



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

EFFECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DEL FRUTO DE *Solanum mammosum*
“Tintona” SOBRE CULTIVOS DE *Trichophyton rubrum*

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORA

VARGAS RISCO, GABY ARACELY
ORCID: 0000-0001-9359-7667

ASESOR

LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO
ORCID: 0000-0003-4125-3381

TRUJILLO – PERÚ

2020

EQUIPO DE TRABAJO

AUTORA

Vargas Risco, Gaby Aracely.

ORCID: 0000-0001-9359-7667

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Estudiante de pregrado
Trujillo, Perú.

ASESOR

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de Ciencias de
la Salud. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú.

JURADO

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID: 0000-0002-6374-8732

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Asesor

AGRADECIMIENTO

A DIOS

*Por brindarme la sabiduría, fortaleza
salud y permitir lograr mis objetivos y
poder culminar mi carrera profesional
de Farmacia y Bioquímica.*

A MIS PADRES

*Por su apoyo incondicional y ayuda
en los momentos difíciles en cada
momento de mi vida.*

A MIS DOCENTES

*Quienes me brindaron sus
conocimientos, sus consejos,
experiencias y dedicación, lo que
me motivó para culminar el
presente trabajo.*

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Por brindarme su apoyo incondicional en todo momento, por confiar en mí y por el orgullo que sienten por mí, fue lo hizo ir hasta el final.

A MIS HERMANOS

Por brindarme su apoyo y por sus consejos para seguir adelante y no desmayar.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación de tipo experimental, nivel explicativo, enfoque cuantitativo y de corte transversal; se realizó con el objetivo de determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* “Tintona” sobre cultivos de *Trichophyton rubrum*. La muestra fue recolectada del Distrito de Nuevo Cajamarca, Provincia de Rioja, Departamento de San Martín, el extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* se obtuvo mediante maceración y el método de arrastre de vapor, las diluciones se realizaron con etanol de 70°. La cepa de *Trichophyton rubrum* se obtuvo del Hospital Edgardo Rebagliati Martins de EsSalud, se cultivó en agar avena por 21 días para obtener microconidias, se resuspendieron en solución salina fisiológica y se cultivó en agar Sabouraud dextrosa. El estudio estuvo conformado por 1 grupo control negativo con solución salina fisiológica, 1 grupo control positivo con terbinafina 1% y 3 grupos experimentales con extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* a concentraciones de 15%, 30% y 60%, se evaluó la susceptibilidad por el Método Kirby – Bauer. Se obtuvo como resultado del efecto antimicótico en base a los promedios y desviación estándar de los halos de inhibición en las concentraciones de 15% (12.4 ± 1.578), el de 30% (15.9 ± 1.595) y el de 60% (18.6 ± 3.239); teniendo una diferencia significativa según la prueba de ANOVA ($p < 0.05$), para la comparación del efecto antimicótico a las concentraciones de 15%, 30% y 60% , se realizó la prueba de TUKEY, donde se observaron diferencias significativas. Se concluye que el extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* posee efecto antimicótico in vitro sobre cultivos de *Trichophyton rubrum*, siendo la concentración del 60% que presentó mayor halo de inhibición.

Palabras claves: Antimicótico, extracto, etanólico, halo de inhibición, *Solanum mammosum*, *Trichophyton rubrum*.

ABSTRACT

The present research work of an experimental type, explanatory level, quantitative and cross-sectional approach; It was carried out with the objective of determining the in vitro antifungal effect of the ethanolic extract of the fruit of *Solanum mammosum* "Tintona" on *Trichophyton rubrum* cultures. The sample was collected from the District of Nuevo Cajamarca, Province of Rioja, Department of San Martín, the ethanolic extract of the *Solanum mammosum* fruit was obtained by maceration and the steam drag method, the dilutions were made with 70 ° ethanol. The *Trichophyton rubrum* strain was obtained from the Edgardo Rebagliati Martins Hospital of EsSalud, it was cultivated on oat agar for 21 days to obtain microconidia, resuspended in physiological saline solution and cultured on Sabouraud dextrose agar. The study consisted of 1 negative control group with physiological saline solution, 1 positive control group with 1% terbinafine and 3 experimental groups with ethanolic extract of the *Solanum mammosum* fruit at concentrations of 15%, 30% and 60%, the susceptibility was evaluated by the Kirby-Bauer Method. It was obtained as a result of the antifungal effect based on the means and standard deviation of the inhibition halos in the concentrations of 15% ($12.4 \pm 1,578$), 30% ($15.9 \pm 1,595$) and 60% ($18.6 \pm 3,239$).); having a significant difference according to the ANOVA test ($p < 0.05$), for the comparison of the antifungal effect at concentrations of 15%, 30% and 60%, the TUKEY test was performed, where significant differences were observed. It is concluded that the ethanolic extract of the fruit of *Solanum mammosum* has an antifungal effect in vitro on *Trichophyton rubrum* cultures, being the concentration of 60% that presented a greater inhibition halo.

Keywords: Antifungal, extract, ethanol, inhibition halo, *Solanum mammosum*, *Trichophyton rubrum*.

CONTENIDO

1. Título de la tesis.....	i
2. Equipo de trabajo	ii
3. Jurado evaluador de tesis.....	iii
4. Agradecimiento	iv
5. Dedicatoria	v
6. Resumen.....	vi
7. Abstract.....	vi
8. Contenido.....	vii
9. Índice de tablas.....	ix
10. Índice de figuras	x
I. Introducción	1
II. Revisión de literatura	5
III. Hipótesis.....	14
IV. Metodología	15
4.1 Diseño de la investigación	15
4.2 Población y muestra	16
4.3 Definición y operación de variables.....	18
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos:.....	19
4.5 Plan de análisis	22
4.6 Matriz de consistencia.....	23
4.7 Principios éticos	24
V. RESULTADOS	25
5.1 Resultados	25
5.1 Análisis de resultados.....	28
VI. CONCLUSIONES	31
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS	32
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. Determinación del promedio del halo de inhibición del efecto antimicótico <i>in vitro</i> del extracto etanólico del fruto de <i>Solanum mammosum</i> “Tintona” a concentraciones de 15%, 30% y 60% sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>	25
TABLA 2. Comparación del efecto antimicótico <i>in vitro</i> del extracto etanólico del fruto de <i>Solanum mammosum</i> “Tintona” a las concentraciones de 15%, 30% y 60% sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>	26
TABLA 3. Grado de sensibilidad que presenta <i>Trichophyton rubrum</i> ante el extracto etanólico del fruto de <i>Solanum mammosum</i> según la escala de Duraffourd.....	27

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Extracto etanólico del fruto de <i>Solanum mammosum</i>	48
Figura 2: Grupo control positivo (Terbinafina 1%)	48
Figura 3: Halos de inhibicion de la Terbinafina 1%.....	49
Figura N°3: Halos de inhibición de las concentraciones 15%.30% y 60%.....	49

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han generado un especial interés en la medicina complementaria, debido a los estudios científicos que respaldan su uso para tratar diversas enfermedades y afecciones. En el Perú la medicina complementaria es destacable en el sistema nacional de salud, resaltando la fitoterapia como parte de los tratamientos alternativos ⁽¹⁾.

La organización mundial de la salud reconoce la importancia de las plantas medicinales en el tratamiento y prevención de múltiples enfermedades, como también la relevancia a nivel económico, al ser una fuente rica en principios activos responsables del efecto terapéutico, la cual tiene un costo inferior comparado con los tratamientos con fármacos ⁽²⁾.

Las plantas medicinales brindan actividad terapéutica por la presencia de compuestos químicos complejos llamados metabolitos secundarios, que son productos finales del metabolismo secundario. Estas sustancias para todas las especies vegetales son como mecanismo de defensa o protección, y actúan como biosidas o repelentes, de manera que puedan garantizar su sobrevivencia ⁽³⁾.

Los metabolitos secundarios tienen una composición muy variada que aún se desconoce su naturaleza química, por lo general pertenecen a estas categorías: alcaloides, flavonoides, terpenoide, taninos, glúcidos, gomas, resina ⁽³⁾.

El *Solanum mammosum* “Tintona”, es una especie herbácea, originaria de zonas tropicales, perteneciente a la familia Solanaceae, cuyo fruto es una baya de forma cónica con lóbulos en la parte proximal, de color amarillo brillante que con el tiempo tiende al amarillo anaranjado. Este fruto es un veneno, pero las comunidades indígenas lo usaban para tratar las heridas de leishmaniasis, así como también lo usan para matar las cucarachas y ácaros, las semillas del fruto son utilizadas como insecticidas ⁽⁴⁾.

En el Perú, esta planta se usa en medicina tradicional como antimicótico, cuyo fruto maduro cortado se frota suavemente sobre el área afectada. Dentro de su composición química tiene a la solanina como principio activo, catequinas, taninos, fenoles simples, flavonas, la cual le brinda propiedades acaricidas, antimicóticas e insecticida ⁽³⁾.

La actividad antimicótica de las plantas ha sido muy estudiada debido a la resistencia de los microorganismos de las micosis a los diferentes tratamientos, sobre todas las micosis superficiales producidas por las diferentes especies de dermatofitos ^(2,3).

Las micosis son infecciones frecuentes en los seres humanos, principalmente afectan a cabello, piel y uñas. Son producidas por un grupo heterogéneo que son invasores de tejidos queratinizados de hombres y animales, comúnmente están involucrados los del género de *Microsporum*, *Epidermophyton* y *Trichophyton*. En la actualidad, uno de los principales responsables de causar infección micótica en las uñas de pies es la especie de *Trichophyton* ^(4,5).

La prevalencia de las infecciones micóticas es variable y generalmente depende de las condiciones ambientales y de los agentes causales; las dermatofitosis predominan en la mayoría en zonas tropicales con climas húmedos y cálidos. Se considera que las micosis superficiales en su mayoría se dan en zonas de bajos recursos económicos la cual se encuentran susceptibles a contraer este tipo de infección; también otro factor de riesgo son los malos hábitos de higiene, el hacinamiento, el uso de zapatos cerrados, zapatillas, ropa sintética, otros factores también tenemos la diabetes, tratamientos con corticoides e infecciones por VIH ⁽⁶⁾.

Las micosis superficiales son procesos crónicos que presentan dificultades diagnósticas y que requieren tratamiento durante periodos prolongados, el costo de estos tratamientos representan un problema económico para el paciente, lo que ocasiona el abandono del tratamiento agudizándose la infección y el peligro de contagio. Además afecta la estética de la piel y las uñas y con ello alterar la calidad de vida y contribuir a una limitación física, la cual pueden dificultar las actividades relacionadas con el trabajo, así como también dar lugar a complicaciones ⁽⁶⁾.

Estas patologías suelen originar múltiples tratamientos sin respuesta clínica, asociados a una administración ineficaz o la desaparición de los síntomas lo que no implica curación. La ausencia de síntomas desmotiva al paciente para los tratamientos de larga duración y además interrumpe el tratamiento sin la supervisión médica o llega a sustituirlo con antifúngicos inactivos. El problema en la actualidad es la resistencia a los tratamientos, infecciones de difícil tratamiento que requieren terapia de larga duración como las onicomicosis y las micosis superficiales en paciente inmunocomprometidos ^(6,7).

Debido a lo antes dicho se recurre a las plantas medicinales con la finalidad de ampliar alternativas terapéuticas vía tópica y dar a conocer a la población que existen tratamientos alternativos basados en los metabolitos secundarios de las plantas, como en el caso de *Solanum mammosum*.

Para lo cual se planteó el siguiente problema:

¿Existe efecto antimicótico *in vitro* del extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* “Tintona” en cultivos de *Trichophyton rubrum*?

Objetivo general

Evaluar la actividad antimicótica *in vitro* del extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* “Tintona” sobre cultivos de *Trichophyton rubrum*.

Objetivos específicos

Determinar el promedio del halo de inhibición del efecto antimicótico *in vitro* del extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* “Tintona” a concentraciones de 15%, 30% y 60% sobre cultivos de *Trichophyton rubrum*.

Comparar el efecto antimicótico *in vitro* del extracto etanólico de fruto de *Solanum mammosum* “Tintona” a las concentraciones de 15%, 30% y 60% sobre cultivos de *Trichophyton rubrum*.

Determinar el grado de sensibilidad que presenta *Trichophyton rubrum* al extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* según la escala de Duraffourd.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. Antecedentes

Benavides et al, (2007-Perú). determinaron la actividad antimicótica in vitro de los extractos hexánico, etanólico, y total al 50 y 75 % p/v del fruto maduro de *Solanum mammosum* “Tintona” frente a *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* y *Microsporum canis*, mediante el método de Kirby -Bauer que consiste en investigar a través de una capa de agar solidificado, en una extensión tal que el crecimiento de microorganismos sensibles es inhibido en zonas alrededor del disco, obtuvieron como resultado que el extracto del fruto total, extracto de mucilago total y el extracto del fruto etanólico en frío tiene ,mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans* y el extracto del fruto etanólico en calor, extracto del fruto etanólico en frío en *Trichophyton rubrum* y el extracto del mucilago total y el mucilago puro para *Microsporum canis*, también se observó que entre las concentraciones al 50% y el 75% de los extractos o hubo diferencia significativa sobre inhibición de crecimientos de hongos, la cual llegaron a la conclusión que todos los extractos ensayados presentaron actividad antimicótica “in vitro” frente a *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* y *Microsporum canis*, no existiendo diferencia significativa en el efecto inhibitorio (7).

Ayala et al (2018-Perú), evaluaron el efecto in vitro de *Tropaeolum majus* en cepas de *Trichophyton rubrum*, con el extracto hidroalcohólico de las flores de color rojo, donde se dejó secar a temperatura ambiente por 21 días, protegido de la luz, luego se realizó la molienda y se colocó en etanol al 80% y se dejó 1 semana, después de transcurrido el tiempo se colocó en un agitador magnético durante una hora, luego se centrifugo a 4000rpm durante 20 minutos, después se filtró y se almacenó a 4°C, luego se realizaron todos los controles de calidad respectivos en las muestras, finalmente se procedió a la evaluación del efecto in vitro de la crema a base de *T. majus* sobre cepas de *Trichophyton*, donde obtuvieron como resultado que tiene efecto antimicótico similar a la crema de isoconazol al 1%⁽⁸⁾.

Lachos et al, (2018-Perú), evaluaron el efecto antimicótico in vitro del aceite esencial *origanum vulgare* frente a cepas de *Trichophyton rubrum*, donde utilizaron el método de destilación por arrastre de vapor, donde determinaron las características organolépticas y determinaciones físico - químicas y mediante el método de dilución en medio líquido se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y por el método de difusión en agar se determinó la concentración Mínima Fungicida (CMF) del aceite esencial, donde obtuvieron como resultado que la Concentración Mínima Inhibitoria fue de 0.25% y la concentración mínima fungicida de 0.125 %; donde llegaron a la conclusión que el efecto antimicótico se le atribuye al timol y carvacrol⁽⁹⁾.

Canza et al, (2018-Perú), efecto antifúngico del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Trichophyton rubrum*, in vitro; mediante el método de extracción etanólica se determinó las propiedades físico-químicas, los grupos de trabajo fueron grupo extracto etanólico 20%, 50% y 100%, un grupo control negativo (etanol 96°) y un control positivo (terbinafina 6µg) y mediante el método de Kirby Bauer se logró evaluar la actividad antimicótica. En el análisis del resultado se efectuó a través de la prueba ANOVA y TUKEY, obteniéndose el resultado con una significancia $< 0,05$. Los halos de inhibición antimicótica mostraron una medida promedio de 23.63mm para la concentración del 20%, 25.02mm para el 50% y 29.43mm para el 100%, en el grupo terbinafina (100mm). No se observó halos de inhibición antimicótica para el grupo etanol 96°. Se encontró que no existe diferencia significancia entre las concentraciones del 20% y 50%, a diferencia de las concentraciones del 50% y 100% que se obtuvo $p < 0,01$. Se concluyó que la concentración del 100% presenta mayor actividad antimicótica en comparación al 20% y 50% in vitro en cepas de *Trichophyton rubrum*⁽¹⁰⁾.

López et al, (2016-Perú), evaluación antimicótica de extracto de mosquera (*Croton elegans*.) frente a: *Trichophyton methagrophytes* ATCC 9533, *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, *Microsporum canis* ATCC 36299, *Candida albicans* ATCC 10231, patógenos de dermatomicosis. A través del método de extracto fluido se obtuvo las concentraciones del grupo del 25% y 50%, el grupo control positivo (Clotrimazol) y el control negativo (etanol 90°), mediante el método de Kirby Bauer se determinó la actividad antimicótica. Obteniéndose como resultado para la concentración del 25% (32.78mm *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, 29.12mm *Microsporum canis* ATCC 36299, 20.99mm *Candida albicans* ATCC 10231, 33.42mm *Trichophyton methagrophytes* ATCC 9533) y el 50% (38,41mm

Trichophyton rubrum ATCC 28188, 40.26mm *Microsporum canis* ATCC 36299, 20,99mm *Candida albicans* ATCC 10231, 44.90mm *Trichophyton methagrophytes* ATCC 9533). No se observó halos de inhibición antimicótica en el grupo control negativo (etanol 90°). Los resultados obtenidos hacen referencia a la diferencia significativa entre las concentraciones del 20% y 50%. Concluyéndose que la concentración del 50% presenta una mayor actividad inhibitoria debido a que poseen una mayor concentración de sus principios activos (11).

2.2.Bases teóricas

Planta medicinal:

Las plantas medicinales, son especies vegetales que contienen sustancias que se pueden emplear para propósitos terapéuticos o principios activos que se pueden utilizar como precursores para la síntesis de nuevos fármacos ⁽¹²⁾.

Extracto vegetal:

El extracto vegetal es un compuesto obtenido de sustancias biológicamente activas que se encuentran presentes en los tejidos vegetales, utilizando solventes tales como agua o alcohol y un adecuado proceso de extracción ⁽¹³⁾.

Principio activo:

Los principios activos son los componentes de los medicamentos herbarios que presentan una actividad terapéutica, cuyos compuestos fueron identificados por métodos analíticos ⁽¹⁴⁾.

Solanum mammosum:

Descripción Botánica

Árbol de 50-120 cm de alto, con ramas espinosas, hojas densamente pubescentes en el haz y envés, simples, con bordes medianamente hendidos, con espinas conspicuas y fuerte sobre las nervaduras, con ápice acuminado. Flores pedunculadas dispuestas en racimos, cáliz de color verde-amarillo, con 5 sépalos, corola con 5 pétalos de color lila, con 5 estambres prominentes, con filamentos cortos. Frutos tipo bayas de color verde amarillento, amarillo oro en la maduración, con lóbulos de tamaño desuniformes, con longitud de 5-6 cm ⁽¹⁵⁻¹⁶⁾.

Distribución Geográfica

Se distribuye en la América tropical. En el Perú, se encuentra en los departamentos de Loreto (Yurimaguas), Amazonas, Ucayali, Ayacucho, Huánuco (Panguana), Junín y San Martín ^(15,16).

Hábitat

Nativa del norte de Sudamérica y las Antillas, con frecuencia cultivada como planta ornamental o para matar insectos ^(15,16).

Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Tribu: Solaneae

Género: Solanum

Especie: *Solanum mammosum* ⁽¹⁵⁾.

Usos tradicionales

Tiene como uso medicinal en problemas de acarosis, hongos de la piel, la cual frotaban el fruto cortados en la parte afectada y en forma de emplastos de los frutos macerados en agua caliente en problemas de llagas en los senos. Los frutos también son usados como insecticidas ^(15, 16,17).

Indicaciones terapéuticas

Solanum mammosum tiene actividad diurética, antimicrobiana, descongestionante y antimicótica, así como también se le atribuye actividad sedativa y narcótica ⁽¹⁵⁻¹⁷⁾

Toxicidad

El fruto de *Solanum mammosum* tiene propiedades sedativas y narcóticas, se recomienda solo su uso exterior. Al ser consumidos produce excitación, delirio, locura, aceleración de latidos, asfixia y muerte ⁽¹⁶⁾.

Composición química de la planta

El principio activo de *Solanum mammosum* es la solanina también está compuesta por solanidina, solamargina, carbohidratos, compuestos fenólicos, flavonoides, catequinas, taninos, fenoles simples, flavonas y saponinas ⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

Solanina

Es un glico-alcaloide toxico y amargo, particularmente se encuentra en las especies del genero *Solanum*. Tiene propiedades insecticidas y fungicidas. Está formado por un alcaloide, la solanina y por una cadena lateral de un carbohidrato ⁽¹⁸⁾.

Micosis

La micosis son infecciones que afectan al hombre y a los animales, causadas por hongos, estas micosis se clasifican de acuerdo al sitio de acción, como superficiales, subcutáneas, sistémicas y oportunistas ⁽¹⁹⁾.

Micosis superficial

Las micosis superficiales son patologías producidas por diversos tipos de hongos patógenos, los cuales van a invadir estructuras queratinizadas como el cabello, uñas, o mucosas. Dentro de ellos tenemos a las dermatofitosis, candidiasis, afecciones causadas del género *Malassezia*, pitiriasis versicolor, tiña negra ⁽¹⁹⁾.

Dermatofitosis

Es una infección micótica de la piel ocasionada por hongos denominados dermatofitos: *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, estos afectan a estructuras que contienen queratina como la piel, pelo y uñas. Las dermatofitosis más comunes son las tiñas y el principal agente causal es el *Trichophyton rubrum* ⁽¹⁹⁻²²⁾.

Dermatofitos:

Trichophyton rubrum

Posición taxonómica:

Phylum	Ascomycota
Clase	Eucomycetes
Orden	Onygenales
Familia	Arthrodermataceae ⁽²³⁾ .

Características

Microscópicamente tiene hifas largas y delgadas, con microconidios abundantes y periformes, sésiles sobre las hifas formando racimos. Macroscópicamente las colonias son algodonosas, con el tiempo toman un aspecto aterciopelado y pulverulento, de color blanquecino a amarillento o rojo violeta⁽²³⁾.

Etiología

Es el agente causal más frecuente en tiñas de cuerpo, de la ingle, de los pies, así como de onicomicosis⁽²³⁾.

Tratamientos antimicóticos

Los tratamientos para las micosis superficiales se realizan principalmente con agentes tópicos, con propiedades fungicidas o fungistáticas. Los antimicóticos tópicos más recomendados son los imidazólicos y la Terbinafina. El tratamiento antimicótico sistémico está indicado en casos de resistencia o extensos^(20, 24).

III. HIPOTESIS

Hipótesis Nula (H0):

El extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* “Tintona” no presenta efecto *in vitro* sobre *Trichophyton rubrum*.

Hipótesis alterna (H1):

El extracto etanólico del extracto del fruto de *Solanum mammosum* “Tintona” presenta efecto *in vitro* sobre *Trichophyton rubrum*.

IV. METODOLOGIA

4.1. Diseño de la investigación

La presente investigación es de tipo experimental cuantitativa y de nivel explicativo, de diseño de solo post-test⁽²⁵⁾.

Grupo Control Negativo

Estuvo conformado por 10 placas con agar Sabouraud dextrosa (Laboratorio BBL) sembrado con la cepa de *Trichophyton rubrum*, utilizando discos de papel de filtro embebidos en Solución Salina Fisiológica (SSF) estéril, incubados a temperatura ambiente, entre 20 a 23 °C por 10 días.

Grupo Control Positivo

Estuvo conformado por 10 placas con agar Sabouraud dextrosa (Laboratorio BBL) sembrado con la cepa de *Trichophyton rubrum*, se realizó un pocillo al centro de la placa donde se colocó 30 uL de la crema de Terbinafina al 1% de Laboratorios Genfar, se incubaron a temperatura ambiente entre 20 a 23 °C por 10 días.

Grupos Experimentales

Grupo experimental 1:

Estuvo conformado por 10 placas con agar Sabouraud dextrosa (Laboratorio BBL) sembrado con la cepa de *Trichophyton rubrum*, utilizando discos de papel de filtro

embebidos a la concentración de 15% del extracto etanólico de *Solanum mammosum* “Tintona”.

Grupo experimental 2:

Estuvo conformado por 10 placas con agar Sabouraud dextrosa sembrado con la cepa de *Trichophyton rubrum*, utilizando discos de papel de filtro embebidos a la concentración la concentración de 30% del extracto etanólico de *Solanum mammosum* “Tintona”.

Grupo experimental 3:

Estuvo conformado por 10 placas con agar Sabouraud dextrosa sembrado con la cepa de *Trichophyton rubrum*, utilizando discos de papel de filtro embebidos a la concentración de 60% del extracto etanólico de *Solanum mammosum* “Tintona”.

4.2.Población y muestra

Población

Estuvo constituida por frutos de *Solanum mammosum* “Tintona” proveniente del Distrito de Nuevo Cajamarca, Provincia de Rioja, Departamento de San Martín, ubicada a 848 m.s.n.m. recolectados en los meses de abril y mayo del 2019 e identificada en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo (Anexo N°1).

Muestra:

Conformada por los frutos de *Solanum mammosum* “Tintona”

Criterios de inclusión:

Los frutos de *Solanum mammosum* “Tintona” maduros y frescos.

Criterios de exclusión:

Se excluyeron los frutos en mal estado y verdes

Material Biológico:

La cepa de *Trichophyton rubrum*, fue aislada de un paciente del Hospital Edgardo Rebagliati Martins, e identificada por el Laboratorio TAGUMEDICA S.A. de la ciudad de Lima, según el informe remitido (Anexo N°2).

Criterios de inclusión:

Se utilizaron los cultivos jóvenes de *Trichophyton rubrum*

Criterios de exclusión:

Se excluyeron los cultivos viejos y contaminados.

4.3. Definición y operación de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
<p>Independiente: Extracto etanólico de <i>Solanum mammosum</i> “Tintona”</p> <p>Variable dependiente: Efecto antimicótico sobre <i>Trichophyton rubrum</i></p>	<p>Extracción del principio activo utilizando como solvente etanol.</p> <p>Es la inhibición en el crecimiento de <i>Trichophyton rubrum</i> frente a la presencia del extracto etanólico del fruto de <i>Solanum mammosum</i> “Tintona”</p>	<p>Se utilizó concentraciones del extracto etanólico.</p> <p>Se determinó por medio de halos de inhibición.</p>	<p>Concentraciones de: 15%, 30% y 60%.</p> <p>Diámetro de halos de inhibición en milímetros.</p>	<p>Variable cualitativa nominal</p> <p>Variable cuantitativa de razón</p>

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Técnica: Obtención del extracto etanólico de *solanum mammosum*

Para la preparación del extracto de *solanum mammosum*, se seleccionó el fruto por su grado de madurez y por el color amarillo intenso que presentaron, se pesó aproximadamente 2,180gr, fueron lavados con agua corriente para luego desinfectarlo con hipoclorito de sodio al 0,5% y finalmente se enjuago con agua destilada estéril. Se partieron los frutos para retirar la semilla quedando con un peso de 2.080 gr de pulpa, se cortaron en cubos pequeños y se colocaron en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha, se añadió etanol de 96°, cantidad suficiente hasta cubrir la muestra por sobre 2 cm de altura, teniendo en cuenta que la mezcla debe ocupar como máximo las $\frac{3}{4}$ partes del recipiente. Se tapó el recipiente y se dejó macerar por 7 días, agitándose 15 minutos, dos veces al día.

Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el macerado, al vacío con papel de filtro Whatman N° 1. La solución resultante se llevó a sequedad en un rotavapor hasta obtener el extracto blando y luego se llevó a secar en una estufa a 40 °C hasta extracto seco. A partir de este extracto seco, se tomó 1.5gr, 3gr, 6gr y se aforo a 10 ml de etanol de 70° para las concentraciones de 15%, 30%, 60%, respectivamente.

Finalmente, los extractos etanólicos se guardaron en frascos de vidrio de color ámbar estériles y en refrigeración (4-8 °C) hasta su utilización.

Preparación del cultivo para *Trichophyton rubrum*

Se cultivó la cepa de *Trichophyton rubrum* en tubos de ensayo con agar Sabouraud dextrosa (Laboratorio BBL) para activar al hongo. Se incubaron a temperatura ambiente con el fin de obtener colonias jóvenes, caracterizadas macroscópicamente las colonias de *Trichophyton rubrum* por el color y aspecto del haz blanco algodonoso y el envés con el rojo vinoso. A partir de este cultivo reciente se realizaron los demás procedimientos.

Preparación del inóculo para *Trichophyton rubrum*

Para lograr la esporulación del hongo se sembró la cepa de *Trichophyton rubrum* en Agar Harina de Avena ⁽¹⁹⁾, dejándose por 21 días. Al término de este período se agregó 10 ml de Solución Salina Fisiológica estéril y se resuspendió las microconidios del hongo. Se preparó el inóculo a una turbidez del tubo ½ del Nefelómetro de Mac Farland.

Para la realización de las pruebas de susceptibilidad se preparó un inóculo donde se produjeron los microconidios piriformes del hongo, los cuales se utilizaron para enfrentar a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Solanum mammosum* “Tintona”

Siembra de la muestra para determinar el efecto del extracto etanólico de *Solanum mammosum* “Tintona”

Utilizando un hisopo estéril, fue sumergido en el inóculo de *Trichophyton rubrum* y se extendió de manera uniforme en la superficie de la placa de agar Sabouraud dextrosa (Laboratorio BBL).

Prueba de susceptibilidad por el Método de Difusión en Agar según Kirby – Bauer (26, 27,28).

En las placas inoculadas se colocaron los discos de papel filtro Whatman N°1 estériles embebidos por 2 horas en el extracto de *Solanum mammosum* “Tintona” a las concentraciones 15%, 30% y 60% para los grupos experimentales, para el grupo control positivo se colocó la crema de terbinafina al 1% en los pocillos, y para el grupo control negativo se utilizó los discos de papel filtro Whatman N°1 estériles embebidos en la Solución Salina Fisiológica. Se incubaron a temperatura ambiente de 20 a 23 °C por 10 días.

Lectura de los resultados:

La lectura se llevó a cabo a los 10 días de incubación, mediante las medidas del tamaño del diámetro del halo de inhibición del crecimiento del hongo, y se compararon con las medidas que reporta la escala de Duraffourd (escala utilizada para la determinación cualitativa del efecto inhibitorio in vitro, según diámetro de inhibición, que considera que la sensibilidad es determinada por un diámetro superior de 8mm), con las respectivas especificaciones ():

CONDICIÓN	Diámetro en mm
Resistente o no sensible: (-)	< 8
Sensibilidad límite: (+)	8 – 14
Sensibilidad media: (++)	14 – 20
Sumamente sensible: (+++)	> 20

4.5. Plan de análisis

Fueron realizados recolectando la información en una ficha de recolección de datos, para luego ser tabulados en MS Excel y ser procesados en el software estadístico SPSS v 25 para lo cual se contó con la ayuda de un profesional estadístico, por criterio de normalidad de los datos se utilizó la prueba ANOVA para la comparación inter e intragrupos y la prueba post-hoc de Tukey para la comparación entre grupos.

4.6. Matriz de consistencia

Título	Problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación-diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antimicótico <i>in vitro</i> del extracto etanolico del fruto de <i>Solanum mammosum</i> "Tintona" sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>	¿Existe efecto antimicótico <i>in vitro</i> del extracto etanolico del fruto de <i>Solanum mammosun</i> "Tintona" sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> ?	<p>Objetivo general Determinar la actividad antimicótica <i>in vitro</i> del extracto etanólico del fruto de <i>Solanum mammosum</i> "Tintona" sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>.</p> <p>Objetivos específicos Determinar el promedio del halo de inhibición antimicótica <i>in vitro</i> del extracto etanólico del fruto de <i>Solanum mammosum</i> "Tintona" a concentraciones de 15%, 30% y 60% sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>. Comparar el efecto antimicótico <i>in vitro</i> del extracto etanólico de fruto de <i>Solanum mammosum</i> "Tintona" a las concentraciones de 15%, 30% y 60% sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>. Determinar el grado de sensibilidad que presenta <i>Trichophyton rubrum</i> al extracto etanólico del fruto de <i>Solanum mammosum</i> según la escala de Duraffour..</p>	<p>Hipótesis Nula (H0): El extracto etanólico del fruto de <i>Solanum mammosum</i> "Tintona" no presenta efecto antimicótico <i>in vitro</i> sobre <i>Trichophyton rubrum</i>.</p> <p>Hipótesis alterna (H1): El extracto etanólico del fruto de <i>Solanum mammosum</i> "Tintona" presenta efecto antimicótico <i>in vitro</i> en <i>Trichophyton rubrum</i>.</p>	<p>Tipo: experimental cuantitativo</p> <p>Nivel: explicativo</p>	<p>Independiente: Extracto etanólico del fruto de <i>Solanum mammosum</i> "Tintona"</p> <p>Dependiente: Efecto antimicótico sobre <i>Trichophyton rubrum</i>.</p>	<p>Porcentaje del extracto etanólico de <i>Solanum mammosum</i> "Tintona" en diferentes concentraciones, 15%,30% y 60%.</p> <p>Es la inhibición en el crecimiento o del <i>Trichophyton rubrum</i>.</p>	<p>Variable cuantitativa de Razón.</p> <p>Variable cualitativa Nominal</p>	Fueron tabulados en MS Excel y ser procesados en el software estadístico SPSS v 25 los datos se utilizó la prueba ANOVA para la comparación inter e intragrupos y la prueba post-hoc de Tukey para la comparación entre grupos.

4.7.Principios éticos

El presente trabajo de tipo experimental, *in vitro*, se llevó a cabo con una cepa de *Trichophyton rubrum* inoculado en medios de cultivo para evaluar el efecto que produce el extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* “Tintona” donde se aplicaron las normas y principios de bioseguridad del código de Ética de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.

Cuidado del medio ambiente y la biodiversidad, según este principio se consideró las medidas necesarias para evitar daños al medio ambiente, realizando la esterilización del material biológico contaminado antes de ser desechado.

Justicia, la investigación se basó bajo juicio razonable, evitando las prácticas injustas.

Integridad científica, según este principio el investigador se rige bajo las normas deontológicas, así como también se debe mantener la integridad científica mediante el estudio de una investigación ⁽²⁹⁾.

V. RESULTADOS

5.1.Resultados:

Tabla 1: Determinación del promedio del halo de inhibición del efecto antimicótico *in vitro* del extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* “Tintona” a concentraciones de 15%, 30% y 60% sobre cultivos de *Trichophyton rubrum*

Grupos	Diámetro de halos de inhibición sobre <i>Trichophyton rubrum</i> en mm $\bar{X} \pm DS$	Significancia p ANOVA
Control positivo (Terbinafina 1%)	44 \pm 1.14	0.000*
Extracto etanólico de <i>Solanum mammosun</i> 15%	12.4 \pm 1.578	
Extracto etanólico de <i>Solanum mammosun</i> 30%	15.9 \pm 1.595	
Extracto etanólico de <i>Solanum mammosun</i> 60%	18.6 \pm 3.239	

*(p < 0.05) Son estadísticamente significativos, se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula.

FUENTE: Paquete Estadístico SPSS 25.0, datos en la investigación.

Tabla 2 Comparación del efecto antimicótico *in vitro* del extracto etanólico de fruto de *Solanum mammosum* “Tintona” a las concentraciones de 15%, 30% y 60% sobre cultivos de *Trichophyton rubrum*.

Extracto etanólico del fruto de <i>Solanum mammosum</i>	Diámetro de halos de inhibición sobre <i>Trichophyton rubrum</i> en mm X±DS		Significancia (valor P)
15% vs 30%	12.4±1.578	15.9±1.595	0,005
30% vs 60%	15.9±1.595	18.6 ± 3.239	0,034

De acuerdo con la prueba post-hoc de Tukey, se observa que las diferencias significativas se encuentran en todas las Concentraciones de Extracto Etanólico ($p < .05$).

Tabla 3: Grado de sensibilidad que presenta *Trichophyton rubrum* ante el extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* según la escala de Duraffourd.

CONCENTRACIONES DE <i>Solanum mammosum</i> “Tintona”	Halos (mm)	ESCALA DURAFFOURD (mm)			
		<8 Resistente	8-14 Límite	14 – 20 Media	>20 Sensible
15%	13,88		X		
30%	14,63			X	
60%	18,20			X	
Terbinafina 1%	44				X

5.2. Análisis de resultados

El presente trabajo de investigación se evaluó el efecto antimicótico *in vitro* del extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* “Tintona” sobre cultivos de *Trichophyton rubrum*, los resultados obtenidos fueron los siguientes

En la tabla 1, se evidencia que el grupo control negativo no presentan los halos de inhibición es decir no presenta efecto antimicótico sobre la cepa de *Trichophyton rubrum*.

El grupo control positivo se observa que el fármaco de referencia Terbinafina muestra un halo de inhibición de 44 ± 1.14 mm valor que se encuentra dentro del rango esperado como sensible para *Trichophyton rubrum*, los grupos experimentales de los extractos etanólico del fruto de *Solanum mammosum* de las concentraciones de 15%, 30% y 60%, muestran promedios de halos de inhibición de 12.4 ± 1.578 , 15.9 ± 1.595 , 18.6 ± 3.239 , respectivamente, observándose que el diámetro aumenta a medida que la concentración aumenta. En el análisis de ANOVA unifactorial indica que hay diferencias en los diámetros de halo de acuerdo a las concentraciones de extracto etanólico (F: 18.676; $p < 0.05$). Por lo tanto, el extracto del fruto de *Solanum mammosum* si presenta efecto *in vitro* en *Trichophyton rubrum*, por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa, rechazando la hipótesis nula. Este efecto antimicótico se debería a la presencia de metabolitos secundarios en el fruto de *Solanum mammosum*, como taninos, flavonoides, quinonas, alcaloides y saponinas, tal como lo demuestra Benavides et al ⁽⁷⁾ en un análisis fitoquímico.

Por lo tanto, así como la terbinafina interfiere en la biosíntesis del esterol al inhibir la enzima esqualenomonooxigenasa, la cual genera acumulación de esqualeno en la membrana de la célula la cual debilita la membrana del hongo, además de ello la inhibición de la monooxigenasa ocasiona una deficiencia de ergosterol, un componente de la membrana de los hongos necesario para su crecimiento⁽³⁰⁾. La actividad antimicótica de los metabolitos secundarios como en el caso de la solanina y la solanidina, se debería a que estos glicoalcaloides esteroidales anticolinesterásicos y citotóxicas provocan la lisis de la membrana celular del microorganismo⁽³¹⁾.

En la tabla 2, se observa la comparación del efecto antimicótico del extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* con las concentraciones de 15 %, 30% y 60%, en donde se logró demostrar mediante la prueba post-hoc de Tukey, que si existen diferencias significativas de las concentraciones del extracto etanólico ($p < 0.05$); en donde la concentración del 60 % presenta el mayor inhibición de halos, debido a que contiene en más porcentaje los metabolitos secundarios.

El glicoalcaloide responsable de la actividad antimicótica se debería a la solanina, de acuerdo a la literatura afirma que tiene acción antifúngica por ser de naturaleza tetracíclica cuaternaria o terciaria, así como también es un glucósido muy tóxico ya que interactúa con las membranas mitocondriales, abre los canales de potasio de la mitocondria disminuyendo el potencial de la membrana, se considera que la solanina la máxima dosis tolerada en humanos es de 1mg/kg de masa corporal y la dosis agudas es de 2 a 5mg de peso corporal y la dosis letal es 3 a 6mg/kg de peso corporal⁽³²⁾.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede afirmar que *Trichophyton rubrum* es inhibido a las diferentes concentraciones del extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosun* “Tintona”, mostrando una sensibilidad media según la escala de duraffourd, debido a que un extracto vegetal no solo se encuentra el principio activo como la solanina, si no tambien se encuentran otras sustancias químicas.

VI. CONCLUSIONES

- ✓ El extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosun* tiene efecto antimicótico sobre los cultivos de *Trichophyton rubrum* en sus diferentes concentraciones.
- ✓ Se logró determinar que la concentración con mayor efecto antimicótico contra los cultivos de *Trichophyton rubrum* fue la de 60% del extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum*.
- ✓ Mediante la escala de Duraffourd se determinó que *Trichophyton rubrum* tiene un grado de sensibilidad límite con la concentración del 15%, y una sensibilidad media con las concentraciones de 30% y 60%.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- ✓ Se recomienda realizar una investigación de los metabolitos puros, la cual son responsables de la actividad antimicótica del *Solanum mammosum*.
- ✓ Evaluar la estabilidad del extracto mediante la variable del tiempo.
- ✓ Realizar una investigación para determinar el efecto antimicótico de las semillas del fruto de *solanum mammosum*.
- ✓ Se debe realizar estudios de investigación de extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* a concentraciones mayores del 60%.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. García R. Medicina tradicional o complementaria: pacientes que lo usan al mismo tiempo que su tratamiento farmacológico. Cien. Des. Univ Alas Peruanas [Internet]. 2019 [citado 11 Nov 2019]; 22(1): 25-30. Disponible en: https://scholar.google.es/scholar?cluster=6417391294431901368&hl=es&as_sdt=0,5
2. Rodriguez V. Diagnóstico de problemas fitopatógenos en algunos cultivos de huertas aromáticas, caseras y medicinales en algunas zonas del departamento de la meta [Internet]. Colombia; 2018 [citado 4 Nov 2018]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rmc/v138n10/art%2014.pdf>
3. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An Fac med. 2016 [Internet] Ecuador; 2016 [citado 4 Nov 2018]; 77(4):327-32. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a02v77n4.pdf>
4. Cultivo de las plantas medicinales. Teta de Vaca [Internet]. [citado 6 Nov 2018] pág 44. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/CDinvestigacion/iiap/iiap2/CapituloIII-44.htm>
5. Quisupanqui M. Prevalencia e identificación de hongos en cultivos micóticas de uñas de pies en pacientes del Hospital Quito N°1 Policía Nacional durante el periodo septiembre 2016- septiembre 2017. [Tesis para optar el título de grado de licenciado en Laboratorio clínico e Histotecnológico]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador; 2018 [citado 9 Nov 2018]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15662/1/T-UCE-0006-CME-010.pdf>
6. López E, Sopena J. Dermatofitosis cutáneas. Etiología, epidemiología y manifestaciones clínicas. Rev. Med. Clin. [Internet]. 2006 [citado 12 Nov 2018];

126(1): 14-19. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025775306721078>

7. Benavides M, Castro L. Efecto antimicótico in vitro de los extractos del fruto maduro de *Solanum mammosum* Tintona frente a *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* y *Microsporum canis*. [Tesis para obtener el Título de Químico Farmacéutico]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2007 [citado 20 Nov 2018]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3036/Benavides%20Idrogo%20Miriam.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
8. Ayala C, Castillo E, Villanueva L et al. Desarrollo y efecto antimicótico in vitro de una crema de *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae) sobre *Trichophyton rubrum* (Arthrodermataceae). Rev. Arnaldoa. [Internet]. 2018 abril [citado 20 Nov 2018]; 25(1): 105-114. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v25n1/a06v25n1.pdf>
9. Lachos E, Laurente K. Efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a cepas de *Trichophyton rubrum*. [Tesis para obtener el Título de Químico Farmacéutico]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2018. [citado 20 Nov 2018]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10104/Lachos%20Miguel%20Estrella%20Vanessa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
10. Canaza M, Misaray M. Efecto antifúngico del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Trichophyton rubrum*, in vitro [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y bioquímico.] Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018 [citado 5 Nov 2020]. Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2889/TESIS%20MI>

SARAY%20MONTES%20MARIELA-%20CANAZA%20LARICO%20MAYT
E.pdf?sequence=3&isAllowed=y

11. López M. Evaluación antimicótica de extracto de mosquera (*Croton elegans*) frente a: *Trichophyton methagrophytes* ATCC 9533, *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, *Microsporum canis* ATCC 36299, *Candida albicans* ATCC 10231, patógenos de dermatomicosis [Trabajo de investigación previo la obtención del título de: Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales]. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito; 2016 [citado 5 Nov 2020]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/13225/1/UPS-QT10561.pdf>
12. Oliveira M, Velázquez D, Bermúdez A. La investigación etnobotánica sobre las plantas medicinales. *Rev. Cien y Tec de América* [Internet]. 2005 [citado 20 Nov 2018]; Vol. 30(8): 453-459. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1373833>
13. Organización Mundial de la Salud. Medicina tradicional: definiciones [Internet] 2018 [citado 28 Nov 2018]. Disponible en: https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/
14. Santamaría C, Gonzales A, Astorga F. Extractos vegetales aplicación para la reducción del estrés. *European Natural Additives* [Internet] 2015 [Actualizado 30 Mar 2015; citado 30 Nov 2018]. Disponible en: <https://nutricionanimal.info/download/0315-ena-WEB.pdf>
15. Comisión Nacional contra la Biopiratería [Internet]. Perú: Biopat; 2019. [Citado el 12 Abr 2020]. Disponible en: <https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/3180041/Tetita+de+vaca.pdf/da78e846-7fc3-8331-e7ef-e6c8ad4e687f>
16. Ruiz D. Validación farmacología de la actividad antiinflamatoria de las infusiones acuosas de las hojas de *Acalypha guatemalensis* (hierba del cáncer), *Solanum*

- mammosum (chichitas) y Rauvolfia tetraphylla L. (chalchupa). [Tesis]. Guatemala: Universidad San Carlos de Guatemala; 2008. [Citado 14 Abr 2019]. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2639.pdf
17. Teta de vaca un curioso fruto de gran potencial biocida. [Internet]. Venezuela: Institución Educativa Liceo Naval Contralmirante Montero. [Citado el 11 de May de 2019]. Disponible en: <https://studylib.es/doc/809551/teta-de-vaca-un-curioso-fruto-de-gran-potencial-biocida>
18. Toxicología 2012. Tóxicos naturales: Solanina [Internet]. Cátedra de Toxicología de Alimentos de la Carrera de Nutrición [Actualizado 13 Abr 2012; citado 11 May 2019]. Disponible en: <http://toxicologiaub.blogspot.com/2012/04/toxicos-naturales-solanina.html>
19. Campozano N, Heras V. Determinación de la prevalencia de dermatofitosis en los niños de la Escuela de Educación General Básica “Padre Juan Bautista Aguirre” de la parroquia Miraflores de la ciudad de Cuenca [Tesis previa la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico]. Universidad de cuenca; 2014 [citado 19 Jun 2018]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/21010/1/TESIS.pdf>
20. Gubelin W, De la Parra R, Giesen L. Micosis superficiales. Rev med clinica condes [Internet]. Chile; 2011 [citado 19 Jun 2018]; 22(6). 804-812. Disponible en: https://www.clinicalascondes.cl/Dev_CLC/media/Imagenes/PDF%20revista%20m%C3%A9dica/2011/6%20nov/11_Micosis_superficiales-14.pdf
21. Hernández A, Carbajal P, Fernández R et al. Dermatofitosis por Trichophyton rubrum. Experiencia de 10 años (1996-2005) en un servicio de dermatología de un hospital general de la Ciudad de México. Rev. Iberoam. Micol [Internet]. 2007

- [citado 29 Jul 2018]; 24(1): 122-124. Disponible en: <http://www.reviberoammicol.com/2007-24/122124.pdf>
22. De la Calle N, Santa C, Cardona N. Factores de virulencia para la infección de tejidos queratinizados por *Cándida albicans* y hongos dermatofitos. Rev CES Med [Internet]. 2012 [citado el 29 Jul 2018]; 26(1): 43-55. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v26n1/v26n1a05.pdf>
23. Bial A. *Trichophyton rubrum*. Rev. Iberoro.Micol. [internet]. [citado el 4 nov 2018]. Disponible en: <http://hongosalergenicos.reviberoammicol.com/files/043.PDF>
24. Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo. *Trichophyton spp*. Fichas de agentes biológicos [Internet]. 2013 [Actualizado 23 Feb 2013; citado 19 Jun 2019]. Disponible en: <https://www.insst.es/documents/94886/353749/Trichophyton+spp.pdf/26879351-3c30-4bb2-b7c9-48b5729bcb2a>
25. Sousa D, Driessnack M, Costa A. Revisión de diseños de investigación resaltantes para enfermería. parte 1: diseños de investigación cuantitativa. Rev Latino-am Enfermagem [Internet] junio 2007 [citado 18 Nov 2019]; 15(3): 1-6. Disponible en: http://www.scielo.br/pdf/rlae/v15n3/es_v15n3a22.pdf
26. Rezusta López A, Sánchez Sousa A, Gil Tomás J. Fundamentos básicos para el diagnóstico micológico. Rev indo mico [Internet] España 2007 [citado 18 Nov 2019]; 22Pág. Disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo3.pdf>
27. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernández G. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas. Anales de la Facultad de Medicina. 2001; 62 (2): 156-161.
28. Bernal R.M, Guzmán M. El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby - Bauer Biomédica [Internet]. 1984 [citado 28 Nov 2019]; (3-4):113.

Disponible en: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomédica/article/view/1891>

29. Código de ética para la investigación versión 001. [internet]. Chimbote: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2016 [citado 28 Nov 2019]
Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v005.pdf>
30. Escudero R. Farmacodivulgación. Medicamentos nuevos de la industria farmacéutica cubana. Terbinafina. Rev. Cub. Farm [Internet]. 2012 [citado 6 Jun 2020]; 46(4): 473-474. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v46n4/far11412.pdf>
31. Mesa A, Bueno J, Betancur L. Productos naturales con actividad antimicótica. Rev Esp Qimioterap [Internet]. 2004 [citado 6 Jun 2020]; Vol.17 (Nº4): 325-331.
Disponible en: <https://seq.es/seq/0214-3429/17/4/325.pdf>
32. Ordoñez A. Análisis del efecto de la α -solanina en las características citomorfológicas de células adhesivas y su relación con la expresión con la expresión del gen shroom [tesis para optar el título de doctorado en ciencias biológicas]. Pontificia Universidad Javeriana, Colombia; 2019 [citado 6 Jun 2020].
Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/42354/Tesis%20completa%20con%20firmas%20PDF%20para%20y%20Repositorio%20PUJ.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

ANEXOS

Anexo N°1

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:


- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae
- Super Orden: Asterales
- Orden: Solanales
- Familia: Solanaceae
- Género: *Solanum*
- Especie: *S. mammosum* L.
- Nombre común: "tintona"

Muestra alcanzada a este despacho por GABY ARACELY VARGAS RISCO, identificado con DNI: 45357453, con domicilio Av. Miguel Grau N° 812- El Milagro - Trujillo. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Angeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: Formulación y control de calidad de la solución tópica antimicótica del extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum* "tintona".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 29 de mayo del 2019




Dr. JOSE MONTACERO LEON
Director del Herbario HUT

Anexo N°2

TAGUMEDICA

INFORME DE ENSAYO N° 201-19

EMPRESA/CLIENTE: Gaby Vargas Risco

DNI: N° 45357453

N° de Ficha: 201-19

DATOS DE LA MUESTRA:

Identificación de la muestra	Código	Descripción	Cantidad de la muestra.
<i>Trychophytum rubrum</i> (presuntivo)	401-19	Tubo de ensayo conteniendo cepa presuntiva	1 tubo de ensayo.

TIPO DE ENSAYO: Pruebas de identificación de microorganismos USP vigente <61> <62><1113>

- **FECHA DE RECEPCION:** 12/07/19
- **FECHA DE ANALISIS:** 15/07/19
- **FECHA DE EMISION:** 22/07/19

Especificaciones:

ENSAYO MICROBIOLÓGICO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN / LIMITE
Caracterización, identificación y tipificación de cepas microbianas	Conforme / No conforme

Nota: Especificaciones Según USP VIGENTE <61> y <1113>

TAGUMEDICA

RESULTADOS.

1. Identificación.

1.1. En medio de cultivo: Agar glucosado Sabouraud Dextrosa.

Criterios de evaluación	Especificación	Resultado
Desarrollo de colonia	Hifas laterales color blanco	Conforme
Forma de colonia	Claviforme o Fusiforme	Conforme
Degradación de glucosa	Coloración roja	Conforme
Superficie de colonia	Vellosidades finas	Conforme

1.2. Microscópica.

Aspectos	Especificación	Resultado
Formación de microconidias	Identificación de racimos	Conforme
Tamaño de microconidias	2-3 μm	Conforme
Forma de microconidias	Esférica con bordes fusiformes	Conforme

TAGUMEDICA

CONCLUSION.


Según la muestra los resultados son conformes para la identificación de:

- *Trychophytum rubrum*


Nota:

1. El informe de ensayo solo es utilizado para los ítems ensayados y la cantidad recibida.
2. Prohibida la reproducción total o parcial del documento sin autorización de TAGUMEDICA SAC.
3. El resultado de ensayo no debe ser usado como certificación de Conformidad o como certificado de Sistema de Calidad de quien lo produce.
4. Toda muestra biológica será eliminada posterior a su procesamiento.
5. Estos resultados son de uso exclusivo del cliente y no pueden ser utilizados para controversias de tipo legal con terceros.

TAGUMEDICA S.A.


Q.F. JAIME GRAMPOS NAPAN
JEFE DE CONTROL DE CALIDAD
C.Q.F.P. 10588

TAGUMEDICA S.A.


Q.F. CORINA CANALES TORRES
DIRECTOR TECNICO
C.Q.F.P. 11416

Anexo N° 3



Anexo N°4



PROTOCOLO DE INVESTIGACION RELACIONADOS CON MICROORGANISMOS (Ciencias Médicas y de la Salud)

Título de la Investigación: EFECTO ANTIMICOTICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Solanum mammosum* "Tintona" SOBRE CULTIVOS DE *Trichophyton rubrum*

Investigador Responsable: Gaby Aracely Vargas Risco.

Yo, como investigador principal, acepto la responsabilidad de conducir este estudio y de cumplir con los principios de ética relacionados con microorganismos.

Describe brevemente los procedimientos a los que serán expuestos los microorganismos durante su estudio:

- Se cultivó la cepa de *Trichophyton rubrum* en tubos de ensayo con agar Sabouraud dextrosa para activar al hongo. Se incubaron a temperatura ambiente con el fin de obtener colonias jóvenes, caracterizadas macroscópicamente las colonias de *Trichophyton rubrum* por el color y aspecto del haz blanco algodonoso y el envés con el rojo vinoso. A partir de este cultivo reciente se realizaron los demás procedimientos.
- Para la realización de las pruebas de susceptibilidad se preparó un inóculo donde se produjeron los microconidios piriformes del hongo, los cuales se utilizaron para enfrentar a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Solanum mammosum* "Tintona"
- Para lograr la esporulación del hongo se sembró la cepa de *Trichophyton rubrum* en Agar Harina de Avena ⁽¹²⁾, dejándose por 21 días. Al término de este periodo se agregó 10 ml de solución salina fisiológica estéril y se resuspendió las microconidios del hongo.

INFORMACIÓN ACERCA DEL MICROORGANISMO:

ESPECIE

Nombre científico: *Solanum mammosum*

Justifique la cantidad de los microorganismos:

Grupo experimental I:

Estuvo conformado por 10 placas con agar Sabouraud dextrosa sembrado con la cepa de *Trichophyton rubrum*, utilizando la concentración de 15% del extracto etanólico de *Solanum mammosum* "Tintona".

Grupo experimental 2:

Estuvo conformado por 10 placas con agar Sabouraud dextrosa sembrado con la cepa de *Trichophyton rubrum*, utilizando la concentración de 30% del extracto etanólico de *Solanum mammosum* "Tintona".

Grupo experimental 3:

Estuvo conformado por 10 placas con agar Sabouraud dextrosa sembrado con la cepa de *Trichophyton rubrum*, utilizando la concentración de 60% del extracto etanólico de *Solanum mammosum* "Tintona".

PROCEDIMIENTOS:

Descripción de la Obtención de material biológico (método a utilizar, muestra a tomar, manejo de la muestra de ser el caso):

- El cultivo de *Trichophyton rubrum*, fue aislada de un paciente del Hospital Edgardo Rebagliati Martins, e identificada por el Laboratorio TAGUMEDICA S.A. de la ciudad de Lima, según el informe remitido
- Se cultivó la cepa de *Trichophyton rubrum* en tubos de ensayo con agar Sabouraud dextrosa para activar al hongo.
- Para lograr la esporulación del hongo se sembró la cepa de *Trichophyton rubrum* en Agar Harina de Avena ⁽¹²⁾, dejándose por 21 días.

Bioseguridad (procedimientos para evitar impactos negativos en el ambiente, en casos de trabajos de campo de ser el caso):

Al finalizar el estudio las placas Petri con cultivos utilizados fueron esterilizadas como material contaminado en autoclave expuesta a 121 ° C y 15 libras de presión, antes de desechar el material biológico, aplicando las normas de manejo de desechos hospitalarios



Firma del Investigador Principal

Fecha 26/09/20

Figura 1: Extracto etanólico del fruto de *Solanum mammosum*.



Figura 2: Grupo control positivo (Terbinafina 1%)



Figura 3: Halos de inhibición de la Terbinafina 1% sobre *Trichophyton rubrum*



Figura N°4: Halos de inhibición de las concentraciones 15%, 30% y 60% del extracto etanólico de *Solanum mammosum* "Tintona" sobre *Trichophyton rubrum*



Anexo 4

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Lectura_mm	Se basa en la media	2,272	2	27	,122
	Se basa en la mediana	2,153	2	27	,136
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	2,153	2	17,127	,147
	Se basa en la media recortada	2,259	2	27	,124

La prueba de Homogeneidad de Varianzas de Levene indica que se cumple el supuesto (Estadístico: 2.272; gl1:2 y gl2:27; $p > .05$).

Anexo 5

ANOVA

Lectura_mm

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	193,267	2	96,633	18,676	,000
Dentro de grupos	139,700	27	5,174		
Total	332,967	29			

Anexo 6

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Lectura_mm

HSD Tukey

(I) Concentracion_Extracto_Etanolico	(J) Concentracion_Extracto_Etanolico	Diferencia de medias (I-J)	Dev. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
15%	30%	-3,500*	1,017	,005	-6,02	-,98
	60%	-6,200*	1,017	,000	-8,72	-3,68
30%	15%	3,500*	1,017	,005	,98	6,02
	60%	-2,700*	1,017	,034	-5,22	-,18
60%	15%	6,200*	1,017	,000	3,68	8,72
	30%	2,700*	1,017	,034	,18	5,22

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