

Evaluación del efecto fungicida de una especie vegetal tradicional de la sierra nororiental del Estado de Puebla

López Olivares Guadalupe, Cruz Ortega Norma Judith, Vargas Anaya Elizabeth,
Meléndez Balbuena Lidia, Castro Lino Alejandra, Sosa Rivadeneyra Martha

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Departamento de Química Inorgánica.
Avenida San Claudio y 18 Sur Col. San Manuel, Puebla, Pue., México, CP 72570.

guadamax@yahoo.com.mx

Fecha de aceptación: 16 de julio de 2015

Fecha de publicación: 23 de septiembre de 2015

RESUMEN

Las micosis superficiales provocadas por dermatofitos son de alta incidencia en la actualidad. En este trabajo se evalúa el efecto fungicida de una especie vegetal que crece de manera silvestre en la sierra nororiental del Estado de Puebla, la extracción de sus componentes se realizó por dos vías, una por Soxhlet y otra por maceración, con diferentes solventes para su posterior aplicación en dos protocolos experimentales: *in vitro* frente a *Trichophyton rubrum* y *Candida albicans in situ* en personas con onicomicosis y tiña pedis, encontrándose que el efecto fungicida se presenta *in vitro* en el extracto con etanol disminuyendo el crecimiento de ambas cepas con respecto al control *in situ* disminuyendo el grado de afección por la micosis al paciente, así como las molestias referidas por el mismo. Así mismo, se desarrollan dos formas farmacéuticas para aplicar el extracto de la planta en personas afectadas con este tipo de micosis, una en spray y otra en talco.

Palabras clave: dermatofitos, extracción, fungicida, formas farmacéuticas.

ABSTRACT

Superficial mycoses caused by dermatophytes are currently high incidence. In this work the fungicidal effect of a plant species that grows wild in the northeastern mountains of Puebla, evaluates its components extraction was performed by two-way one by Soxhlet and another by maceration with different solvents for subsequent application in two experimental protocols: *in vitro* against *Trichophyton rubrum* and *Candida albicans*, and *in situ* in patients with onychomycosis and skin tinea. We finding that the fungicidal effect occurs *in vitro* in ethanol extract resulting in slowing the growth of both strains with respect to control, and *in situ* by lowering the level of infection by fungal infection to the patient, as well as discomfort referred by the same. Finally, two pharmaceutical forms were developed to apply the plant extract in individuals affected with mycosis such a spray and a talc.

Key words: dermatophytes, extraction, fungicidal, pharmaceutical forms.

INTRODUCCIÓN

Las dermatofitosis o tiñas (tinea) son micosis superficiales causadas por un grupo de hongos queratinofílicos estrechamente relacionados, denominados dermatofitos. La dermatofitosis es una infección usualmente contagiosa superficial de la epidermis queratinizada y de anexos queratinizados (pelos y uñas). Usualmente se afectan a las uñas, ingles, planta y espacios interdigitales de pies (pie de atleta), cuero cabelludo y cualquier zona de piel lampiña en cualquier localización anatómica. Producen cuadros clínicos muy variados, desde síntomas leves hasta lesiones inflamatorias intensas (Manzano-Gayoso, 2014).

Los dermatofitos se dividen en tres géneros que se distinguen por las características morfológicas de sus macroconidios: *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*. El género *Trichophyton* tiene macroconidios alargados cuya porción distal es redondeada, de pared delgada y lisa, miden de 8 a 50 μm , el número de septos va de 4 a 6. En la actualidad se consideran 40 las especies causantes de enfermedad, de las cuales cinco son las más frecuentes: *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *M. canis*, *E. floccosum*. El dermatofito que causa el 80-90% de esta micosis es *T. rubrum* (Manzano-Gayoso, 2014).

Formas clínicas

Es tradicional clasificar a las dermatofitosis de acuerdo a la parte del cuerpo que afectan:

- 1) Dermatofitosis de la piel cabelluda (tiña capitis)
- 2) Dermatofitosis del cuerpo (tiña corporis)
- 3) Dermatofitosis de la ingle (tiña cruris)
- 4) Dermatofitosis de los pies (tiña pedis)
- 5) Dermatofitosis de las uñas (tiña unguis)

Principales síntomas: comezón, ardor, rubefacción (enrojecimientos dérmicos), descamaciones, agrietamiento e incluso olores desagradables, todos estos síntomas pueden estar presentes sólo algunos de ellos (Treviño, 2013).

Cándida es un hongo levaduriforme que comúnmente infecta la piel. Es bastante común y puede comprometer casi cualquier área de la piel en el cuerpo. Casi siempre se presenta en áreas húmedas, calientes y con pliegues como las axilas y la ingle. Una candidiasis puede causar picazón intensa. Los síntomas pueden abarcar erupción cutánea roja que crece, erupción en los pliegues de la piel, los genitales, el tronco, los glúteos, bajo las mamas u otras áreas de piel, engrosamiento de las uñas y pigmentación amarilla o gris. Se puede hacer uso de ungüentos o cremas antimicóticas cutáneas para tratar una candidiasis de la piel, la boca o la vagina. Los medicamentos antimicóticos tomados por vía oral pueden ser necesarios para las candidiasis serias que comprometen la boca, la garganta o la vagina (Bonifaz, 2014).

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto fungicida de una especie vegetal silvestre procedente de la Sierra Nororiental del Estado de Puebla, en la inhibición del crecimiento de dos de los principales agentes etiológicos causantes de tiña pedis y onicomycosis en la población, así como el desarrollo de formas farmacéuticas que permitan su aplicación con mayor facilidad sin que se vean afectadas las propiedades del extracto (Treviño, 2013).

Algunas especies vegetales han sido utilizadas desde la antigüedad en beneficio a la salud humana, animal o con fines agrícolas debido a los principios activos que poseen, que son sustancias elaboradas por las propias plantas como mecanismos de autoprotección; entre las prácticas más comunes se encuentran el uso de las flores del piretro, el ajo (utilizado desde tiempo inmemorial por los indígenas de Sudamérica) en el que encontramos principios activos como los sulfuros y derivados azufrados, sustancias similares las hay también en las cebollas y en las capuchinas; la cola de caballo que es un

fungicida de carácter preventivo, aunque también es insectífuga, sus principios activos son alcaloides y sílice principalmente y han hecho de esta planta una de las más conocidas y usadas por todos los jardineros y horticultores. Sin embargo, existen una gran variedad de especies que aún no han sido estudiadas y que son utilizadas en su hábitat natural por los habitantes de las comunidades aledañas.

La especie vegetal cuyo efecto fungicida se evalúa en este trabajo es endémica de la Sierra Nororiental del Estado de Puebla y utilizada de manera artesanal por los habitantes de la comunidad para el tratamiento de tiña pedis y onicomicosis, afecciones comunes en esta parte del Estado debido a las condiciones climáticas propias del mismo en cuanto a temperatura y humedad elevadas; siendo obtenido el extracto por maceración manual y aplicándolo a través de compresas en el sitio anatómico afectado.

El tratamiento con esta especie vegetal ha resultado efectivo de acuerdo al testimonio de las personas que lo han utilizado, sin embargo, se desconocen los componentes activos de la misma, así como su efectividad contra sepas específicas de microorganismos ya que aún no ha sido estudiada ni reportada.

METODOLOGÍA

Se trabajó con una especie vegetal silvestre procedente de la Sierra Nororiental del Estado de Puebla. La extracción de sus componentes se realizó por dos vías, una en equipo Soxhlet con 4 ciclos por hora durante 6 horas y otra por maceración manual, ambas en dos diferentes solventes: agua y etanol, utilizando un volumen de 150 mL de cada uno.

Los extractos obtenidos se aplicaron en dos protocolos experimentales:

Pruebas In vitro. Se adicionaron cada uno de los extractos de la planta que se obtuvieron previamente en cantidades de 1 y 2 mL en diferentes placas con medio de cultivo agar papa dextrosa, para su posterior esterilización por calor húmedo a 15 lb y 120 °C durante 15 minutos. Se inoculó este medio con cultivos puros de *Trichophytonrubrum* y *Candidaalbicansen* placas separadas, el hongo filamentoso se sembró por deposición directa en el medio de cultivo con asa micológica y se incubó a temperatura ambiente durante 7 días para observar el crecimiento alcanzado por dicho microorganismo; mientras que la levadura se sembró por estría cruzada con asa microbiológica y se incubó a 37 °C, observando el posible crecimiento a las 24 y 36 horas. Al mismo tiempo se incubaron placas control que consistieron en la inoculación de los microorganismos de la misma manera que las placas experimentales pero en medio sin extracto.

Pruebas in situ. El extracto etanólico obtenido se proporcionó a 14 personas voluntarias y con su previo consentimiento informado acerca del experimento, que presentaban onicomicosis y tiña pedis, quienes lo aplicaron de manera directa sobre la zona afectada previamente aseada y quitando el exceso de agua. El procedimiento se repitió diariamente durante 15 días.

Se desarrollan dos formas farmacéuticas a partir del extracto de la planta con el fin de facilitar su aplicación sin que se vean afectadas sus propiedades:

Spray: consistente en el acondicionamiento del extracto etanólico en un dispositivo aspersor en presentación de 50 mL.

Talco: se preparó adicionando el extracto etanólico en una mezcla de calcita y bentonita con los excipientes adecuados para obtener un talco de presentación comercial.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La especie vegetal silvestre estudiada se muestra en la Figura 1, mientras que la obtención de los extractos con sus respectivos solventes se muestran en la Figura 2.



Figura 1. Especie vegetal silvestre estudiada

En las pruebas *in vitro* se encontró que las placas que contenían extracto etanólico obtenido a través del equipo Soxhlet fueron en las que se presentó el menor crecimiento microbiano en ambas cepas inoculadas, con respecto a su respectivo control (Figura 3), posiblemente se debió a un efecto sinérgico entre los compuestos activos de la planta y el efecto sanitizante propio del etanol, aunado a que es posible que los componentes vegetales con efecto fungicida sean de naturaleza mayormente lipofílica conteniendo cadenas carbonadas largas y de baja afinidad a sustancias polares como el agua, por lo que se extrajeron en mayor cantidad en etanol con respecto del extracto que se obtuvo en agua.

En una siguiente fase del trabajo se pretende la identificación de dichos compuestos con actividad fungicida a través de diferentes técnicas de separación cromatográfica y posterior identificación espectrofotométrica utilizando conjuntamente espectroscopía de infrarrojo, resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas.

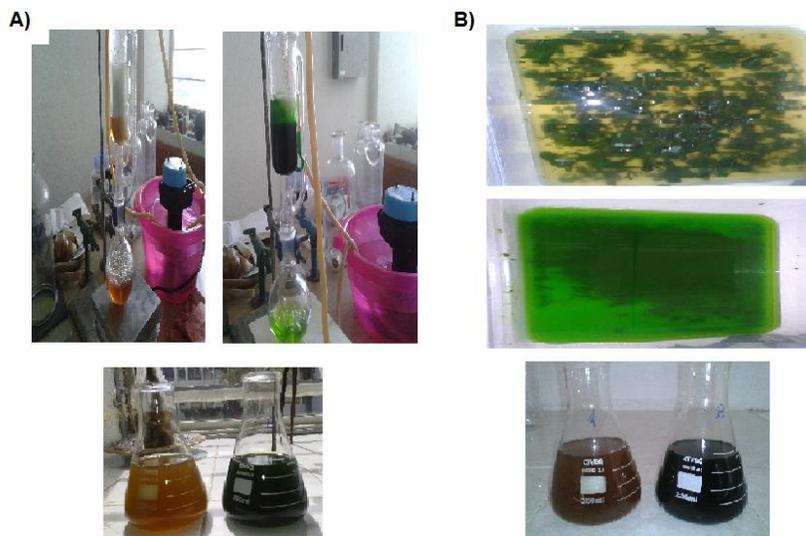


Figura 2. Obtención de los extractos de la planta estudiada. A) Extracción por Soxhlet, a la izquierda el extracto en agua y a la derecha el extracto en etanol. B) Extracción por maceración, parte superior el extracto en agua, parte inferior el extracto en etanol.

La aplicación del extracto en los pacientes voluntarios resultó en la disminución del grado de afección por la micosis y las molestias asociadas referidas por los mismos tales como comezón, oscurecimiento de uña, descamación en los espacios interdigitales, ardor y mal olor; presentando cambios visuales desde los primeros 8 días de aplicación (Figura 4.), con lo que se comprueba el efecto fungicida de la planta en estudio en las pruebas *in situ*.

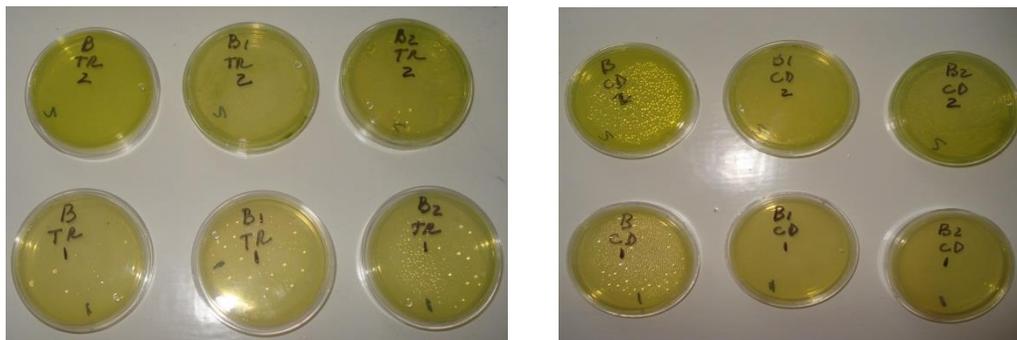


Figura 3. Pruebas *in vitro* de la planta de estudio. A la izquierda placas inoculadas con *Trichophyton rubrum*; a la derecha placas inoculadas con *Candida albicans*.



Figura 4. Pruebas *in situ* de la planta estudiada. A la izquierda paciente antes de la aplicación del extracto; a la derecha paciente después de 15 días de la aplicación del extracto.

Finalmente, se desarrollaron dos formas farmacéuticas: spray y talco (Figura 5) seleccionadas debido a su fácil aplicación y a que el procedimiento para su elaboración no somete al extracto a condiciones extremas de temperatura o interacciones químicas que pudieran afectar la actividad de los componentes activos presentes.



Figura 5. Forma farmacéutica desarrollada: talco.

CONCLUSIONES

En este trabajo se estudió el efecto fungicida antidermatofítico de una especie vegetal silvestre procedente de la Sierra Nororiental del Estado de Puebla, encontrándose que el extracto obtenido de la misma en etanol es efectivo contra *Tricophyton rubrum* y *Candida albicans*, principales agentes etiológicos de tiña pedis y onicomicosis. Se comprobó también que la planta es efectiva en el tratamiento de estos padecimientos en personas que lo presentan, por lo que se desarrollaron formas farmacéuticas adecuadas para mayor facilidad de aplicación conservando las propiedades del extracto.

REFERENCIAS

Bernat Vanaclocha. Fitoterapia Vademecúm de prescripción. Editorial Masson 2006 reimpresión tercera edición.

Bonifaz E. (2014) *DERMATOFITOSIS. INFECCIONES por HONGOS*. Micología médica 0372, 35 pp. Laboratorio de Micología Médica. BUAP. Recuperado el 03 de Marzo del 2014 de http://www.tnrelaciones.com/cm/preguntas_y_respuestas/content/171/496/es/enfermedad-dermatofitosis.html

Manzano-Gayosso Patricia. (2014). *DERMATOFITOSIS*. Micología médica 0234, 30 pp. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. Recuperado el 12 Febrero del 2014, de <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/dermatofitosis.html>

Treviño P. (2013) *CANDIDIASIS CUTÁNEA*. Micología médica 0135, 42 pp. Laboratorio de Investigaciones micológicas. BUAP. Recuperado el 21 de Diciembre del 2013 de <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000880.htm>