición del halo de los extractos ensayados.

Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)

$$\text{PEIR} = \frac{\text{X } \emptyset \text{ Halo de inhibición del extracto}}{\text{X } \emptyset \text{ Halo de inhibición del control positivo}} \times 100$$

El halo de inhibición del desarrollo de *Aloe vera* promedio del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) a 75% es 4,77 mm y del ketoconazol como fármaco de referencia es 21,77 mm.

$$\text{PEIR} = \frac{4,77}{21,77} \times 100 = 21,91\%$$

El halo de inhibición del desarrollo de *Aloe vera* promedio del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) a 100% es 10,44 mm y del ketoconazol como fármaco de referencia es 21,77 mm.

$$\text{PEIR} = \frac{10,44}{21,77} \times 100 = 47,96\%$$

Grafico 1. Porcentaje de efecto inhibitorio relativo del ketoconazol vs. el extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) (100%)

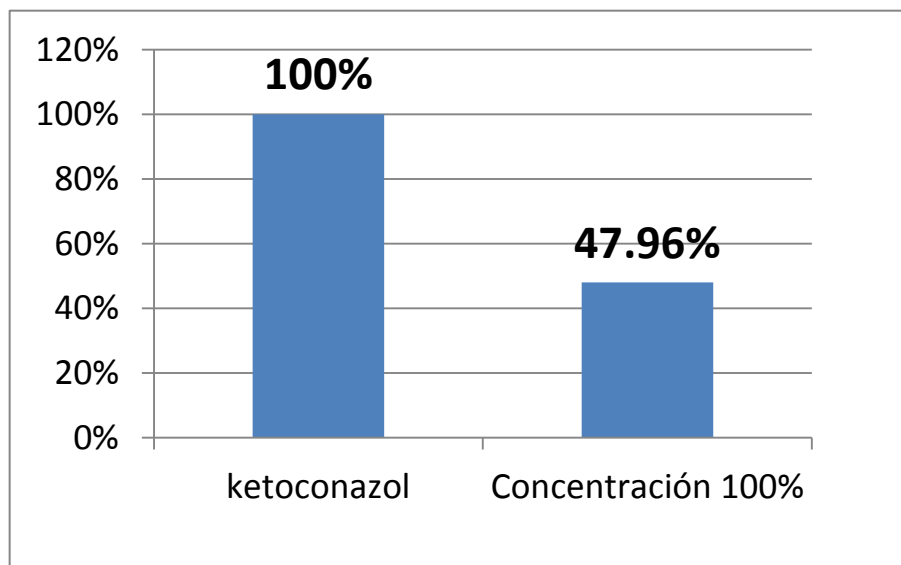


Tabla N° 10: Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) según concentración. (Expresados en %)

Concentración de discos	Promedio (mm)
EHA AV(S) 25%	0
EHA AV(S) 50%	0
EHA AV(S) 75%	4,77
EHA AV(S) 100%	10,44
Ketoconazol	21,77

Concentración del extracto vs control positivo	Porcentaje de inhibición	Actividad antifúngica
Extracto de 75 % vs ketoconazol	21,91%	Poco activo
Extracto de 100 % vs ketoconazol	47,96%	Moderadamente activo

Interpretación de los resultados:

Se aplicó la fórmula para la determinación del porcentaje de inhibición.

- En el extracto a una concentración de 25% y 50% se reporta ausencia de formación del halo de inhibición, Mientras en el extracto a una concentración de 75% reporta 21,91 % de efecto inhibitorio tomando como referencia a la ketoconazol que tendrá el 100% de efectividad inhibitorio.
- En el extracto a una concentración de 100% reporta 47,96% de efecto inhibitorio tomando como referencia a la de ketoconazol que tendrá el 100% efecto inhibitorio.

Análisis estadístico de los resultados obtenidos en los ensayos in vitro.

Tabla N° 11: Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* a las 120h

Unidireccional

Descriptivos						
Lectura_1_120h						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
EHA AV(S) 25%	3	,00	,000	,000	,00	,00
EHA AV(S) 50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
EHA AV(S) 75%	3	4,00	,000	,000	4,00	4,00
EHA AV(S) 100%	3	5,33	1,155	,667	2,46	8,20
Ketoconazol	3	18,67	3,055	1,764	11,08	26,26
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	5,62	6,801	1,484	2,52	8,71

ANOVA					
Lectura_1_120h					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	900,952	6	150,159	87,593	,000
Dentro de grupos	24,000	14	1,714		
Total	924,952	20			

Tabla N° 12: Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* a las 144h

Unidireccional

Descriptivos						
Lectura_1_144h						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
EHA AV(S) 25%	3	,00	,000	,000	,00	,00
EHA AV(S) 50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
EHA AV(S) 75%	3	4,67	,577	,333	3,23	6,10
EHA AV(S) 100%	3	10,67	1,155	,667	7,80	13,54
Ketoconazol	3	21,33	1,155	,667	18,46	24,20
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	7,14	7,882	1,720	3,55	10,73

ANOVA					
Lectura_1_144h					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1233,905	6	205,651	332,205	,000
Dentro de grupos	8,667	14	,619		
Total	1242,571	20			

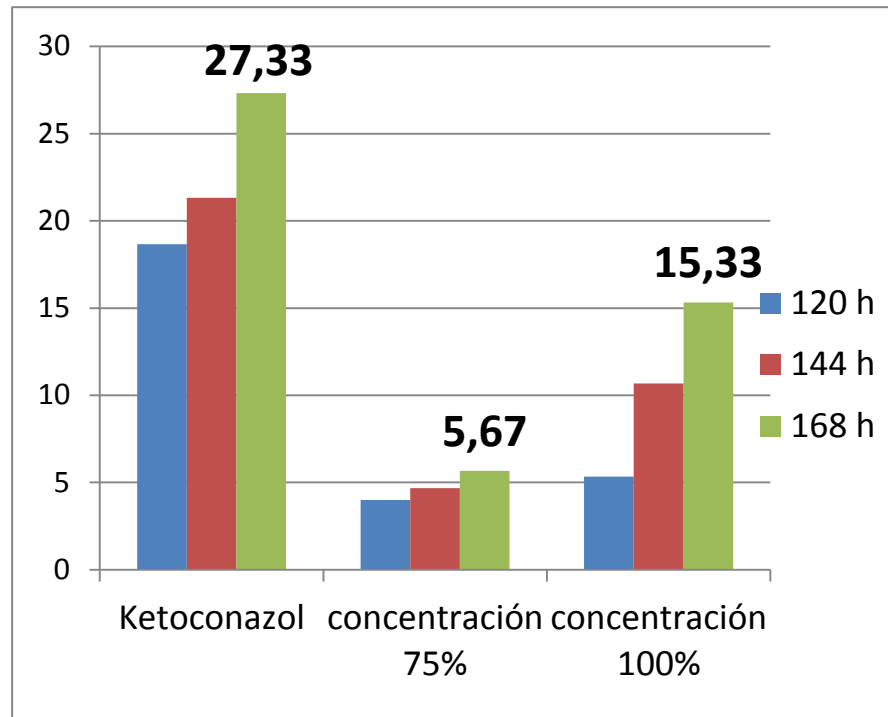
Tabla N° 13: Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* a las 168h

Unidireccional

Descriptivos						
Lectura_1_168h						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
EHA AV(S) 25%	3	,00	,000	,000	,00	,00
EHA AV(S) 50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
EHA AV(S) 75%	3	5,67	,577	,333	4,23	7,10
EHA AV(S) 100%	3	15,33	1,155	,667	12,46	18,20
Ketoconazol	3	27,33	1,155	,667	24,46	30,20
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	9,29	10,184	2,222	4,65	13,92

ANOVA					
Lectura_1_168h					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2065,619	6	344,270	556,128	,000
Dentro de grupos	8,667	14	,619		
Total	2074,286	20			

Grafico 3. Lectura de formación de los halos de inhibición según el porcentaje de efectividad de la concentración del extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) al 75 % y 100% vs ketoconazol a las 120, 144, y 168h



Interpretación de los resultados estadísticos:

Las tablas 12, 13 y 14 muestran el análisis de varianza de los efectos sobre los cultivos de *Trichophyton rubrum* con sus pruebas de comparaciones múltiples e intervalos de confianza al 95% según lo siguiente:

Para el hongo *Trichophyton rubrum* se encontraron significancias estadísticas, en el modelo corregido ($p=0,000$), de igual forma para la intersección entre extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila), el hongo y la concentración se determinó significancia estadística ($p=0,000$) lo mismo para los diferentes niveles de concentraciones ($p =0,000$).

La tabla 13 muestra la media de las concentraciones a las 168h, la concentración al 75% es de 5,67, al 100% es de 15,33. Mientras que los controles positivos, Ketoconazol es de 27,33. Por lo tanto se aprecia que extracto hidroalcohólico del

acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) en la concentración al 100% a las 168h posee efecto antifúngico aproximado al efecto del Ketoconazol.

Tabla N° 14: Contrastes post hoc y comparaciones múltiples (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) Sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* a las 120h

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente: Lectura_1 _120h							
	(I) Concentración del extracto	(J) Concentración del extracto	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	EHA AV(S) 25%	50%	,000	1,069	1,000	-3,65	3,65
		75%	-4,000	1,069	,028	-7,65	-,35
		100%	-5,333	1,069	,003	-8,98	-1,68
		Ketoconazol	-18,667	1,069	,000	-22,32	-15,02
		Agua destilada	,000	1,069	1,000	-3,65	3,65
	EHA AV(S) 50%	25%	,000	1,069	1,000	-3,65	3,65
		75%	-4,000	1,069	,028	-7,65	-,35
		100%	-5,333	1,069	,003	-8,98	-1,68
		Ketoconazol	-18,667	1,069	,000	-22,32	-15,02
		Agua destilada	,000	1,069	1,000	-3,65	3,65
	EHA AV(S) 75%	25%	4,000	1,069	,028	,35	7,65
		50%	4,000	1,069	,028	,35	7,65
		100%	-1,333	1,069	,864	-4,98	2,32
		Ketoconazol	-14,667	1,069	,000	-18,32	-11,02
		Agua destilada	4,000	1,069	,028	,35	7,65
	EHA AV(S) 100%	25%	5,333	1,069	,003	1,68	8,98
		50%	5,333	1,069	,003	1,68	8,98
		75%	1,333	1,069	,864	-2,32	4,98
		Ketoconazol	-13,333	1,069	,000	-16,98	-9,68
		Agua destilada	5,333	1,069	,003	1,68	8,98

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente: Lectura_1_120h							
	(I) Concentración del extracto	(J) Concentración del extracto	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	Ketoconazol	25%	18,667	1,069	,000	15,02	22,32
		50%	18,667	1,069	,000	15,02	22,32
		75%	14,667	1,069	,000	11,02	18,32
		100%	13,333	1,069	,000	9,68	16,98
		Agua destilada	18,667	1,069	,000	15,02	22,32
		Agua destilada	11,333	1,069	,000	7,68	14,98
	Agua destilada	25%	,000	1,069	1,000	-3,65	3,65
		50%	,000	1,069	1,000	-3,65	3,65
		75%	-4,000	1,069	,028	-7,65	-,35
		100%	-5,333	1,069	,003	-8,98	-1,68
Ketoconazol		-18,667	1,069	,000	-22,32	-15,02	

La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Tabla N° 15: Contrastes post hoc y comparaciones múltiples (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto Hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) Sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* a las 144h

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente: Lectura_1_144h							
	(I) Concentración del extracto	(J) Concentración del extracto	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	EHA AV(S) 25%	EHA AV(S) 50%	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
		EHA AV(S) 75%	-4,667*	,642	,000	-6,86	-2,47
		EHA AV(S) 100%	-10,667	,642	,000	-12,86	-8,47
		Ketoconazol	-21,333	,642	,000	-23,53	-19,14
		Agua destilada	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
	EHA AV(S) 50%	EHA AV(S) 25%	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
		EHA AV(S) 75%	-4,667*	,642	,000	-6,86	-2,47
		EHA AV(S) 100%	-10,667	,642	,000	-12,86	-8,47
		Ketoconazol	-21,333	,642	,000	-23,53	-19,14
		Agua destilada	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
	EHA AV(S) 75%	EHA AV(S) 25%	4,667	,642	,000	2,47	6,86
		EHA AV(S) 50%	4,667	,642	,000	2,47	6,86
		EHA AV(S) 100%	-6,000	,642	,000	-8,19	-3,81
		Ketoconazol	-16,667	,642	,000	-18,86	-14,47
		Agua destilada	4,667	,642	,000	2,47	6,86
	EHA AV(S) 100%	EHA AV(S) 25%	10,667	,642	,000	8,47	12,86
		EHA AV(S) 50%	10,667	,642	,000	8,47	12,86
		EHA AV(S) 75%	6,000	,642	,000	3,81	8,19
		Ketoconazol	-10,667	,642	,000	-12,86	-8,47
		Agua destilada	-10,667	,642	,000	8,47	12,86
	Ketoconazol	EHA AV(S) 25%	21,333	,642	,000	19,14	23,53
		EHA AV(S) 50%	21,333	,642	,000	19,14	23,53
		EHA AV(S) 75%	16,667	,642	,000	14,47	18,86
		EHA AV(S) 100%	10,667	,642	,000	8,47	12,86
		Agua destilada	21,333	,642	,000	19,14	23,53

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente: Lectura_1_144h							
	(I) Concentración del extracto	(J) Concentración del extracto	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	Agua destilada	EHAAS(S) 25%	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
		EHAAS(S) 50%	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
		EHAAS(S) 75%	-4,667	,642	,000	-6,86	-2,47
		EHAAS(S) 100%	-10,667	,642	,000	-12,86	-8,47
		Ketoconazol	-21,333	,642	,000	-23,53	-19,14

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

Tabla N° 16: Contrastes post hoc y comparaciones múltiples (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto Hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) Sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* a las 168h

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente: Lectura_1_144h							
	(I) Concentración del extracto	(J) Concentración del extracto	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	EHAAS(S) 25%	EHAAS(S) 50%	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
		EHAAS(S) 75%	-5,667	,642	,000	-7,86	-3,47
		EHAAS(S) 100%	-15,333	,642	,000	-17,53	-13,14
		Ketoconazol	-27,333	,642	,000	-29,53	-25,14
		Agua destilada	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
	EHAAS(S) 50%	EHAAS(S) 25%	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
		EHAAS(S) 75%	-5,667	,642	,000	-7,86	-3,47
		EHAAS(S) 100%	-15,333	,642	,000	-17,53	-13,14
		Ketoconazol	-27,333	,642	,000	-29,53	-25,14
		Agua destilada	,000	,642	1,000	-2,19	2,19

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente: Lectura_1 _168h							
	(I) Concentración del extracto	(J) Concentración del extracto	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	EHA AV(S) 75%	EHA AV(S) 25%	5,667*	,642	,000	3,47	7,86
		EHA AV(S) 50%	5,667*	,642	,000	3,47	7,86
		EHA AV(S) 100%	-9,667*	,642	,000	-11,86	-7,47
		Ketoconazol	-21,667*	,642	,000	-23,86	-19,47
		Agua destilada	5,667*	,642	,000	3,47	7,86
	EHA AV(S) 100%	EHA AV(S) 25%	15,333*	,642	,000	13,14	17,53
		EHA AV(S) 50%	15,333*	,642	,000	13,14	17,53
		EHA AV(S) 75%	9,667*	,642	,000	7,47	11,86
		Ketoconazol	-12,000*	,642	,000	-14,19	-9,81
		Agua destilada	15,333*	,642	,000	13,14	17,53
	Ketoconazol	EHA AV(S) 25%	27,333*	,642	,000	25,14	29,53
		EHA AV(S) 50%	27,333*	,642	,000	25,14	29,53
		EHA AV(S) 75%	21,667*	,642	,000	19,47	23,86
		EHA AV(S) 100%	12,000*	,642	,000	9,81	14,19
		Agua destilada	27,333*	,642	,000	25,14	29,53
	Agua destilada	EHA AV(S) 25%	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
		EHA AV(S) 50%	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
		EHA AV(S) 75%	-5,667*	,642	,000	-7,86	-3,47
		EHA AV(S) 100%	-15,333*	,642	,000	-17,53	-13,14
		Ketoconazol	-27,333*	,642	,000	-29,53	-25,14

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

Interpretación de los resultados estadísticos:

La tabla 15, 16 y 17 muestra las comparaciones múltiples de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* del que se aprecia lo siguiente:

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los halos de inhibición según niveles de concentración del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) para *Trichophyton rubrum* con significancias ($p=0,000$) $p<0,05$; siendo la de mayor diferencia la del nivel de concentración al 100% en comparación con los demás niveles.

4.2. Contrastación De Hipótesis

Para realizar la contrastación de hipótesis, se procedió a aplicar la prueba estadística de ANOVA, que permite la comparación de las puntuaciones medias entre más de dos grupos muestrales, como en el caso de este estudio, que considera un grupo de control y cuatro grupos experimentales. La finalidad de esta prueba es establecer si existen o no diferencias significativas entre los grupos de tratamiento, comparados en la media de halos de inhibición en cepas de *Trichophyton rubrum*, con las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila).

Así mismo, para determinar la concentración del extracto hidroalcohólico con mayor efecto antimicótico, se empleó el método de Kirby hauer, así como las diferentes concentraciones de extracto del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. "sábila".

El extracto hidroalcohólico de acíbar del ***Aloe Vera*** (L.) Burn (Sábila) presenta efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.

En el antifungigrama con extractos de diferentes concentraciones respectivamente los discos fueron aplicados y comparados con un disco de antibiograma de Ketoconazol 2% frente a *Trichophyton rubrum* frente al extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) para comparar y observar la inhibición y actividad antibiótica de las diferentes

concentraciones del extracto hidroalcohólico del acíbar de Aloe Vera (L) Burn. (Sábila) los porcentajes de 25 y 50 por ciento no presentaron actividad antifúngica frente a *Trichophyton rubrum*, el 75 y 100 por ciento si presentaron actividad antifúngica frente a *Trichophyton rubrum* encontrada fue alta de un 21,91%, 47,96% respectivamente.

La comprobación de la hipótesis general está dada en función de las contrastaciones realizadas con cada una de las hipótesis específicas. En consecuencia, al haberse encontrado significatividad en los resultados estadísticos del ANOVA y el test de Turkey, tanto en cepas de *Trichophyton rubrum*, se infiere que el mencionado extracto influye en la actividad antimicótica, con un significativo incremento del área de los halos de inhibición.

Decisión: Por tanto, se rechaza la hipótesis nula de la hipótesis general

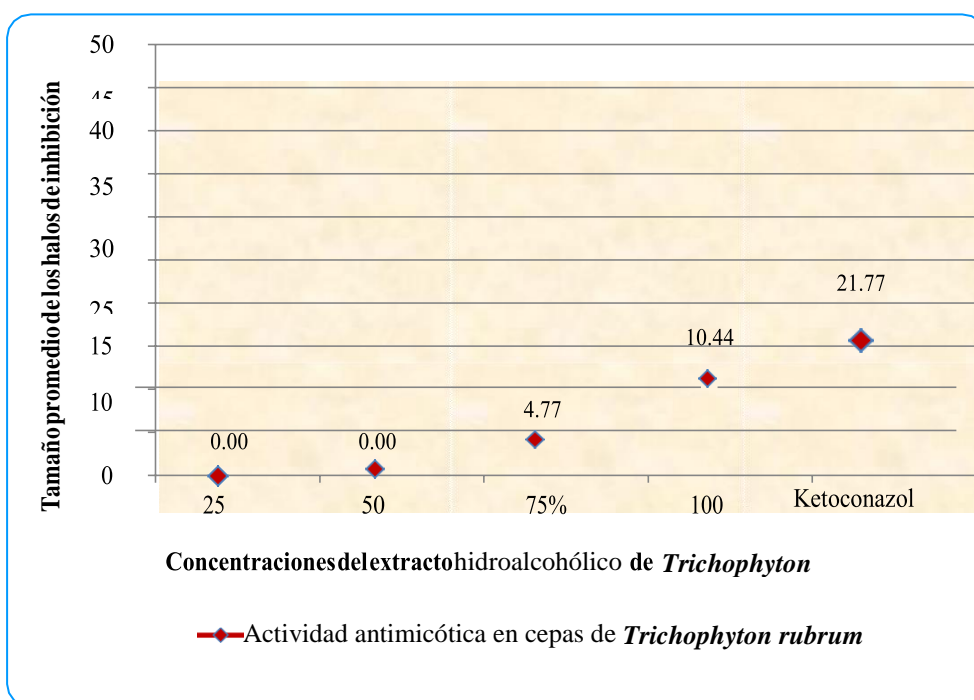


Gráfico 1. Promedios de halos de inhibición del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. "sábila" en cepas de *Trichophyton rubrum*

Promedios de los halos de inhibición en las cepas de *Trichophyton rubrum* como efecto de las concentraciones del extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila).

Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de acíbar del ***Aloe Vera*** (L.) Burn (Sábila) son los posibles responsables del efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.

Mediante la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila), pudimos observar la presencia de los siguientes metabolitos como podemos visualizarlo en la **tabla N° 05**.

TABLA N°5 – marcha fitoquímica

METABOLITOS	REACTIVO DE IDENTIFICACIÓN	RESULTADO
Flavonoides	Reactivo de Shinoda	+++
Flavonoides	Reacción $Pb(CH_3COO)_2$	++
Taninos	Cloruro Férrico al 5%	+++
Taninos	Gelatina Salada	+++
Aminoácidos	Reacción con Ninhidrina	++
Saponinas	Reacción con agua	+++
Cumarinas	Reacción NaOH al 10%	++
Alcaloides	Reacción Dragendorff	+
Alcaloides	Reacción Mayer	+
Alcaloides	Reacción Wagner	+
Quinonas	Reacción borntrager	++

LEYENDA

- (+)** Presencia Positiva de Intensidad Baja
- (++)** Presencia Positiva de Intensidad Regular
- (+++)** Presencia Positiva de Intensidad Abundante

Como se observa en la tabla N° 5, el extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila), presenta un abundante contenido de metabolitos en su composición.

El extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L.) Burn (Sábila) presenta una concentración con mayor efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.

Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de acíbar del ***Aloe Vera*** (L.) Burn (Sábila) son los posibles responsables del efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.

TABALA N° 17 - Prueba de ANOVA de la media de halos de inhibición en las cepas de *Trichophyton rubrum*.

Prueba de ANOVA					
Tratamientos	N	Media	Desv. Estándar	F	Sig.
ketoconazol	3	27,33	1,155	556,128	0,000
25%	3	0,00	0,00		
50%	3	0,00	0,00		
75%	3	5.67	0,577		
100%	3	15,33	1,155		

** Significativo al nivel de $p < 0,05$.

En la tabla 17 se observa que la media más alta de halos de inhibición en las cepas de *trichophyton rubrum* (27,33) se mantiene en el grupo de control, en el que se aplicó ketoconazol como antimicótico. No obstante, entre las concentraciones de los extractos hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) la mayor medición media (15,33) se registra en el grupo con 100% de concentración del extracto. Por el contrario, la media más baja en halos de inhibición (0,00) corresponde al grupo con solo 25% y 75% de concentración del extracto. De otro lado, el valor estadístico de la prueba de ANOVA (F = 556,128; Significación = 0,000) indica que las diferencias en las medias de halos de inhibición entre grupos son significativas al nivel de $p < 0,01$.

Decisión: Por consiguiente, se rechaza la hipótesis nula.

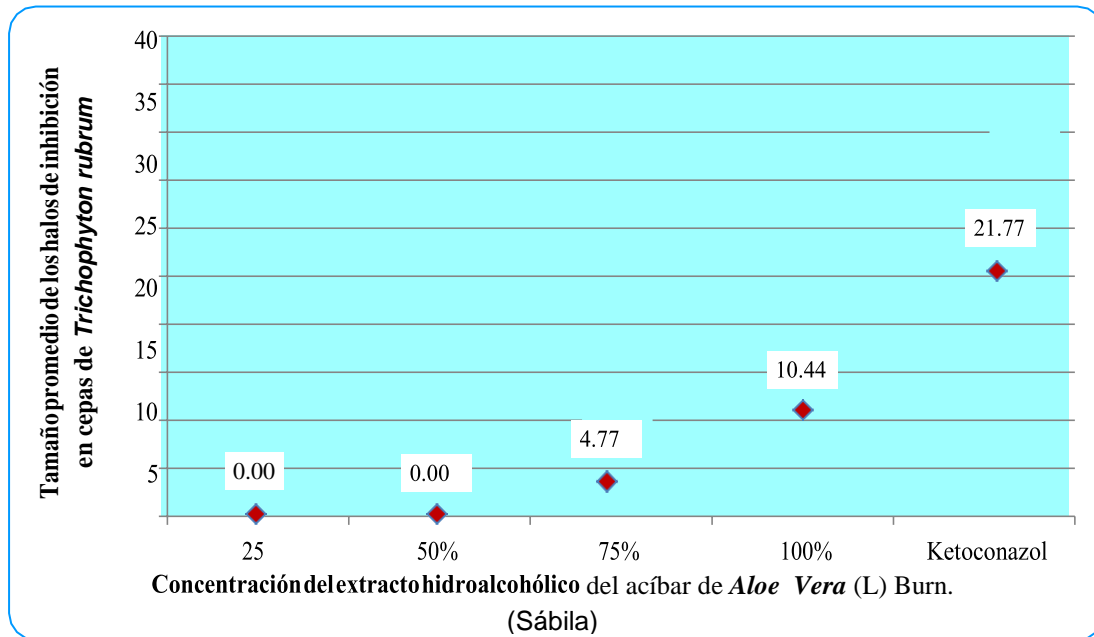


Gráfico 2. Promedios de halos de inhibición de del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) en cepas de *Trichophyton rubrum*

Promedios de los halos de inhibición en las cepas de *Trichophyton rubrum* como efecto de las concentraciones del extracto hidroalcohólico del acíbar de **Aloe Vera** (L) Burn. (Sábila) Método de DSH de Tukey de las medias de halos de inhibición en las cepas de *Trichophyton rubrum*.

El extracto hidroalcohólico del acíbar de **Aloe Vera** (L) Burn. (Sábila) presenta mayor efecto antifúngico respecto al ketoconazol sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*.

TABLA N° 18 – COMPARACIONES MULTIPLES

Comparaciones múltiples				
(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
25%	ketoconazol	-27,333*	6,42	0,000
50%	ketoconazol	-27,333*	6,42	0,000
75%	ketoconazol	-21,667*	6,42	0,000
100%	ketoconazol	-12,000*	6,42	0,000

* Significativo al nivel de $p < 0,05$.

Se observa en la tabla 18 que hay diferencias significativas de los tratamientos empleados comparados con el tratamiento del grupo de control ($p < 0,05$). Donde se observa una menor diferencia de medias (-12,000) es en el grupo del extracto con 100% de concentración. Es decir, se puede afirmar que el extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila), con 100% de concentración, es el más eficaz en la actividad antimicótica *in vitro* en cepas de *trichophyton rubrum*. Las otras concentraciones de extracto (25% y 50%) no registran medias de halos de inhibición y son bastante similares entre sí.

TABLA N° 19 - Subconjuntos homogéneos según el método de DSH de Tukey de las medias de halos de inhibición en las cepas de *trichophyton rubrum*

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
25%	3	0.00	
50%	3	0.00	
75%	3	5,67	5,67
100%	3		15,33

En la tabla 19 se visualizan dos subconjuntos homogéneos, según el método DSH de Tukey: un primer subconjunto donde se agrupan los

tratamientos con concentraciones de 25%, 50%; el segundo subconjunto corresponde a los tratamientos con concentraciones de 75% y 100%.

4.3. Discusión de resultados

En solubilidad se observa que el extracto hidroalcohólico del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) es muy soluble en los reactivos metanol, etanol y agua; y poco soluble en los reactivos cloroformo, ciclohexano y éter de petróleo.

Un trabajo similar es el realizado por Malca J., Rodríguez C. (2017), quienes encontraron en el extracto acuoso de la planta descrita que la solubilidad con referencia a la polaridad frente a agua y el diclorometano es apolar, frente a etanol es medianamente polar y frente a metanol es polar similar a la solubilidad del acíbar de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila).

Mediante la marcha fitoquímica se logró identificar los fitoconstituyentes que componentes de *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila), tales como compuestos fenólicos, aminoácidos, taninos, alcaloides, flavonoides, antraquinonas etc. Un trabajo similar es el realizado por Malca J., Rodríguez C. (2017), quienes encontraron en el extracto acuoso de la planta descrita fitoconstituyentes como: alcaloides, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, lactonas, esteroides, alcaloides, antraquinonas, aminoácidos y antocianidinas. Y por último, en el extracto diclorometánico reportaron fitoconstituyentes como: ácidos grasos, alcaloides y esteroides y en la cromatografía respectivamente se evidencio presencia de metabolitos secundarios

Por su parte, Marcos A., Mendieta L. (2015)¹¹ hallaron en el acíbar del *Aloe Vera* (L) Burn. (Sábila) una gran variedad de fitoconstituyentes como azúcares reductores, lactonas, triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, aminoácidos, flavonoides, antraquinonas, antocianidinas y alcaloides y cromatografía respectivamente se evidencio presencia de metabolitos secundarios

Los resultados obtenidos con la prueba de ANOVA indican que existen diferencias significativas entre los extractos a diferentes concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%), en comparación con el de ketoconazol. Es decir, se ha logrado probar la efectividad del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) en el incremento de diámetro del halo de inhibición en cepas de *Trichophyton rubrum*. Cabe mencionar que donde se observa un mayor desarrollo del halo de inhibición es en la concentración de 75% y 100%. Asimismo, se puede afirmar que hay mayor actividad antimicótica en el extracto en concentraciones al 100%.

Marcos A., Mendieta L. (2015) se aplicaron concentraciones de 50%, 75%, 100% del extracto hidroalcohólico de la acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) como resultado a la concentración de 100% fue la que presentó mayor porcentaje de inhibición para *Trichophyton rubrum* de 69.3%.

Por otro lado en la determinación de la concentración fungicida para el conteo de las Unidades Formadora de Colonias (UFC) se observa que hay diferencia significativa entre el grupo que recibió tratamiento de ketoconazol y el que no recibió, siendo el grupo que recibió tratamiento el promedio de colonia formada presento sensibilidad y el que no recibió fue resistente frente a cultivo de *Trichophyton rubrum*. Con lo que respecta al extracto hidroalcohólico en sus diferentes concentraciones se observó que las concentraciones de 75% y 100% respectivamente son altamente significativas ya que no se formaron Unidad Formadora de Colonia (UFC) puesto que afirma a nuestra investigación demostrando que el extracto hidroalcohólico del acíbar del ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) posee efecto inhibitorio significativamente en dos diferentes concentraciones 75% y 100% frente a cepas de *Trichophyton rubrum*.

Presentando resistencia fúngica en la concentración de 25% y 50 % ya que se evidenció UFC en dichas concentraciones.

Según Castañeda J. (2016) en la tesis “Efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe vera*** (L.) Burn. (Sábila) sobre cepa *Trichophyton rubrum* estudios *in vitro*” ellos también realizaron

concentraciones al 25%, 50%, 75%, 100% donde la concentración fungicida se obtuvieron resultados que dieron que el extracto a dichas concentraciones tuvieron efecto antifúngico. Se observó el crecimiento de la cepa *Trichophyton rubrum*. Probados en el fluconazol teniendo un promedio de sensibilidad bacteriana unidades formadoras de colonias (UFC), que nos indica la resistencia al fármaco. En lo concerniente a la resistencia del fluconazol según algunos autores como Zuluaga A., et al. (2010), tras un estudio que realizaron fue determinar la frecuencia y la sensibilidad frente a fluconazol y al voriconazol en separación de la especie *Trichophyton rubrum*. Que fueron provenientes de pacientes en tratamiento como resultado un 11,9% que resultó sensible de acuerdo a la dosis y un 9,8% fue resistente al fluconazol.

Los resultados muestran la eficacia del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) en la actividad antifúngica in vitro en cepas de *Trichophyton rubrum*, que presentaron una mayor sensibilidad frente al extracto de concentración al 100%, con un crecimiento promedio del halo de inhibición de 10,44 mm.

Marcos A., Mendieta L. (2015)¹¹ aplicaron concentraciones de 5% p/v, 15% p/v y 30% p/v del extracto hidroalcohólico de las hojas del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila), las que inhibieron el crecimiento de las cepas estudiadas, siendo la concentración de 100% p/v, la que presentó un mayor porcentaje de inhibición, con 81.9% para *Trichophyton rubrum*, encontrándose diferencias estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Los resultados comprueban la eficacia del extracto del acíbar del ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) en la actividad antifúngica in vitro en cepas de *Aspergillus brasiliensis*, que, como en el caso anterior, presentaron una mayor sensibilidad frente al extracto de concentración al 75%, con un crecimiento promedio del halo de inhibición de 9.95 mm. Aunque no se han publicado estudios a nivel nacional con el extracto hidroalcohólico del acíbar del ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila), se dispone de otros trabajos que investigaron sobre la actividad antimicótica de otras plantas. Tal es el caso de Dueñas M. (2013), quien concluyó que el aceite esencial de la muña *Mintostachys acris*

Schmidt-Leb tiene efecto antifúngico sobre *Trichophyton rubrum* en sus dos fases, viendo que es más susceptible la fase levaduriforme.

También se dispone de la investigación de Malca J., Rodríguez C. (2013)¹², quien estudió la actividad antimicótica del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Clibadium surinamense* L. Huaca. Demostró que los factores de concentración y tiempo de incubación influyen en la sensibilidad de los hongos filamentosos (*Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*) a los antifúngicos. Observaron que el extracto acuoso liofilizado del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) presentó actividad antifúngica *in vitro* sobre *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. Los Metabolitos secundarios: alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, aminoácidos y cumarinas presentes en el extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) son los posibles responsables del efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum*, estudios *in vitro*.
2. El extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) a la concentración del 75% y al 100% presentan mayor efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum*, estudios *in vitro*.
3. El extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila) presenta un efecto menor en concentración al 100% el cual es de 15.33 con respecto al ketoconazol al 2% cuyo valor es del 27.33

5.2. Recomendaciones

- 1) Realizar ensayos experimentales de réplica con la aplicación de extractos en concentraciones al 100%, a fin de ampliar la validez interna de los resultados obtenidos en este campo específico.
- 2) Realizar estudios de seguridad del extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila).
- 3) Realizar estudios de aislamiento, identificación y caracterización de los compuestos con actividad farmacológica presentes en el extracto hidroalcohólico del acíbar de ***Aloe Vera*** (L) Burn. (Sábila).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ramirez, Luz Stella; Marin Castaño, Darwin METODOLOGIAS PARA EVALUAR IN VITRO LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPUESTOS DE ORIGEN VEGETAL. Disponible en.
2. Sociedad Peruana de Derecho Ambiental [Internet]. Análisis de Potenciales Casos de Biopiratería en el Perú; 2005[consultado el 10 de septiembre de 2017] Disponible en: <http://cendoc.esan.edu.pe/fulltext/e-documents/SerieIniciativa3.pdf>.
3. Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas M, Verde-Star M, Investigación en plantas de importancia médica, 2016.
4. S Ruiz Escusola , E Guijarro Tapiab , A Cardona Marqués , MM Hernández AlabardEpidemia de tiña por Trichophyton tonsurans en una escuela, 2016
5. Moreno Parada Ericka, 2013 Capacidad antibacteriana del aloe vera en cepas de pseudomonas aeruginosa, staphilococcus aureus y escherichia coli, Universidad Ciencia y sociedad http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S8888-88882013000300003&lng=es&nrm=iso
6. <https://es.scribd.com/doc/127679313/TESIS-de-La-Sabila>
7. Vasquez Reategui J, " Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de aloe vera sobre listeria monocytogenes y pseudomonas aeruginosa" TRUJILLO-PERU-2015.
8. Vilca Velazco Malena, "Eficacia del Aloe Vera y del Plax en el Aspecto Clínico de la Encía en Pacientes Intervenidos de Curetaje de Bolsa de la Consulta Privada, Cercado. Arequipa, 2017" Arequipa-Peru-2018.
9. Garate Santos A, Estudio Comparativo de la eficacia en la Aplicación Tópica de Aloe Vera (Aloe Barbadensis Mil) y de Digluconato de Clorhexidina al 0.12% en el Aspecto Clínico de la Encía, en personas sometidas a Curetaje Subgingival en Consulta Privada, Arequipa 2016.
10. GARCÉS MENDOZA M. "IDENTIFICACIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS ESENCIALES PARA USO MEDICINAL EN LA SÁBILA (ALOE VERA)" disponible en <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/3116/2/SABILA.pdf>

11. PINEDA A. "Producción y aprovechamiento de la sábila (Aloe vera) como plantamedicinal y sus beneficios" Santa Cruz del Quiché, 22 de noviembre del 2014 disponible en http://biblioteca.usac.edu.gt/EPS/07/07_5341.pdf
12. Alarcón, M.; Fraile, S.; Michelangeli, F.; Contreras, M.; Fernández, R. Evaluación *in vitro* de dos extractos de Aloe vera en bacterias patógenas. *Salus*, vol. 20, núm. 3, septiembre-diciembre, 2016, pp. 41-46 Universidad de Carabobo Bárbula, Venezuela <http://www.redalyc.org/pdf/3759/375949531009.pdf>
13. R.N. Domínguez Fernández, I. Arzate Vazquez, J.J. Chanona-Perez, J.S. Welti-Chanes, J.S. Alvarado González, G. Calderón Domínguez, V. Garibay Febles y G. F. Gutiérrez López. "El gel de Aloe vera: estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria". *R.M.I.Q.* 2012; Vol. 11(1): 23-43
16. Salazar, L. "Efecto antimicrobiano de extractos de Aloe vera sobre el crecimiento *in vitro* de Escherichia coli ATCC 25922 y Staphylococcus aureus ATCC 25923". Piura, Perú 2014.
17. Guillem Prats, Microbiología clínica. 1ª edición, España 2005.
18. Riaño Cabrera N, Fundamentos de química analítica básica. Análisis cuantitativo. 2ª edición 2007.
19. Lamerque A, Zygadlo J, Labuckas D, Fundamentos teórico-prácticos de química orgánica primera edición- 2008.
20. Marcano D, Hasegawua M, Fitoquímica Orgánica. Caracas, 2002.
21. Montoya M. Las cepas ATCC. Instituto Colombiano de Medicina Tropical. 2002.
22. Lock O. Investigación fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. 3ra ed. Lima. K&J soluciones gráficas; 2016.
23. Colaboradores de Wikipedia. *Trichophyton rubrum* [Internet]. Wikipedia, La enciclopedia libre, 2019 [Consultado: 1 de enero 2019]. Disponible en: https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Trichophyton_rubrum&oldid=115573459.
24. Fortún Abete, J. «Antifúngicos: azoles, imidazoles, triazoles», *Medicine*, 1998; 7(91): pg. 4231s.
25. Morote Castro E, "Prevalencia de E. Coli BLEE en pacientes mujeres del Hospital Nacional PNP" – "LNS". LIMA–PERÚ–2015.

26. Julián Pérez Porto y Ana Gardey. Definición de aloe vera [Internet]. [Consultado: 11 de enero del 2019] Disponible en: <https://definicion.de/aloevera/>.
27. Camere ,R. Evaluación *in vitro* del Efecto antibacteriano y Citotóxico del Extracto Metanólico de semilla y pulpa de la Myrciaria dubia (camu camu) sobre cepas de Streptococcus mutans (atcc 25175) y Streptococcus sanguinis (atcc 10556), Lima- Perú 2015.
28. Farmacognosia, 2009[Internet]. [Consultado el 10 de julio de 2017]. Disponible en: <http://farmacognosia-.blogspot.pe/>.
29. Sacsquispe Contreras R, Velásquez Pomar J. Manual de Procedimientos para la prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de disco difusión. INS. Lima – 2002.
30. Guillem Prats, Microbiología clínica. 1ª edición, España 2005.
31. Riaño Cabrera N, Fundamentos de química analítica básica. Análisis cuantitativo. 2ª edición 2007.
32. Gerard J, Tortora R, Funke L. Introducción a la microbiología, 2005.
33. Vogler, BK y Ernst, E. (1999) Aloe vera: una revisión sistemática de su efectividad clínica. The British Journal of General Practice, 49, 823-828.

ANEXOS

ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	INDICADORES	METODOLOGIA
<p>GENERAL:</p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de acíbar del Aloe Vera (L) Burn. (Sábila) tendrá efecto antifúngico en cultivos de Trichophyton rubrum in vitro?</p>	<p>GENERAL:</p> <p>Determinar el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de acíbar del Aloe vera (L.) Burn. (Sábila) sobre cultivos de Trichophyton rubrum in vitro.</p>	<p>GENERAL:</p> <p>El extracto hidroalcohólico de acíbar del Aloe Vera (L.) Burn. (Sábila) presenta efecto antifúngico sobre cultivos de Trichophyton rubrum in vitro.</p>	<p>VI:</p> <p>El extracto hidroalcohólico del acíbar de Aloe Vera (L) Burn. (Sábila).</p>	<p>VI:</p> <p>Dosis:</p> <p>Concentración al 25%</p> <p>Concentración 50%</p> <p>Concentración al 75%</p> <p>Concentración al 100%</p>	<p>ENFOQUE</p> <p>Cuantitativo: Mediciones del diámetro de los halos.</p> <p>DISEÑO</p> <p>Experimental</p> <p>TIPO</p> <p>-Observacional: Se observa y se registra los acontecimientos sin intervenir en el curso natural de estos.</p> <p>-Transversal: En función al tiempo, se ejecuta en un solo momento.</p> <p>POBLACIÓN VEGETAL</p> <p>Constituida por la especie vegetal Aloe Vera (L) Burn. "sábila".</p> <p>POBLACIÓN ANTIFUNICA</p> <p>-El estudio se realizó en cepas fúngicas de Trichophyton rubrum ATCC 28188.</p> <p>MUESTRA</p>
<p>ESPECÍFICOS:</p> <p>1. ¿Qué metabolito secundario presenta el extracto hidroalcohólico del acíbar del Aloe Vera (L) Burn. (Sábila) responsable del efecto antifúngico sobre cultivos de</p>	<p>ESPECÍFICOS:</p> <p>1. Determinar los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de acíbar del Aloe Vera (L.) Burn (Sábila) como posibles responsables del efecto antifúngico sobre cultivos de</p>	<p>ESPECÍFICOS:</p> <p>1. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de acíbar del Aloe Vera (L.) Burn (Sábila) son los posibles responsables del efecto antifúngico sobre</p>	<p>VD:</p> <p>Efecto antifúngico</p>	<p>VD:</p> <p>-Medición diámetro de halos</p> <p>-Tiempo: 120, 144 Y 168 h</p>	<p>POBLACIÓN VEGETAL</p> <p>Constituida por la especie vegetal Aloe Vera (L) Burn. "sábila".</p> <p>POBLACIÓN ANTIFUNICA</p> <p>-El estudio se realizó en cepas fúngicas de Trichophyton rubrum ATCC 28188.</p> <p>MUESTRA</p>

<p><i>Trichophyton rubrum</i> estudios <i>in vitro</i>?</p> <p>2. ¿Qué concentración del extracto hidroalcohólico del acíbar de Aloe Vera (L) Burn. (Sábila) tendrá mayor efecto antifúngico sobre los cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> estudios <i>in vitro</i>?</p> <p>3. ¿Cuál será el efecto del extracto hidroalcohólico de acíbar del Aloe Vera (L) Burn. (Sábila) respecto al ketoconazol frente al <i>Trichophyton rubrum</i> estudios <i>in vitro</i>?</p>	<p><i>Trichophyton rubrum</i> estudios <i>in vitro</i>.</p> <p>2. Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico del acíbar de Aloe Vera (L.) Burn (Sábila) con mayor efecto antifúngico respecto al ketoconazol sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> estudios <i>in vitro</i>.</p> <p>3. Comparar el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de acíbar del Aloe Vera (L.) Burn (Sábila), respecto al ketoconazol sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> estudios <i>in vitro</i>.</p>	<p>cultivos de <i>trichophyton rubrum</i> estudios <i>in vitro</i>.</p> <p>2. El extracto hidroalcohólico del acíbar de Aloe Vera (L.) Burn (Sábila) presenta una concentración con mayor efecto antifúngico sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> estudios <i>in vitro</i>.</p> <p>3. El extracto hidroalcohólico del acíbar de Aloe Vera (L) Burn. (Sábila) presenta mayor efecto antifúngico respecto al ketoconazol sobre cultivos de <i>trichophyton rubrum</i> estudios <i>in vitro</i>.</p>			<p>FÚNGICA -conformado por el número de colonias que se empleó para la preparación del inóculo fúngico. MUESTRA VEGETAL Hojas de Aloe Vera (L) Burn. "sábila". TECNICA -Tamizaje fitoquímico - Método de Kirby-Bauer INSTRUMENTO Y RECOLECCIÓN DE DATOS -Medios de cultivo y reactivos - Bomba de vacío - Autoclave - Incubadora - Fichas de registro de datos.</p>
---	--	---	--	--	---

ANEXO 2: Certificado botánico



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N°115-USM-2017

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (hojas) recibida de **Denisse Mariela SARAVIA MENDOZA** y **Frank Ernesto QUILLASH RAMOS**, estudiantes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Inca Garcilaso De la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: **Aloe vera** (L) Burn. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: LILIOPSIDA

SUBCLASE: LILIIDAE

ORDEN: LILIALES

FAMILIA: LILIACEAE

GENERO: Aloe

ESPECIE: Aloe vera (L) Burn.

Nombre vulgar: "sábila"
Determinado por Blgo. Severo Baldeón Malpartida.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines que estime conveniente.

Lima, 22 de junio de 2017


Mag. ASUNCIÓN CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/ddb


Anexo 3. Identificación del hongo



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism: Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Trichophyton rubrum</i> Catalog Number: 0444 Lot Number: 444-81** Reference Number: ATCC® 28188™** Purity: Pure Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2020/1/31 Release Information: Quality Control Technologist: Tracy A. Blonker Release Date: 2018/3/29
--	---

Performance	
Macroscopic Features: Large, white colonies with "fuzzy" appearance and smaller, dark wine-red colonies which turn white with dark wine-red reverse as culture ages. At 14 days, colonies and reverse may not be completely white.	Medium: Malt Extract Agar
Microscopic Features: Microconidia are abundant; macroconidia are rare. Microconidia are thin, clavate, borne laterally on undifferentiated hyphae or on short stalks. Macroconidia are typically long, narrow, cylindrical with rounded apices, 3-8 celled with thin smooth walls.	Method: Lactophenol Blue (1)

ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.	Other Features/Challenges: Results Dermatophyte Test Medium: positive (good growth at 7 days with agar turning deep pink)
	 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Users: Although the Vitabid® panel uses many conventional tests, the unique environment of the seed, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC®.



(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

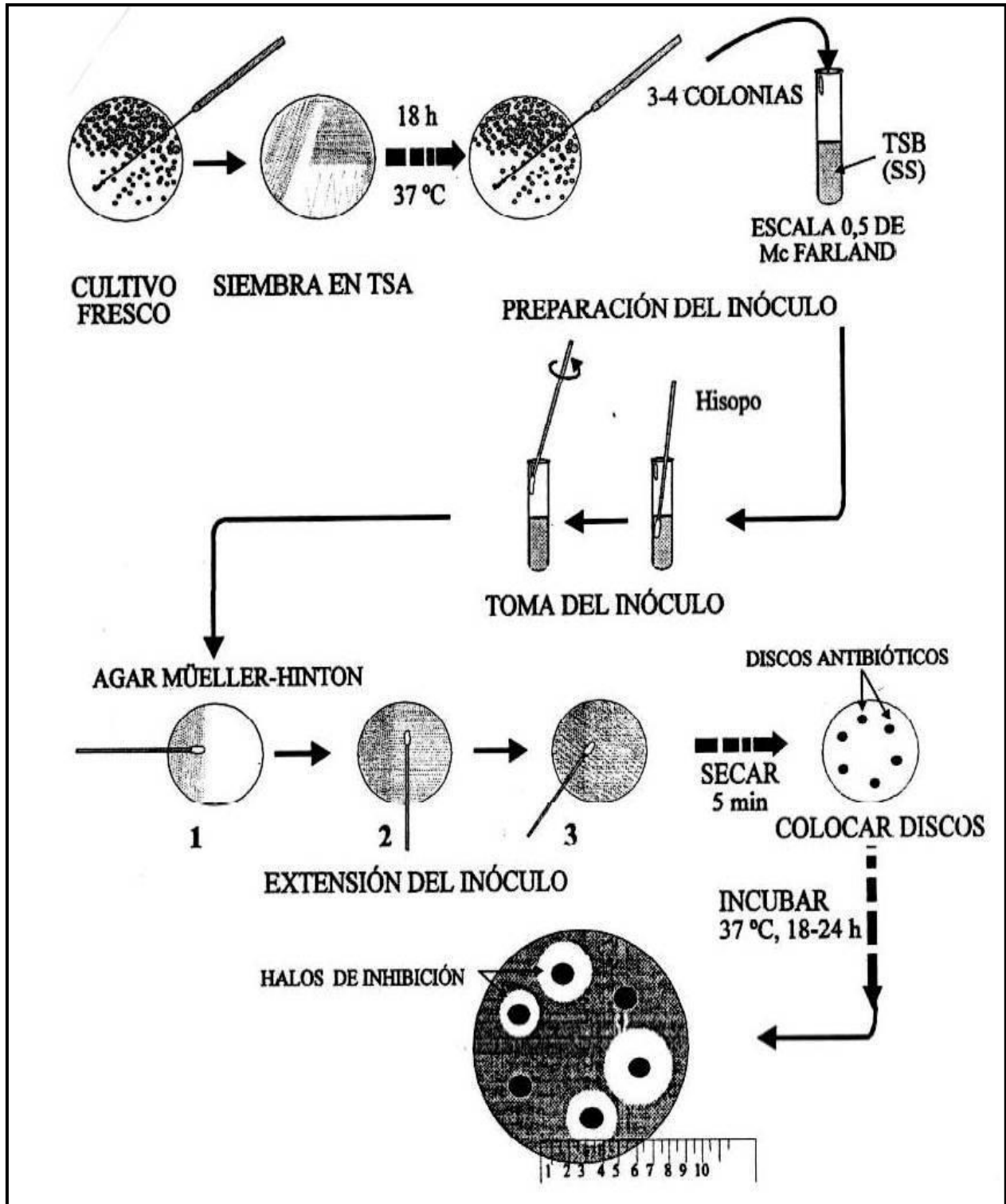
Sample Name: Trichophyton rubrum
 Sample Description: 0444
 Sample ID: 444-81
 Sample Creation Date/Time: 2018-03-27T18:14:19.190 CCKG/TB
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E4 (+++)(A)	444-81	Trichophyton rubrum_CC6	2.21

Comments:

Isolates of DIFFERENT SPECIES are closely related and currently hard to distinguish on species level. Appropriate species of such a group are marked with the same number after the "_CC" extension. Members of _CC6 group are Trichophyton equinum / interdigitale / mentagrophytes / rubrum / tonsurans / violaceum and were marked as "Genus species_CC6" to show that these species belong to the same group.

Anexo 4. Evaluación de la actividad antibacteriana mediante el método de Kirby-Bauer



fuelle: Microbiología general- Antibiograma.

Anexo N° 5 Instrumento de recolección de datos



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

FICHA DE OBSERVACION DE RECOLECCION DE DATOS

“EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE ACIBAR DEL *Aloe Vera* (L) Burn. “Sábila” Y SU EFECTO ANTIFUNGICO SOBRE CULTIVOS DE *Trichophyton rubrum* ESTUDIOS 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.

ACTIVIDAD ANTIFUNGICA CONTRA <i>Trichophyton rubrum</i> POR EL METODO DE KIRBY BAUER					
Nº de placa	CONCENTRACIÓN (%) DEL EXTRACTO HIDROALCOLICO DE ACIBAR DEL <i>Aloe Vera</i> (L) Burn. “sábila”			CONTROLES	
				ketoconazol	alcohol 96°
	DIAMETRO DEL HALO INHIBICION (mm)				
	25%	50%	100%	10 ug	100ul
Placa 1-2					
Placa 1-2					
Placa 1-2					
Placa 1-2					
Placa 1-2					
Placa 1-2					

Anexo N° 6 Ficha de validación por juicio de expertos



UNIVERSIDAD INCA GARCILAZO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS

“EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Aloe vera* (L.) Burn Y SU EFECTO ANTIFUNGICO
SOBRE CULTIVOS DE *Trichophyton rubrum* ESTUDIOS IN VITRO”

Datos Generales

- 1.1.-Apellido y nombre del experto: María Pineda Pérez
 1.2.-Cargo e institución donde labora: Docente
 1.3.-Grado Académico: Magister Profesional: Química Farmacéutica
 1.4.- Nombre de Instrumento y motivo de evaluación: FICHA De Recoleccion De Datos
 1.5.- Autor de Instrumento: DENISE SARAVIA MENDOZA - FRANK QUILLASH BARRAS
 1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación

Nota: Para cada criterio se consideraron las escalas del 1 al 5 en donde:

1.-Muy poco	2.-Poco	3.- Regular	4.-Aceptable	5.-Muy Aceptable
-------------	---------	-------------	--------------	------------------

INDICADORES	CRITERIOS	Puntuacion				
		1	2	3	4	5
1.-Claridad	Esta formulado el instrumento con un lenguaje apropiado.					X
2.- Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					X
3.-Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y tecnologicos.					X
4.- Organización	El instrumento tiene una organización logica.					X
5.-Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elemntos que conforman el instrumento.					X
6.-Intencionalidad	Es adecuado para valorar aspectos del sistema de evaluacion y desarrollo de capacidades cognoscitiva.					X
7.-Consistencia	Se basa en aspectos teoricos científicos del periodismo como de las ciencias sociales.				X	X
8.-Coherencia	Entre coherencia y relacion los indices, indicadores, las dimensiones, y las variables.					X
9.-Metodología	La Estrategia responde al proposito de la problemática.					X
10.-Pertinencia	El instrumento muestra la relacion entre los componentes de la investigacion y su adecuacion al metodo científico					X
Total Parcial						10
Total						100

SUGERENCIAS

Opinion de Aplicabilidad: Aplicable
 Promedio de Validacion: 100%

Puntuacion

11 - 20	No valido, reformular
21 - 30	No valido, modificar
31 - 40	Valido, mejorar
41 - 50	Valido, aplicar

M. Pineda Pérez

Firma del Experto

Anexo N° 7 Ficha de validación por juicio de expertos



UNIVERSIDAD INCA GARCILAZO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO
FICHA DE OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS

“EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Aloe vera* (L.) *Burn* Y SU EFECTO ANTIFUNGICO
SOBRE CULTIVOS DE *Trichophyton rubrum* ESTUDIOS IN VITRO”

Datos Generales

- 1.1.-Apellido y nombre del experto: ARANGUREN BELAUDE Luis Antonio
 1.2.-Cargo e institucion donde labora: DOCENTE
 1.3.-Grado Academico: MAGISTER Profesional: QUIMICO Farmacéutico
 1.4.- Nombre de Instrumento y motivo de evaluacion: FICHA de recoleccion de datos
 1.5.- Autor de Instrumento: FRANK Quillach Laros - Denisse Saravia Mendoza
 1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigacion con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicacion

Nota: Para cada criterio se consieraron las escalas del 1 al 5 en donde:

1.-Muy poco	2.-Poco	3.- Regular	4.-Aceptable	5.-Muy Aceptable
-------------	---------	-------------	--------------	------------------

INDICADORES	CRITERIOS	Puntuacion				
		1	2	3	4	5
1.-Claridad	Esta formulado el instrumento con un lenguaje apropiado.					X
2.- Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					X
3.-Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios cientificos y tecnologicos.					X
4.- Organización	El instrumento tiene una organizacion logica.					X
5.-Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elemntos que conforman el instrumento.				X	
6.-Intencionalidad	Es adecuado para valorar aspectos del sistema de evaluacion y desarrollo de capacidades cognoscitiva.					X
7.-Consistencia	Se basa en aspectos teoricos cientificos del periodismo como de las ciencias sociales.					X
8.-Coherencia	Entre coherencia y relacion los indices, indicadores, las dimensiones, y las variables.					X
9.-Metodologia	La Estrategia responde al proposito de la problemática.					X
10.-Pertinencia	El instrumento muestra la relacion entre los componentes de la investigacion y su adecuacion al metodo cientifico					X
Total Parcial						
Total						

SUGERENCIAS

Opinion de Aplicabilidad: Aplicable
 Promedio de Validacion: 95%

Puntuacion

11 - 20	No valido, reformular
21 - 30	No valido, modificar
31 - 40	Valido, mejorar
41 - 50	Valido, aplicar

.....
Firma del Experto

Anexo N° 8 Ficha de validación por juicio de expertos



UNIVERSIDAD INCA GARCILAZO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS

“EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Aloe vera (L.) Burn* Y SU EFECTO ANTIFUNGICO
SOBRE CULTIVOS DE *Trichophyton rubrum* ESTUDIOS IN VITRO”

Datos Generales

- 1.1.-Apellido y nombre del experto: Mg. Flores López Oscar
 1.2.-Cargo e institucion donde labora: Docente
 1.3.-Grado Academico: Maestro Profesional: Químico Farmacéutico
 1.4.- Nombre de Instrumento y motivo de evaluacion: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS
 1.5.- Autor de Instrumento: Denisse Mariela Sandoval Mendoza - Tony Guillot Ramos

1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación

Nota: Para cada criterio se consieraron las escalas del 1 al 5 en donde:

1.-Muy poco	2.-Poco	3.- Regular	4.-Aceptable	5.-Muy Aceptable
-------------	---------	-------------	--------------	------------------

INDICADORES	CRITERIOS	Puntuacion				
		1	2	3	4	5
1.-Claridad	Esta formulado el instrumento con un lenguaje apropiado.					X
2.- Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					X
3.-Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y tecnologicos.					X
4.- Organización	El instrumento tiene una organización logica.				X	
5.-Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elemntos que conforman el instrumento.					X
6.-Intencionalidad	Es adecuado para valorar aspectos del sistema de evaluacion y desarrollo de capacidades cognoscitiva.					X
7.-Consistencia	Se basa en aspectos teoricos científicos del periodismo como de las ciencias sociales.					X
8.-Coherencia	Entre coherencia y relacion los indices, indicadores, las dimensiones,y las variables.					X
9.-Metodología	La Estrategia responde al proposito de la problemática.					X
10.-Pertinencia	El instrumento muestra la relacion entre los componentes de la investigacion y su adecuacion al metodo científico					X
Total Parcial						X
Total						X

SUGERENCIAS

Opinion de Aplicabilidad: Aplicable
 Promedio de Validacion: 4.57

Puntuacion

11 - 20	No valido, reformular
21 - 30	No valido, modificar
31 - 40	Valido, mejorar
41 - 50	Valido, aplicar

Firma del Experto

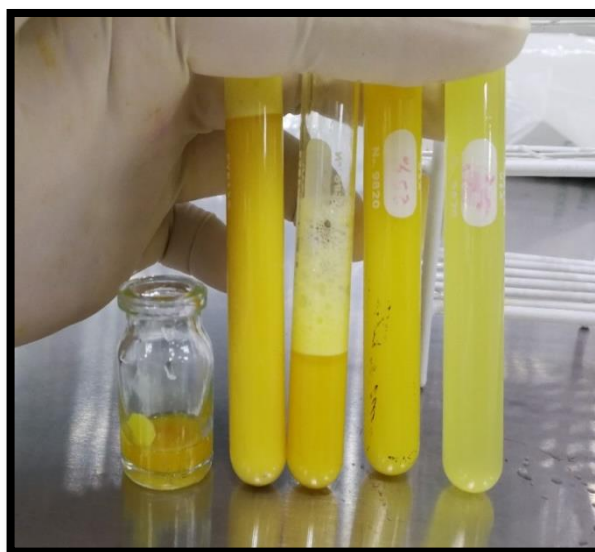
394

Anexo N° 9 Testimonios fotográficos

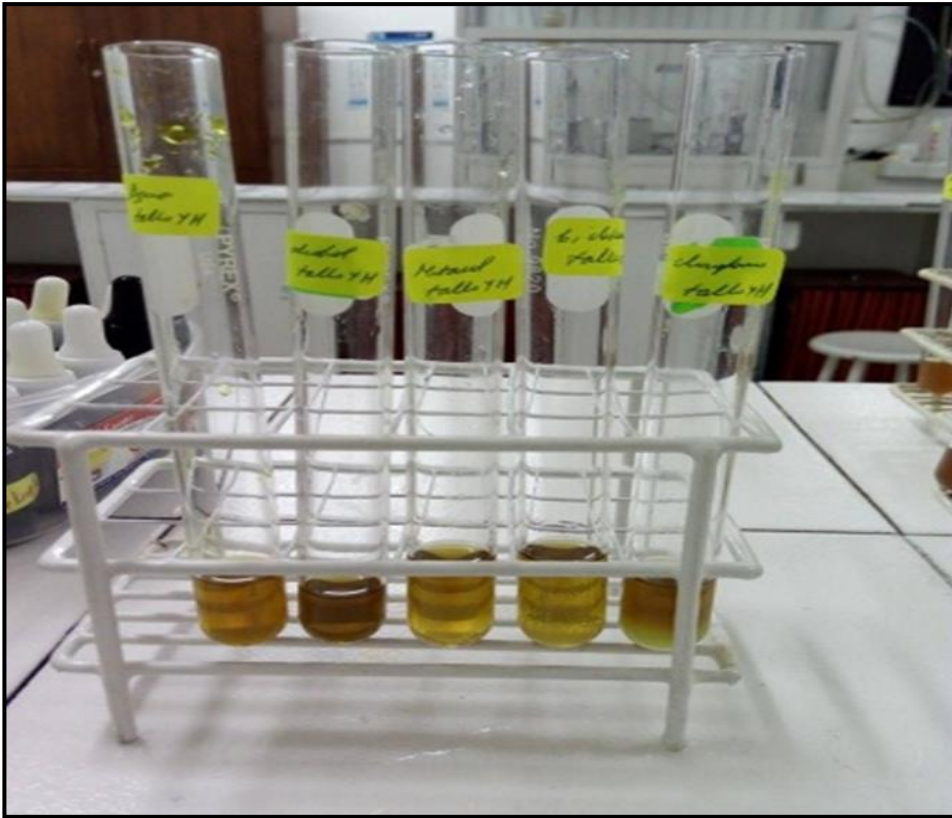
Foto N° 1. Preparación del material vegetal *Aloe vera*



Foto N°2. Tamizaje fitoquímico, identificación de metabolitos secundarios

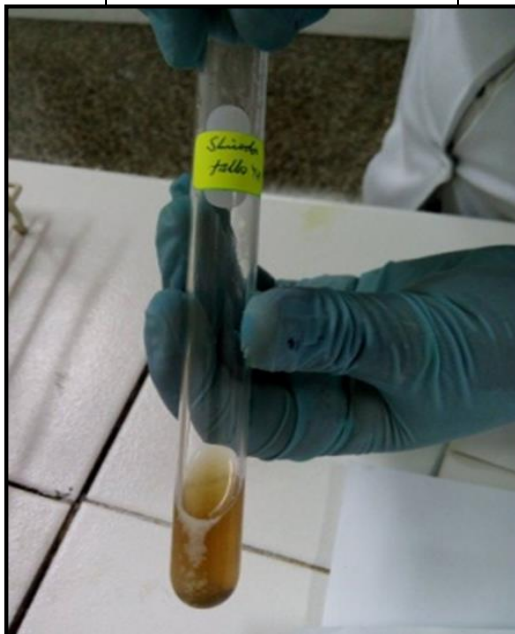


Prueba de solubilidad

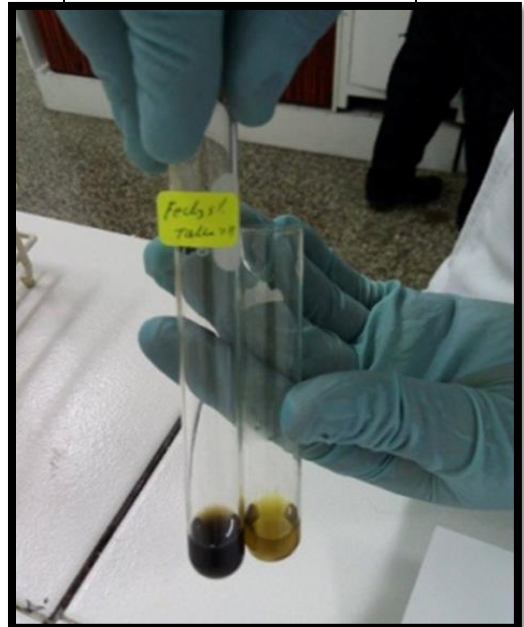


Identificación de compuestos fenolicos y flavonoides

Reacción de Shinoda

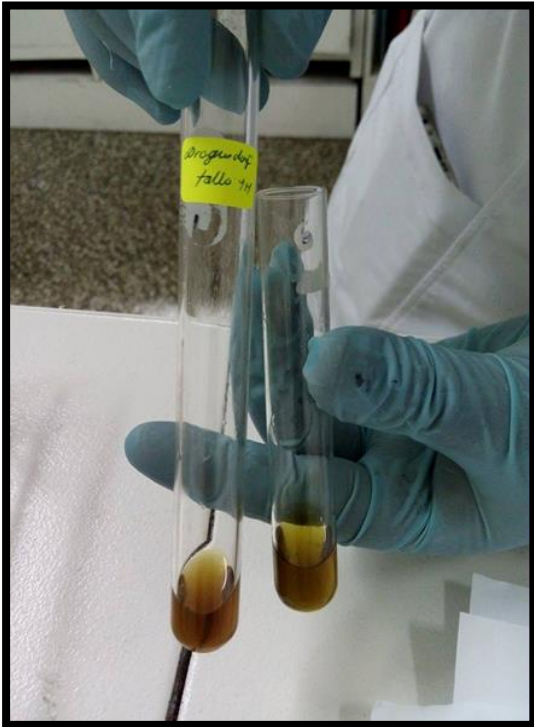


Cloruro Férrico $FeCl_3$

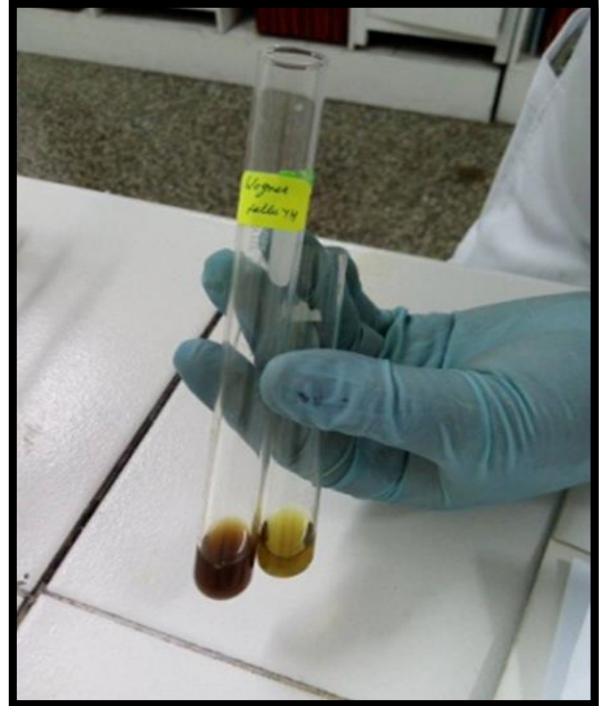


Identificación de Alcaloides

Reacción Dragendorff



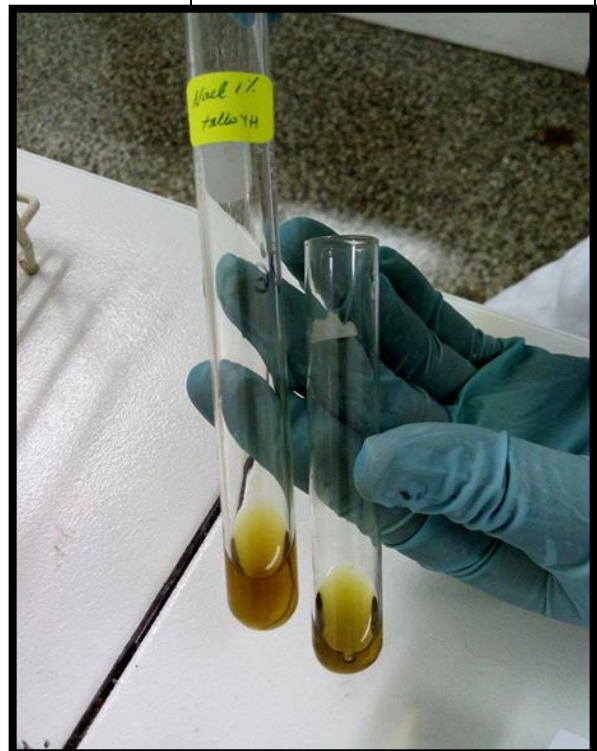
Reacción de Wagner



Identificación de cumarinas



Identificación de taninos



**Foto 3. Cromatografía en capa fina del extracto hidroalcoholico *Aloe Vera* (L)
Burn. "sábila"**



Placa a 254nm, revelada con reactivo de Dragendorff, con UV fluorescencia, se observó presencia de compuestos con fluorescencia verde que corresponderían a 6 flavonoides diferentes



Una débil fluorescencia a 254 nm en la
Cromatografía de capa fina para alcaloides que indicaría la presencia de alcaloides. No se logró determinar que alcaloide específico es.

Foto Nº 4. Discos de sensibilidad Ly D Insumed. SAC, Antibiótico Ketoconazol (25ug)

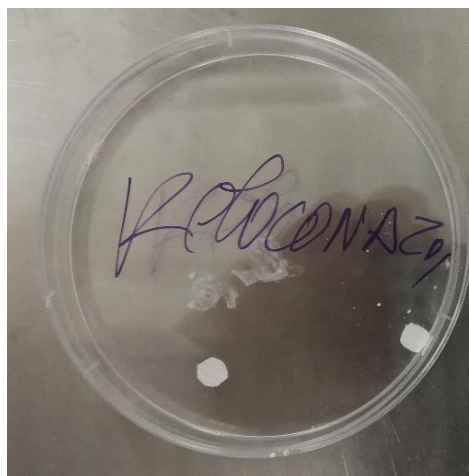


Foto N° 4. - Preparación del estándar (0,5 mc. farland) para el inóculo



TUBO	Cl ₂ Ba 1%	SO ₄ H ₂ 1%	u.f.c/ml
1	0,1	9,9	3,0x10 ⁸
2	0,2	9,8	6,0x10 ⁸
3	0,3	9,7	9,0x10 ⁸
4	0,4	9,6	1,2x10 ⁹
5	0,5	9,5	1,5x10 ⁹
6	0,6	9,4	1,8x10 ⁹
7	0,7	9,3	2,1x10 ⁹
8	0,8	9,2	2,4x10 ⁹
9	0,9	9,1	2,7x10 ⁹
10	1,0	9,0	3,0x10 ⁹

Foto N° 5. Aplicación de los discos

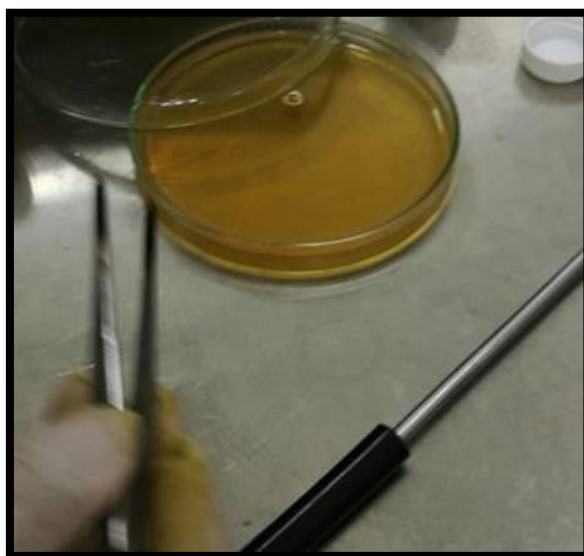
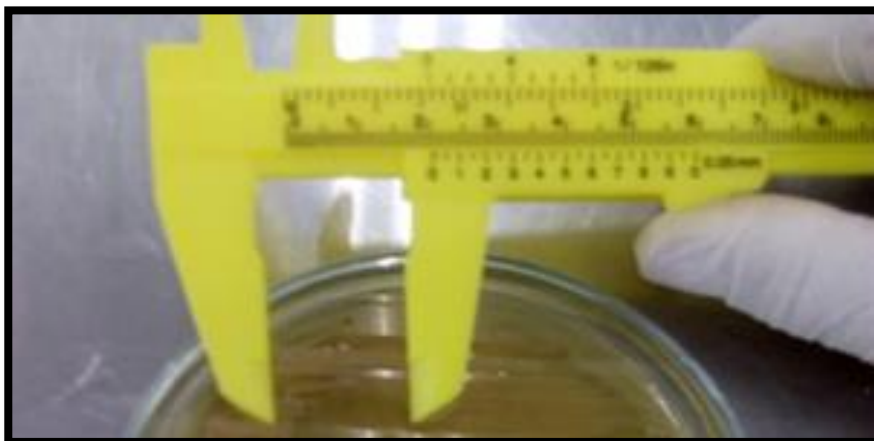


Foto Nº 6. Incubación



Foto Nº 7. Medición de los halos de inhibición por efecto del extracto hidroalcohólico Aloe vera (L)



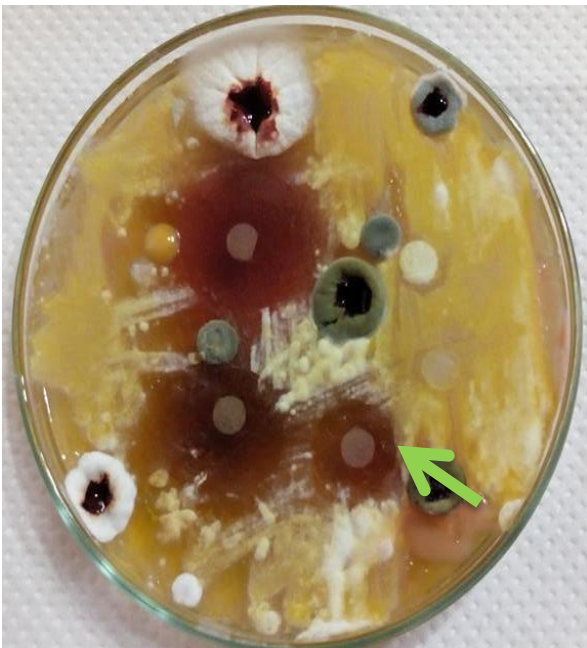
Halo de inhibición con la concentración de 75 % a las 120h



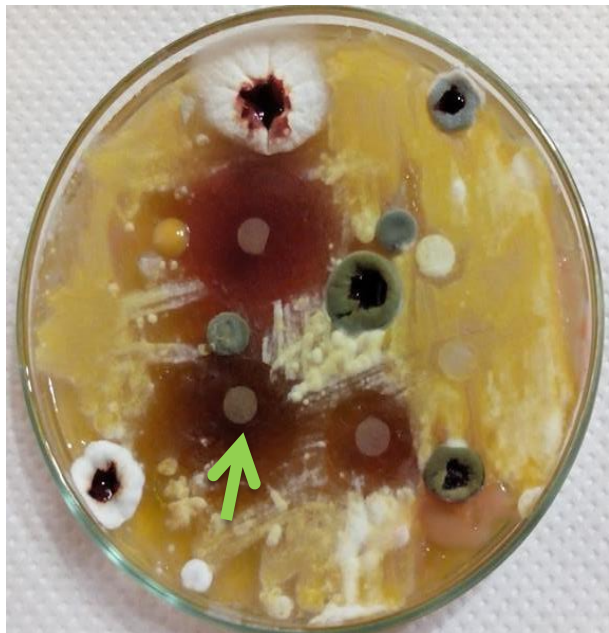
Halo de inhibición con la concentración de 100% a las 120h



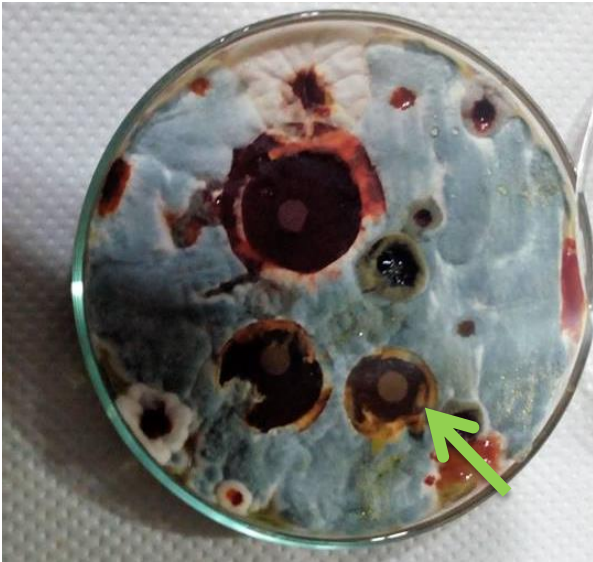
Halo de inhibición con la concentración de 75 % a las 144h



Halo de inhibición con la concentración de 100 % a las 144h



**Halo de inhibición con la concentración
de 75 % a las 168h**



**Halo de inhibición con la concentración
de 100 % a las 168h**

