

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**Determinación de la actividad antifúngica in vitro del extracto
hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L.
“mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii***

Rosa Leida Aguilar Saavedra

Wilma Juep Cahuaza

Asesora:

Mg. Q.F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia

Cajamarca – Perú

Marzo – 2018

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”**

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**Determinación de la actividad antifúngica in vitro del extracto
hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L.
“mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii***

Tesis presentada en cumplimiento parcial de los requerimientos para optar el
Título Profesional de Químico Farmacéutico

Bach. Rosa Leida Aguilar Saavedra

Bach. Wilma Juep Cahuaza

ASESORA:

Mg. Q.F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia

Cajamarca – Perú

Marzo – 2018

COPYRIGHT © 2018 by
Rosa Leida Aguilar Saavedra
Wilma Juep Cahuaza
Todos los derechos reservados

PRESENTACIÓN

SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO EVALUADOR:

Dando cumplimiento a lo dispuesto por el Reglamento de Grados y Títulos Profesionales en la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo de Cajamarca, sometemos a vuestro elevado criterio el presente trabajo de investigación intitulado:

Determinación de la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii*

Con el propósito de obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico, si vuestro dictamen es favorable.

Señores miembros del jurado, dejamos a su disposición la presente tesis de investigación para su evaluación respectiva y sugerencias.

Cajamarca, Marzo de 2018

Rosa Leida Aguilar Saavedra
BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Wilma Juep Cahuaza
BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

APROBACIÓN DE TESIS PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

**Determinación de la actividad antifúngica in vitro del extracto
hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L.
“mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii***

JURADO EVALUADOR

Mg. Blgo. Héctor Emilio Garay Montañez
(PRESIDENTE)

Q.F. Wálter Nelson Gutiérrez Zerpa
(MIEMBRO)

Dra. Q.F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia
(MIEMBRO)

DEDICATORIA

A Dios, quien supo guiarme por el buen camino, por darme fortaleza y cuidarme en los buenos y malos momentos.

A mis padres Segundo Aguilar Díaz y Juana Saavedra Tirado, quienes me apoyaron de manera incondicional tanto económica como emocionalmente en los momentos más difíciles de mi vida y durante el trayecto de mis estudios profesionales, para hoy poder cumplir una de mis tan anheladas metas.

Rosa Leida

DEDICATORIA

A Dios por la vida, iluminarme y darme una familia maravillosa.

*A mi padre **Adolfo Juep Nampín**, quien me dio mucho amor; además de esforzarse, sacrificarse y apoyarme de manera incondicional, tanto emocional como económicamente para hoy lograr una de mis tan ansiadas metas.*

*Asimismo estoy tan feliz de tener unos maravillosos hijos, como son: **Carlos Adolfo, Francezca Mamaís y Majik**, a quienes también quiero dedicarles este trabajo de investigación; y a la vez, mencionar que han sido una fuente de inspiración, lo mejor y lo más valioso que la vida me ha regalado, ya que sin el apoyo de ellos, no se hubiera hecho realidad este sueño.*

Wilma

AGRADECIMIENTO

En primer lugar agradecer a Dios, por estar con nosotras en cada paso que damos, por fortalecer nuestro corazón e iluminar nuestra mente y por haber puesto en nuestro camino a aquellas personas que han sido nuestro soporte y compañía durante todo el periodo de estudios.

*Nuestro más profundo y sincero agradecimiento a la **Dra. Q.F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia**, por su acertado asesoramiento para la realización de este trabajo de investigación. Su apoyo incondicional, confianza, conocimientos, orientaciones, la manera de trabajar, su persistencia, su paciencia y su motivación han sido fundamentales para la realización y culminación de esta tesis.*

*A nuestra querida Alma Mater, la **Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo (UPAGU)**, a nuestros docentes, por esforzarse día a día y darnos lo mejor de sus conocimientos durante todos los años de estudios superiores, va nuestro sincero agradecimiento por toda la responsabilidad que cae sobre ellos.*

Rosa Leida y Wilma

RESUMEN

En esta investigación se determinó la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* tanto en forma de levadura como de filamento. Se trabajó para cada forma de crecimiento en una placa control y cinco placas problema con agar Sabouraud como medio de cultivo; a las placas problema se agregó el extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. a concentraciones de 5, 10, 20, 40 y 80 $\mu\text{L}/\text{mL}$, se procedió a la siembra del hongo *Sporothrix schenckii* y posteriormente se incubaron a 37 °C por 48 horas para determinar la actividad antifúngica en forma de levadura y a 25 °C por 15 días para la forma de filamento.

Los resultados se contrastaron y compararon con la prueba estadística U de Mann – Whitney, obteniéndose para ambas formas de crecimiento de *Sporothrix schenckii* un valor de $p = 0,25$ en todas las concentraciones del extracto hidroalcohólico (5, 10, 20, 40 y 80 $\mu\text{L}/\text{mL}$), indicando diferencia significativa; sin embargo, al comparar las placas problemas entre sí, se obtuvo un valor de $p = 1,00$, mostrando que no existe diferencia significativa; concluyéndose que el extracto hidroalcohólico tiene actividad antifúngica in vitro frente a *Sporothrix schenckii* en sus dos formas de crecimiento.

Palabras clave: Actividad antifúngica, *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo”, *Sporothrix schenckii*.

ABSTRACT

In this investigation, the vitro antifungal activity of the hydroalcoholic extract of the flowers of *Tropaeolum majus* L. "mastuerzo" against *Sporothrix schenckii* was determined in the form of filament and yeast. We worked for each growth form in a control plate and five problem plates with Sabouraud agar as culture medium; the hydroalcoholic extract of *Tropaeolum majus* L. flowers were added to the problem plates at concentrations of 5, 10, 20, 40 and 80 $\mu\text{L}/\text{mL}$. The *Sporothrix schenckii* fungus was sown and subsequently incubated at 37 °C. 48 hours to determine the antifungal activity in the form of yeast and at 25 °C for 15 days for the filament form.

The results were compared and checked with the Mann - Whitney U statistical test, getting for both forms of growth of *Sporothrix schenckii* a value of $p = 0,25$ in all concentrations of the hydroalcoholic extract (5, 10, 20, 40 and 80 $\mu\text{L}/\text{mL}$), indicating significant difference; however, when we compare the problem plates between each other, a value of $p = 1,00$ was gotten, showing that there is no significant difference; concluding that the hydroalcoholic extract has antifungal activity in vitro against *Sporothrix schenckii* in its two growth forms.

Key words: Antifungal activity, *Tropaeolum majus* L. "mastuerzo", *Sporothrix schenckii*.

ÍNDICE

PRESENTACIÓN	I
JURADO EVALUADOR	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTO	V
RESUMEN	VI
ABSTRACT	VII
LISTA DE FIGURAS	XI
LISTA DE TABLAS	XII
LISTA DE GRÁFICAS	XIII
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	6
2.1. Antecedentes teóricos de la investigación	6
2.2. Bases teóricas.....	12
2.2.1. Esporotricosis	12
2.2.2. <i>Tropaeolum majus</i> L. “mastuerzo”	22
III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	28
3.1. Unidad de análisis, universo y muestra	28
3.1.1. Unidad de análisis	28
3.1.2. Universo	28

3.1.3. Muestra.....	28
3.2. Métodos de investigación	30
3.3. Técnicas de investigación	30
3.3.1. Recolección y selección de la muestra vegetal	30
3.3.2. Preparación y obtención del extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum majus</i> L. “mastuerzo”	31
3.3.3. Obtención de las cepas de hongos de <i>Sporothrix schenckii</i>	32
3.3.4. Preparación del agar Sabouraud	32
3.3.5. Determinación de la actividad antifúngica	33
3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos	35
3.4.1. Instrumentos	35
3.4.2. Equipos	35
3.4.3. Materiales	35
3.4.4. Reactivos	35
3.5. Técnicas de análisis de datos	36
IV. RESULTADOS	37
V. DISCUSIÓN	45
VI. CONCLUSIONES	49
VII. RECOMENDACIONES	50

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
ANEXOS	59

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 1: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. “mastuerzo” frente a <i>Sporothrix schenckii</i> en su forma de levadura.....	39
Figura N° 2: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. “mastuerzo” frente a <i>Sporothrix schenckii</i> en su forma de filamento	43

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. “mastuerzo” frente a <i>Sporothrix schenckii</i> en su forma de levadura	37
Tabla N° 2: Prueba estadística U de Mann - Whitney de la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. “mastuerzo” frente a <i>Sporothrix schenckii</i> en su forma de levadura	40
Tabla N° 3: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. “mastuerzo” frente a <i>Sporothrix schenckii</i> en su forma de filamento	41
Tabla N° 4: Prueba estadística U de Mann - Whitney de la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. “mastuerzo” frente a <i>Sporothrix schenckii</i> en su forma de filamento	44

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica N° 1: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. “mastuerzo” frente a <i>Sporothrix schenckii</i> en su forma de Levadura	38
Gráfica N° 2: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. “mastuerzo” frente a <i>Sporothrix schenckii</i> en su forma de filamento	42

I. INTRODUCCIÓN

Sporothrix schenckii es un hongo dimórfico, es decir, se desarrolla de forma distinta en función de la temperatura de crecimiento, en forma de levadura a 37 °C en tejidos animales o humanos y como hongo filamentoso a 25 °C en la naturaleza. Este hongo es el causante de la esporotricosis, una enfermedad generalmente ocupacional, de la piel y el tejido celular subcutáneo, usualmente de curso crónico, que afecta los ganglios linfáticos. La enfermedad se asocia con la exposición a ciertos compuestos específicos, como las rosas, el musgo y la paja, así mismo está relacionada con las ocupaciones laborales que los manejan, como son la jardinería y la agricultura, por lo cual se conoce como la enfermedad de los jardineros de rosales. Se transmite generalmente por inoculación cutánea con material orgánico proveniente de plantas contaminadas con el microorganismo o por vía inhalatoria. También puede existir transmisión zoonótica y mediante el contacto estrecho con animales, como gatos y ardillas.^{9, 10}

La esporotricosis se caracteriza por la presencia de nódulos cutáneos o subcutáneos ulcerados, eritematosos y/o verrucosos, con frecuencia asociada a afectación linfática nodular y cuando se transmite por vía inhalatoria causa neumonitis granulomatosa con frecuencia cavitada, que recuerda a la tuberculosis. También puede haber diseminación hematógena con posterior localización osteoarticular, en el sistema nervioso central, aparato genitourinario y ojos.³

La principal población afectada es la inmunocompetente, en la que predominan las formas localizadas mientras que la forma diseminada se presenta en pacientes con VIH, diabetes, abuso de alcohol, neoplasias, enfermedades hematológicas, enfermedades linfoproliferativas y tratamiento inmunosupresor. La distribución geográfica es predominante en las zonas templadas y tropicales, a pesar de poder presentarse en cualquier parte del mundo, las zonas endémicas son Latinoamérica, Japón, India y Sur África. En Latinoamérica la mayoría de los casos se ven en Perú, Colombia, Guatemala, Brasil, México, Uruguay y Costa Rica.⁹

La Organización Mundial de la Salud (OMS), estimó que más del 80% de la población mundial usa la medicina tradicional para cubrir sus necesidades en la atención primaria de salud, con el empleo de extractos de plantas o sus principios activos. Algunas plantas medicinales empleadas en países del primer mundo cuentan con estudios farmacológicos que avalan su uso y determinan sus mecanismos de acción, estando sus monografías incorporadas en diversas farmacopeas, en la Organización de los Estados de América (OEA) y en la Comisión Europea; sin embargo, en nuestro país se utilizan más frecuentemente plantas autóctonas, que cuentan con menor cantidad de estudios farmacológicos experimentales y clínicos, de manera que hay poca bibliografía disponible.⁶

La abundancia y gran diversidad de estas plantas en forma silvestre y su fácil comercialización por los bajos costos que tienen, posibilitan su adquisición por los

pacientes de bajos recursos, para sustituir a los medicamentos de síntesis de altos costos.

El Perú cuenta con una gran diversidad en su flora, donde habría alrededor de 80 mil especies vegetales (20% de las existentes en la tierra), de las cuales solamente 2000 se vienen empleando con fines terapéuticos. La Región Nor - andina de Cajamarca, Perú, ocupa una superficie de 33 317,54 km² y en ella existen variados ecosistemas, el tropical, el templado y el frío; es por estas características que se puede encontrar en Cajamarca una biodiversidad inmensa e invaluable de plantas medicinales, que el hombre a lo largo de su estancia ha logrado manipular y aprovechar.^{17, 21}

Al hablar de las especies medicinales que son de mucha importancia para cubrir las necesidades de salud, se identificó a una especie conocida como *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo”, que es utilizada empíricamente para el tratamiento de micosis y de la cual hasta la fecha no existe gran aporte de conocimiento científico que explique la acción terapéutica de los componentes químicos presentes en ella; es por ello, que este trabajo de investigación tuvo como objetivo principal determinar la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii*, con la finalidad de aportar con una alternativa no farmacológica para el tratamiento de la micosis producida por este tipo de hongo.

Por lo anteriormente expuesto se formuló el siguiente problema de investigación:

¿Presentará actividad antifúngica in vitro el extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii*?

Planteándose los siguientes objetivos:

- **Objetivo general**

Determinar la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii*.

- **Objetivos específicos**

- Determinar la concentración óptima del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” para lograr la inhibición de *Sporothrix schenckii* en su forma de levadura.
- Determinar la concentración óptima del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” para lograr la inhibición de *Sporothrix schenckii* en su forma de filamento.
- Comparar el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” en ambas formas, tanto en levadura como filamento.

Con el propósito de dar respuesta a los objetivos planteados se formuló la siguiente hipótesis:

El extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” tiene actividad antifúngica in vitro frente al hongo *Sporothrix schenckii*.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes teóricos de la investigación

Aguilar D, Avalos S, Plasencia P, Marquillo I, Ayala M (Perú - 2017)¹ en su estudio titulado “Efecto del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* “mastuerzo” sobre micosis inducida por *Trichophyton mentagrophytes* en *Rattus norvegicus*”, se evaluó el efecto del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* “mastuerzo” sobre la micosis inducida por *Trichophyton mentagrophytes* en *Rattus norvegicus*. El modelo experimental incluyó 21 especímenes, a los cuales se indujo una infección micótica mediante modelo de infección superficial de la piel; posteriormente al desarrollo de ésta, se dividieron aleatoriamente en tres grupos de 7 especímenes cada uno; siendo tratados con placebo (control), ungüento preparado con el extracto etanólico de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” al 0,4% y terbinafina al 1% durante 30 días consecutivos. El análisis estadístico concluyó que el extracto etanólico de *Tropaeolum majus* “mastuerzo” tuvo efecto antimicótico sobre la infección producida por *Trichophyton mentagrophytes* en *Rattus norvegicus* ($p < 0,05$) pudiendo ser una alternativa segura al tratamiento tópico de esta tiña.

Por otro lado, Cabezas G (Ecuador - 2014)⁷ hizo un estudio sobre la evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) en ratones (*Mus musculus*), en la que se evaluó el

efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) a diferentes concentraciones, en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Se realizó el control de calidad de la droga cruda y del extracto hidroalcohólico, utilizado para la evaluación del efecto cicatrizante en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*), considerando el tiempo de cicatrización y la longitud final de la cicatriz, los resultados fueron analizados estadísticamente con un intervalo del 95% de confianza, por medio de los test ANOVA y TUKEY. Mediante análisis físicoquímico del extracto hidroalcohólico se pudo determinar que tuvo un pH 6,45; densidad relativa 0,9652 g/mL; índice de refracción 1,358 y sólidos totales 1,49%. En la cuantificación de compuestos fenólicos se obtuvo un valor de 821,37 expresados como µg de ácido gálico/g de muestra; se cuantificó flavonoides totales obteniéndose un valor de 30,89 expresados como µg de catequina/g de muestra. Se concluyó que el extracto hidroalcohólico de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) fue eficaz aplicado en heridas inducidas, con mayor efecto en concentración al 80%, presentando cicatrización en 10 días, con una longitud de la cicatriz de 1,4 cm; por lo que se recomendó elaborar una forma farmacéutica para facilitar la administración del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.).

Del mismo modo, Bezada S et al (Perú - 2016)⁵ realizaron una evaluación del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus* “mastuerzo” en formulación crema para el tratamiento de la dermatomycosis causada por

Trichophyton mentagrophytes en *Cavia porcellus* “cuy”, en la cual determinó la eficacia del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” en formulación crema, para el tratamiento de la dermatomicosis en cuyes, como alternativa de tratamiento para esta enfermedad. El estudio se realizó en el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Se utilizaron 30 cuyes machos, de 1,5 a 2 meses de edad, con presencia de zonas alopecicas cubiertas de escamas y piel engrosada alrededor de ojos, frente y nariz. Al análisis microbiológico de las lesiones, se confirmó la presencia de *Trichophyton mentagrophytes*. Los animales se dividieron en tres grupos: Grupo 1: a los cuales se aplicaron el extracto hidroalcohólico en formulación crema al 1,5%, Grupo 2: en este grupo se administró el extracto hidroalcohólico en formulación crema al 0,5% y Grupo Control: en el que se empleó una mezcla homogénea de hidrocarburos saturados (vaselina). Se realizaron dos aplicaciones de la crema a base del extracto hidroalcohólico sobre las lesiones por cada grupo tratado con un intervalo de tres días entre la primera y segunda aplicación. Los resultados se evaluaron y registraron semanalmente hasta la desaparición de escamas y regeneración de la piel. El grupo 1 mostró la desaparición completa de las lesiones en la tercera semana postratamiento, mientras que el grupo 2 lo hizo a la cuarta semana postratamiento. El grupo control no evidenció ninguna mejoría en el mismo periodo de tiempo; por lo que se concluyó, que el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus* L.

“mastuerzo” en formulación crema al 1,5% tuvo la mayor acción fungicida contra *Trichophyton mentagrophytes*.

Gaitán I (Guatemala – 2005)¹³ realizó un estudio sobre la Actividad de doce plantas nativas Guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii*, este estudio tuvo como objetivo buscar nuevas alternativas de tratamiento de la esporotricosis, con base en la actividad antifúngica que pudieran presentar los extractos etanólicos de *Cornutia pyramidata*, *Hypericum uliginosum*, *Lippia graveolens*, *Quercus crispifolia*, *Salvia lavanduloides*, *Senna alata*, *Smilax domingensis*, *Solanum americanum*, *Sterculia apetala*, *Tabebuia rosea*, *Tithonia diversifolia* y *Valeriana prionophylla*. Se determinó la actividad antifúngica de 17 extractos de 12 plantas nativas guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii* tanto en su fase miceliar como levaduriforme. El ensayo de actividad antifúngica de los extractos etanólicos mostró resultados positivos para la fase miceliar con *Lippia graveolens* y *Valeriana prionophylla*, siendo la concentración inhibitoria mínima de 0,1 y 0,025 mg/mL respectivamente. En la fase levaduriforme se presentó actividad con 0,25 mg/mL de *Hypericum uliginosum* y *Smilax domingensis*; y 0,5 mg/mL de *Lippia graveolens*, *Salvia lavanduloides*, *Senna alata* y *Valeriana prionophylla*. La concentración inhibitoria mínima en los extractos positivos partió de un punto de corte de 1 mg/mL, como lo reportado en la metodología; por lo que, con los resultados obtenidos se comprueba la hipótesis planteada que por lo menos 3 de los extractos

ensayados presentaron actividad positiva para cualquiera de las dos fases del hongo *Sporothrix schenckii*

Por otra parte, Rivera M (Guatemala - 2007)²⁰ estudió la actividad de seis extractos de hierbas usadas medicinalmente contra *Fonsecaea pedrosoi* y *Sporothrix schenckii*. Las hierbas fueron *Baccharis trinervis*, *Dorstenia contrajerva*, *Hedyosmum mexicanum*, *Lippia chiapasensis*, *Petiveria alliacea* y *Ocimum micranthum*, para lo cual se utilizó el método para hongos filamentosos descrito por Brancato & Golging modificado por Mac Rae, contra la fase miceliar de *S. schenki* y *F. pedrosoi*, así como contra la fase levaduriforme de *S. schenckii*. En el caso de *S. schenckii* en su fase miceliar, *Dorstenia contrajerva* y *Hedyosmum mexicanum* fueron los extractos que presentaron actividad positiva, *F. pedrosoi* fue susceptible únicamente al extracto de *Baccharis trinervis*. A estos extractos con actividad antifúngica se les determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM), encontrándose que *Dorstenia contrajerva* y *Hedyosmum mexicanum* tuvieron actividad antifúngica positiva contra la fase miceliar de *S. schenckii* a 0,1 mg/mL y 0,05 mg/mL respectivamente. De igual manera en el caso del extracto de *Baccharis trinervis*, al determinar la CIM, éste no presentó actividad antifúngica positiva contra *F. pedrosoi* a concentraciones menores del punto de corte, el cual fue de 0,2 mg/mL. El extracto etanólico de *Dorstenia contrajerva* presentó la mejor actividad antifúngica contra la fase levaduriforme de *S. schenckii* (0,1 mg/mL). En tanto que, el extracto

etanólico de *Hedyosmum mexicanum* no presentó actividad antifúngica positiva contra la levadura de *S. schenckii* a concentraciones menores de 0,2 mg/mL.

De igual forma en el estudio que realizaron, Cumpa N et al (Perú – 1991)¹² sobre los avances en la investigación de tioglicósidos en plantas del género *Tropaeolum*, actividad antibacteriana y antifúngica, para determinar la actividad antimicrobiana, se aplicó la técnica de dilución en placas de Agar, diferentes concentraciones del extracto etanólico puro obtenido de hojas, flores y frutos de *Tropaeolum majus* L. (los extractos contenían el tioglicósido y sus productos de hidrólisis determinados mediante cromatografía y la formación de derivados). Las pruebas antibacterianas se efectuaron con cepas de *S. aureus*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus vulgaris*. Para comprobar la actividad antifúngica, se hicieron pruebas cualitativas utilizando la técnica de difusión en placas de Agar, y en tubos para determinar la concentración mínima inhibitoria, se utilizaron cepas de hongos dermatofitos y *Candida albicans*. Se concluyó que los extractos etanólicos y acuosos de hojas, flores y frutos presentaron actividad antimicrobiana y antifúngica, cuya actividad se debería a un metabolito secundario que se agrupa dentro de los glicósidos (mayor en frutos).

Así mismo, existen estudios acerca del efecto antibacteriano; Bastidas, et al. (Huancayo - 2016)⁴, en su investigación “Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de las flores de la especie vegetal mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) frente al crecimiento del microorganismo *Penicillium sp*”, señalan que el extracto mostró actividad antimicrobiana, siendo el extracto metanólico de la flor roja de mastuerzo quien mostró un mayor diámetro de inhibición a una concentración del 100% y al comparar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos, se evidencia que el mastuerzo rojo tiene una CMI de 60%, mientras que para el mastuerzo amarillo y anaranjado fue un 70%. Otra investigación que indica tener efecto antibacteriano es el estudio de Tenorio A, et al (Lambayeque - 2016)²³, titulado efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” sobre *Escherichia coli* aislada de pacientes con infecciones del tracto urinario, en el cual se evidencia que el extracto etanólico de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” tiene efecto inhibitorio in vitro sobre *Escherichia coli*, el cual es estadísticamente dependiente de la cepa y de las concentraciones del extracto.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Esporotricosis

La esporotricosis es una infección micótica de evolución subaguda o crónica, adquirida por inoculación traumática o por inhalación de conidios de alguna de las especies del complejo *Sporothrix*

schenckii. La enfermedad puede afectar a humanos y animales y se caracteriza por la presencia de lesiones nodulares en piel y tejido subcutáneo; incluye hasta cinco clases diferentes de hongos: *S. schenckii*, *S. brasiliensis* y *S. globosa*, capaces de causar enfermedad humana y animal; las otras dos son *S. mexicana* y *S. albicana* no asociadas con ninguna enfermedad. Esta micosis se propaga particularmente en pacientes inmunocomprometidos. Se localiza preferentemente en cara y extremidades y se caracteriza por nódulos que dan lugar a lesiones fijas verrugosas o linfangíticas.^{27, 14} Tradicionalmente se conoce a la esporotricosis como la enfermedad de los floristas, especialmente los que manipulan rosas, o jardineros. Puede ser una enfermedad ocupacional para granjeros y horticultores. Otras profesiones o actividades laborales como pescadores, cazadores, amas de casa, microbiólogos, están igualmente relacionadas con esta enfermedad.²¹

2.2.1.1. Epidemiología

La esporotricosis es una enfermedad cosmopolita, se observa en países como Norteamérica, Sudamérica, América Central y África del Sur, Egipto, Japón y Australia. Los países con mayor número de casos publicados son: Brasil, México, Colombia, Perú, Uruguay, Venezuela, Costa Rica, Guatemala y los Estados Unidos de Norteamérica. En el Perú, la esporotricosis es la micosis subcutánea más

frecuente, en áreas rurales y agrícolas de la sierra como: La Libertad, Cajamarca, Ayacucho, Ancash, Cusco y Apurímac. Las estadísticas más altas de la infección se reportan en la sierra andina de Otuzco en la Libertad y el valle interandino de Abancay en Apurímac. Los datos de esporotricosis diagnosticados por el Laboratorio de Referencia Nacional de Micología del Instituto Nacional de Salud del Perú revelan, en un periodo de 10 años, un total de 472 casos, de los cuales 235 (50%) procedían de Abancay, 204 (43%) de Cajamarca y como nuevas zonas Amazonas, Arequipa e Iquitos.^{27, 22}

El departamento de Cajamarca, por tener una flora a base de eucaliptos, sauces, molles, árboles con espinas, cactus diversos y abundantes rosales, es una zona propicia para el desarrollo del hongo *Sporothrix schenckii*. Según la Revista Peruana de Medicina Experimental de Salud Pública 2014 reportó que Cajamarca presenta 18,1 – 24,5% de pobreza extrema así como un alto índice de enfermedades infecciosas no atendidas entre las cuales resalta la esporotricosis.^{21, 20}

2.2.1.2. Etiología

La esporotricosis es causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii* de la familia *Ophiostomataceae* que

crece en forma de levadura en los tejidos o en cultivo a 37 °C, o como un moho filamentoso en cultivos a temperatura ambiente o en el ambiente. El *Sporothrix schenckii*, generalmente se encuentra en material orgánico, vital o en descomposición, proveniente de plantas y tierra. Está formado por diferentes especies filogenéticas que tienden a agruparse en diferentes regiones geográficas. Otras dos subespecies que causan la infección en humanos han sido identificadas: *Sporothrix brasiliensis* y *Sporothrix globosa*.^{24,9}

2.2.1.3. *Sporothrix schenckii*

Hongo dimórfico, es decir, se desarrolla de forma distinta en función de la temperatura de crecimiento, en forma de levadura a 37 °C en tejidos animales o humanos y como hongo filamentoso a 25 °C en la naturaleza.¹⁶

- **Clasificación taxonómica²⁰**

Reino : Fungi

Phylum : Ascomycota

Clase : Eufungi

Orden : Ophiostomatales

Familia : Ophiostomataceae

Género : *Sporothrix*

Especie : *Sporothrix schenckii*

- **Estructura del hongo:**

Tiene una pared celular compuesta por glicopéptidos, manosa y glucosa y de L - ramnosa, una característica única de este microorganismo. Tiene proteínas de adherencia especiales, polímeros y proteínas en la pared celular, que le permiten adherirse al humano y colonizar tejidos.⁹

- **Fases y morfología del hongo**

- **Fase filamentosa:** Crece a temperaturas inferiores a 37 °C, presenta colonias de crecimiento lento (3 - 5 días) inicialmente claras, húmedas o levaduriformes, que posteriormente se convierten en colonias duras y arrugadas de color marrón o negro en su totalidad o por zonas, debido a la producción de conidios pigmentados. La coloración puede ser inconstante y variar no sólo entre los aislamientos, sino que incluso puede perderse tras múltiples pases.²⁰

En el examen microscópico, se observan hifas delgadas de 1 - 2 mm de diámetro, con conidióforos perpendiculares cuyo extremo distal se dilata formando una vesícula denticulada, de la que nacen simpoidalmente conidios hialinos de 2 - 3 mm por

3 - 6 mm que se agrupan en forma de ramillete o margarita. A medida que el cultivo envejece, la conidiación aumenta y aparecen conidios sésiles a lo largo de los conidióforos e incluso hifas no diferenciadas. Algunas cepas forman conidios de mayor tamaño, triangulares, pigmentadas y de pared gruesa, más resistentes llamados raduloconidios.²⁰

- **Fase levaduriforme:** La levadura crece a 37 °C en medios enriquecidos y en los tejidos parasitados. La colonia tiene aspecto cremoso y brillante que se torna de color gris o crema.²⁰

A nivel microscópico se observan células levaduriformes redondeadas o con forma de cigarro, con múltiples gemaciones de 3 - 5 µm de diámetro. El cuerpo asteroide es muy sugestivo de esporotricosis, pero también puede observarse en otras infecciones fúngicas. Está constituido por una célula levaduriforme redonda u oval, rodeada de un material eosinofílico radiado constituido por un complejo antígeno - anticuerpo. Estos cuerpos se observan con mayor frecuencia en las lesiones secundarias, del cerebro y del ojo.²⁰

2.2.1.4. Fuentes de infección y Mecanismo de transmisión

El *Sporothrix schenckii* se encuentra en el suelo, la madera y las plantas. Crece especialmente bien en los suelos ricos en materia orgánica, en ambientes cálidos con alto porcentaje de humedad, también puede crecer en las plantas y la corteza de los árboles. En el Perú por ejemplo, los pacientes presentan factores predisponentes comunes como la convivencia con gatos enfermos, las actividades al aire libre y el bajo nivel socio - económico.^{9, 21, 24}

La mayoría de los casos de esporotricosis son adquiridos del ambiente, como consecuencia del contacto entre la piel lesionada y las esporas fúngicas, rara vez penetra por inhalación. Se inocula en la piel cuando ésta pierde continuidad, mediante pinchazos o arañazos con objetos contaminados como: plantas espinosas, paja, astillas, herramientas o tierra abonada. También se transmite por arañazo, picadura o mordedura de animales como los gatos, perros, loros, insectos, espinas de pescado (zoonosis), así como por contaminación de heridas con el suelo o elementos contaminados, como ropa o herramientas de trabajo. La transmisión interhumana es muy rara.^{20, 16, 24}

La exposición a grandes concentraciones de conidios favorece la enfermedad mientras que el contacto con bajas

dosis confiere inmunidad (hipersensibilidad cutánea en áreas endémicas en el 85% de la población).²¹

2.2.1.5. Distribución de acuerdo a sexo y edad

La esporotricosis se presenta en ambos sexos y en todas las edades. Algunos autores indican un predominio en el sexo masculino de hasta 3:1, mientras que otros muestran una relación 1:1. Se puede presentar a cualquier edad, sin embargo se ha reportado mayor frecuencia en personas entre 15 y 35 años. La población más afectada pertenece a sectores socioeconómicos bajos, siendo la desnutrición, el alcoholismo, diabetes y SIDA los principales factores predisponentes.^{21, 14}

2.2.1.6. Cuadro clínico²¹

La esporotricosis en los humanos, el período de incubación es de 1 semana a 3 meses. La mayoría de las infecciones se manifiestan luego de aproximadamente 3 semanas. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son diversas y están relacionadas con el sitio de inoculación, la carga del inóculo, la respuesta inmunitaria del huésped, la profundidad del traumatismo y la tolerancia térmica del agente causal.^{21, 24}

- **Formas cutáneas:** La forma más frecuente de la esporotricosis es la linfocutánea. En esta forma, primero

aparecen una o más pápulas en el sitio de inoculación. Estas lesiones generalmente involucran a las extremidades, especialmente la mano o el brazo. Las pápulas se transforman en pústulas y éstas en nódulos subcutáneos que se expanden lentamente, la infección se disemina a través del sistema linfático y forma una cadena de nódulos subcutáneos. Los vasos linfáticos afectados se vuelven rígidos, gruesos y semejantes a una cuerda. A medida que la infección progresa, los nódulos se vuelven necróticos, se ulceran y pueden producir exudado pustular gris o amarillento. También se produce una forma cutánea fija/localizada de esporotricosis. En esta forma, las lesiones cutáneas permanecen localizadas en un sitio y no se diseminan a través del sistema linfático. Con más frecuencia, las lesiones de la forma cutánea se encuentran en las manos de los adultos y en el rostro de los niños. La salud general normalmente no se ve afectada en las formas linfocutánea y cutánea fija/localizada. Los nódulos que no reciben tratamiento pueden persistir por meses o años.²⁴

- **Esporotricosis diseminada y esporotricosis pulmonar:** En los humanos, se registran dos formas

raras y potencialmente mortales: la esporotricosis pulmonar y la diseminada. A pesar de que la enfermedad diseminada generalmente afecta los huesos y las articulaciones, también puede involucrar a muchos otros órganos incluida la boca, la nariz, los ojos, las meninges, los riñones, el hígado, el bazo, los intestinos, los genitales o grandes áreas de piel/tejidos subcutáneos. En algunos casos *Sporothrix schenckii* se disemina de las lesiones cutáneas; en otros, la enfermedad diseminada se produce sin signos cutáneos. La esporotricosis pulmonar es causada por la inhalación del hongo, estas puede ser aguda, pero más comúnmente es crónica y se asemeja a la tuberculosis. Los síntomas pueden incluir tos, expectoración, disnea, dolor pleurítico, hemoptisis, pérdida de peso, fatiga y la temperatura puede elevarse ligeramente.²⁴

2.2.1.7. Diagnóstico

Las esporotricosis puede confirmarse cuando se obtiene una muestra de un nódulo cutáneo recientemente abierto y se somete a un cultivo fúngico. El diagnóstico también puede comprobarse a través de una muestra de sangre o biopsia mediante la realización de estudios inmunológicos e histológicos.²⁰

2.2.1.8. Tratamiento

La esporotricosis requiere tratamiento sistémico en todas sus formas de presentación clínica, pero este varía dependiendo del compromiso. Se trata con medicamentos antifúngicos como itraconazol, ketoconazol, saperconazol, anfotericina B y flucitosina. También se usa el yoduro de sodio y potasio para las formas cutáneas y linfocutáneas. Las personas que sufren de VIH pueden necesitar terapia de por vida para prevenir la recurrencia. La forma pulmonar es difícil de tratar y, además de los medicamentos, se puede intentar realizar una resección quirúrgica.^{20, 16, 24}

2.2.2. *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo”

2.2.2.1. Descripción botánica

Planta anual suculenta, lampiña y arbustiva según la variedad, con tallos trepadores o rastreros que se expanden alrededor del centro. Posee hojas orbiculares, ligeramente lobulado o peltadas con el limbo entero, fuertemente divididas con una notable venación, tienen de 4 a 10 cm de diámetro; largos pecíolos, encogidos en espiral. Pétalos enteros, unguiculados, los tres inferiores más angosto, con las uñas laciniadas. Flores tubulares rojizas, anaranjadas o amarillas, abiertas al final en forma de trompeta, de 3 a 4 cm de diámetro; cáliz amarillento, prolongado hacia atrás

en un espolón de 2 a 3 cm de largo; fruto subcarnoso, de 1 - 1,5 cm de diámetro, depresso globoso, con tres ángulos redondeados. Florece desde la primavera hasta el otoño y se reproduce por gajos y semillas. Existen variedades enanas, dobles, etc.

2.2.2.2. Clasificación taxonómica⁷

Reino	: Plantae
Filo	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Geraniales
Familia	: Tropaeolaceae
Género	: <i>Tropaeolum</i>
Especie	: <i>Tropaeolum majus</i> L.
Nombre común	: Mastuerzo

2.2.2.3. Hábitat y distribución

Es nativa de la región Andina de Sudamérica, más precisamente de Perú. Se distribuye en Colombia, Ecuador y Perú, puede resultar invasiva, compitiendo con la flora propia del área.¹⁸

Esta planta ha sido cultivada desde épocas prehispánicas y se desarrolla de manera silvestre en las vertientes occidentales andinas, así como en jardines, campos agrícolas y matorrales en los que ha intervenido el hombre,

aunque esta planta es susceptible de invadir áreas naturales compitiendo con la flora propia del área.⁷

2.2.2.4. Propagación

El mastuerzo es una planta fácil de cultivar debido a su rusticidad. Se reproduce por medio de semillas, aunque también puede hacerlo en menor medida vegetativamente, rebrotando cada año de las raíces tuberosas. Su polinización es entomófila, es decir, por medio de mariposas.⁷

2.2.2.5. Partes utilizadas:

Se utilizan generalmente toda la planta, sus hojas, flores, frutos; excepto sus raíces.⁷

2.2.2.6. Composición química^{1, 4,7, 18}

- Flavonoides como quercetina, isoquercetina, luteína, kaempferol, zeaxantina.
- Glucotropaelósido, se trata de un heterósido sulfurado o glucosinolato. Se descompone de glucotropaeolina o isocianato de bencilo (tiocionato del aparato respiratorio).
- Ácido clorogénico, taninos, sales minerales, ácido oxálico, espilantol.
- Ácidos fenólicos como el ácido p – hidroxibenzoico, ácido p – hidroxifenilacético, ácido vanílico, ácido

gentisico, ácido cafeico, ácido protocatequico, ácido siringico, p – cumarico.

- Ácidos grasos como el ácido erúxico, ácido oleico y linoléico.
- Ácidos esenciales con heterósidos sulfurados (glucotropeolósido), que liberan isotiocianato de bencilo.
- Antocianidinas como delfinida, cianidina, pelargonidina.
- Triterpenos tetracíclicos aislados de las hojas.
- Ácido ascórbico e isoquercitrósido presente en las hojas.
- Helenina y mirosina contenidos en las flores.
- Pigmentos como la sorbusina, carotenoides, resinas y pectinas.
- Presenta un alto contenido de vitamina C.

2.2.2.7. Usos terapéuticos

El mastuerzo se ha utilizado desde la antigüedad en la medicina popular en infecciones de las vías respiratorias como en casos de faringitis, sinusitis y especialmente en bronquitis ya que fluidifica la expectoración. Es usado en infecciones de las vías urinarias como cistitis y pielonefritis. Debido a sus propiedades antibióticas, resulta un excelente desinfectante, ideal para limpiar heridas superficiales.⁷

Tienen acción antibacteriana principalmente contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Bordetella bronchiseptica*.¹⁸

2.2.2.8. Mecanismos de Acción

- **Isotiocianato de benzilo:** Su efecto antimicrobiano consiste en la disrupción de la membrana celular por inhibición de enzimas esenciales.¹⁸
- **Taninos:** Tras una hidrólisis ácida liberan una antocianidina. Químicamente se trata de polímeros de flavanoles su función antimicrobiana se debe básicamente a que se priva del medio idóneo a los microorganismos evitando así su desarrollo y multiplicación.¹⁸

2.2.2.9. Toxicidad

Las semillas son la parte más tóxica de la planta, se recomienda evitar su administración oral. El principio activo tóxico principal es un aceite esencial glucósido llamado tiocianato de bencilo o glucotropaeolina; sin embargo ingerido en dosis terapéuticas se le atribuyen propiedades bacteriostáticas, virustáticas y antimicóticos, aplicado tópicamente presenta actividad hiperémica.^{15, 18}

Estudios de extractos acuosos e hidroetanólicos de hojas y corteza de *Tropaeolum majus* en ratones, a dosis de: 625, 1250, 2500 y 5000 mg/kg, no mostraron signos de toxicidad, como muerte, depresión, excitación, convulsiones, salivación, piloerección, lacrimación, anormalidades en la defecación o efectos sobre la respiración y la locomoción.⁸

Por otro lado en un estudio sobre el efecto del extracto hidroetanólico de hojas de *Tropaeolum majus* L. en el desarrollo embrionario cuando se administra dosis de 300 mg/kg a ratas gestantes, aumentó significativamente los niveles séricos de dehidroepiandrosterona (DHEA) y de estradiol. El aumento de la concentración de esta hormona puede estar relacionada con la reducción de la implantación de embriones en las primeras etapas del embarazo y por lo tanto inhibirlo.⁸

III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Unidad de análisis, universo y muestra

3.1.1. Unidad de análisis

Extracto hidroalcohólico obtenido a partir de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo”.

3.1.2. Universo

El universo estuvo constituido por todas las flores de la especie vegetal *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo”.

3.1.3. Muestra

a) Muestra vegetal

Extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo”.

- **Criterios de inclusión y exclusión**

- ✓ **Criterios de Inclusión:**

- Flores de mastuerzo libres de microorganismos, como bacterias y hongos.
- Flores frescas de mastuerzo, que no fueron atacadas por insectos.
- Flores de mastuerzo que estuvieron en buen estado y no fueron maltratadas durante el transporte.

✓ **Criterios de Exclusión:**

- Flores de mastuerzo con indicios de contaminación por microorganismos, como bacterias y hongos.
- Flores de mastuerzo que no sean frescas y que fueron atacadas por insectos.
- Flores de mastuerzo que estuvieron en mal estado y fueron maltratadas durante el transporte.

b) Muestra bacteriana

Cepas aisladas de hongos de *Sporothrix schenckii* procedentes del Hospital Regional de Cajamarca.

• **Criterios de inclusión y exclusión**

✓ **Criterios de Inclusión:**

- Cepas en estado filamentoso que cumplieron las características morfológicas macroscópicas (colonias duras y arrugadas de color marrón o negro) y microscópicas (hifas finas, hialinas, ramificadas, septadas con conidios ovoides o piriformes agrupadas en forma de ramillete).
- Cepas en estado de levadura que cumplieron las características morfológicas macroscópicas (colonias cremosas, brillantes de color gris o crema) y microscópicas (células levaduriformes redondeadas o con forma de cigarro con múltiples gemaciones).

✓ **Criterios de Exclusión:**

- Cepas en estado filamentoso que no cumplieron con las características morfológicas macroscópicas y microscópicas
- Cepas en estado de levadura que no cumplieron con las características morfológicas macroscópicas y microscópicas.

3.2. Métodos de investigación

• **De acuerdo al fin que se persigue**

La investigación fue básica, ya que estuvo encaminada a ampliar el conocimiento científico, explorando nuevas teorías y transformar las ya existentes.

• **De acuerdo a la técnica de contrastación**

La investigación fue experimental, porque se manipularon variables con el fin de determinar la actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo”.

3.3. Técnicas de investigación

3.3.1. Recolección y selección de la muestra vegetal

- ✓ Las flores de mastuerzo, fueron recolectadas en la provincia de Cajamarca, en la carretera a baños del Inca.
- ✓ Las flores de mastuerzo se identificaron con la ayuda de un profesional botánico y luego se procedió a la recolección.

- ✓ Para la recolección se utilizó una tijera limpia y desinfectada con alcohol de 70°, la cual sirvió para cortar las flores.
- ✓ Después de la recolección y obtención de las flores, estas se empacaron en bolsas elaboradas con papel kraft para no alterar su conservación y luego se trasladaron al laboratorio de Biología de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.
- ✓ Luego las flores de *Tropaeolum majus* de L. “mastuerzo”, se seleccionaron teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

3.3.2. Preparación y obtención del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo”

- ✓ Se realizó la desinfección de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo”, utilizando una solución de hipoclorito de sodio al 10% v/v.
- ✓ Se pesó 270 g de las flores seleccionadas y se fragmentaron en partes pequeñas, después se transfirió a un balón estéril de fondo plano con tapón de jebe.
- ✓ Se agregó 1350 mL de etanol al 70% v/v, se tapó y se agitó con ayuda del agitador magnético por un tiempo de 24 horas.
- ✓ Transcurrido este tiempo se procedió a filtrar con ayuda de un papel filtro.
- ✓ Se envasó en un frasco de vidrio estéril de color ámbar con tapa rosca y se almacenó en condiciones de refrigeración.

3.3.3. Obtención de las cepas de hongos de *Sporothrix schenckii*.

Las cepas de hongos de *Sporothrix schenckii*, fueron proporcionadas por el Área de Laboratorio Clínico del Hospital Regional de Cajamarca.

3.3.4. Preparación del agar Sabouraud.

- ✓ Primero se homogenizó el polvo contenido en el frasco.
- ✓ Se pesó 32,5 g de medio de cultivo y se suspendió en medio litro de agua destilada en un balón de fondo plano, colocando en seguida un tapón de algodón en la boca del balón.
- ✓ Con la ayuda de una cocina eléctrica, se calentó agitando frecuentemente hasta su ebullición y completa disolución.
- ✓ Se llevó a esterilizar en autoclave a 121 °C (15 Lb de presión) durante 15 minutos.
- ✓ Transcurrido este tiempo se retiró del autoclave y se dejó enfriar hasta una temperatura de 45 °C aproximadamente.
- ✓ Una vez obtenida la temperatura adecuada se procedió a servir en placas Petri, un volumen de 25 mL, para que forme una capa de 4 mm de espesor (se utilizó un total de 12 placas).
- ✓ Se dejó enfriar las placas y antes que se solidifique se procedió a la determinación de la actividad antifúngica.

3.3.5. Determinación de la actividad antifúngica

✓ **Procedimiento para determinar la actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* en su forma de levadura:**

- Se emplearon 6 placas preparadas con agar Sabouraud, separándose una placa Petri, que sirvió como placa control.
- Las otras 5 placas (a las cuales se llamaron placas problemas 1, 2, 3, 4, 5), se agregó en orden consecutivo 5, 10, 20, 40 y 80 $\mu\text{L/mL}$ del extracto hidroalcohólico de las flores de mastuerzo.
- Posteriormente se homogeneizó y se dejaron solidificar, luego se procedió a la siembra del inóculo antimicótico mediante la técnica llamada piquetes.
- Se introdujo el asa de siembra previa esterilización, en el tubo de ensayo donde estaban las cepas antimicóticas de *Sporothrix schenckii* y se trató de aislar las cepas más grandes.
- Posteriormente se hizo tres piquetes en cada placa petri, incluyendo a la placa control. Terminando así la respectiva siembra del inóculo antimicótico.
- Luego se llevaron a incubar a 37 °C por 48 horas, para finalmente leer los resultados.

✓ **Procedimiento para determinar la actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* en su forma de Filamento:**

- Se emplearon las 6 placas restantes, preparadas con agar Sabouraud, separándose una placa Petri, que sirvió de control.
- Las otras 5 placas (a la cual se llamaron placas problemas 1, 2, 3, 4, 5) se agregó en orden consecutivo 5, 10, 20, 40 y 80 $\mu\text{L}/\text{mL}$ del extracto hidroalcohólico de las flores de mastuerzo.
- Posteriormente se homogeneizó y se dejaron solidificar, luego se procedió a la siembra del inóculo antimicótico mediante la técnica llamada piquetes.
- Se introdujo el asa de siembra previa esterilización, en el tubo de ensayo donde estaban las cepas antimicóticas de *Sporothrix schenckii* y se trató de aislar las cepas más grandes.
- Posteriormente se hizo tres piquetes en cada placa Petri, incluyendo a la placa control. Terminando así la respectiva siembra del inóculo antimicótico.
- Luego se llevaron a incubar a 25 °C por 15 días, para luego leer los resultados.

3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos

3.4.1. Instrumentos:

- Programa Básico Estadístico Excel 2010.
- Programa Estadístico Software I.B.M. Statistical Package for the Social Sciences (IBM - SPSS) versión 22,0.

3.4.2. Equipos

- Cocina eléctrica de una hornilla modelo HP 102- D4- 1.
- Autoclave Marca Memmert, Modelo ORL-AE/A 70 L.
- Estufa Marca: Med center, Modelo: Merck.
- Refrigeradora 4 pies color blanco Modelo: TA04Y07EXB0
Marca: General Electric.
- Balanza analítica marca: Ohaus, Modelo: Explorer.
- Incubadora marca: Memmert, Modelo: Memmert BM 400.
- Agitador magnético.

3.4.3. Materiales:

- Materiales de vidrio y otros de uso común del Laboratorio de Biología de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.

3.4.4. Reactivos:

- Agar Sabouraud del Laboratorio Merck: Proveedor Quimelab.
- Agua destilada del Laboratorio Trifarma: Proveedor Albis.
- Alcohol 70° del Laboratorio Portugal: Proveedor Portugal.

3.5. Técnicas de análisis de datos

Los datos obtenidos fueron ingresados al Programa Estadístico Software I.B.M. Statistical Package for the Social Sciences (IBM - SPSS) versión 22,0 y fueron analizados según la Prueba U de Mann - Whitney, Prueba no paramétrica para comparar los dos grupos de estudio, entre los cuales tenemos los grupos problemas Vs el grupo control; además, para los gráficos y tablas se empleó el Programa Básico Estadístico Excel 2010.

IV. RESULTADOS

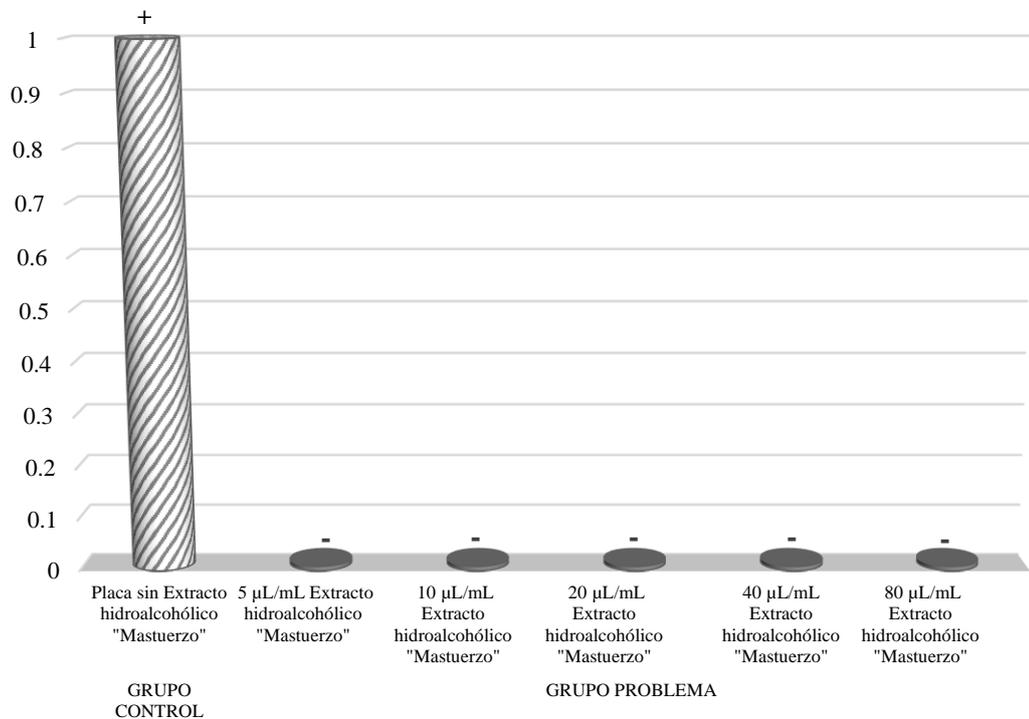
Tabla N° 1: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* en su forma de levadura

<i>Sporothrix schenckii</i>	
PLACA CONTROL	FORMA DE LEVADURA
Libre del extracto hidroalcohólico de mastuerzo	(37 °C por 48 h)
Placa control: 0 µL/mL	(+)
PLACAS PROBLEMAS	FORMA DE LEVADURA
Concentración del extracto hidroalcohólico de mastuerzo	(37 °C por 48 h)
N° 01: 5 µL/mL	(-)
N° 02: 10 µL/mL	(-)
N 03: 20 µL/mL	(-)
N° 04: 40 µL/mL	(-)
N° 05: 80 µL/mL	(-)

Fuente: Elaboración propia de las tesis.

Leyenda: (-) Inhibición. (+) No inhibición

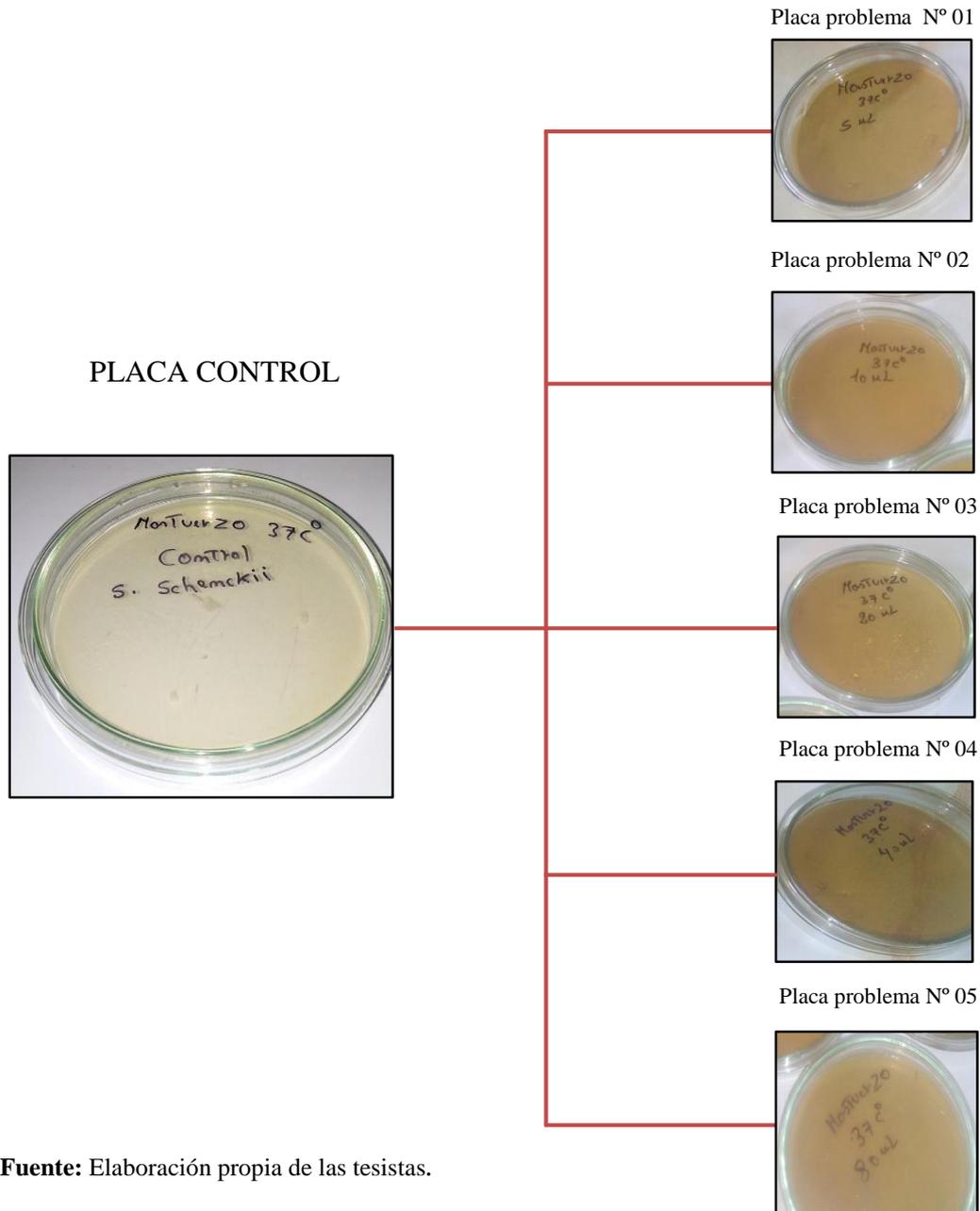
Interpretación: Se muestra la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente al hongo *Sporothrix schenckii* en su forma de levadura, se observó una inhibición (-) completa en las placas donde se agregó el extracto hidroalcohólico de mastuerzo a diferentes concentraciones, mientras que en la placa control el crecimiento del hongo fue positivo (+).



Gráfica N° 1: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* en su forma de Levadura

Interpretación: Se muestra la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente al hongo *Sporothrix schenckii* en su forma de levadura, se observó una inhibición (-) completa en las placas donde se agregó el extracto hidroalcohólico de mastuerzo a diferentes concentraciones, mientras que en la placa control el crecimiento del hongo fue positivo (+).

Figura N° 1: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* en su forma de levadura



Fuente: Elaboración propia de las tesis.

Interpretación: En el grupo control no hubo inhibición de *Sporothrix schenckii* en su forma de levadura, mientras que en los grupos problemas hubo inhibición.

Tabla N° 2: Prueba estadística U de Mann - Whitney de la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* en su forma de levadura

COMPARACIÓN DE PLACAS	RESULTADOS (p)	INTERPRETACIÓN
Control vs Problema N° 01	0,025 p < 0,05	Existe diferencia significativa.
Control vs Problema N° 02	0,025 p < 0,05	Existe diferencia significativa.
Control vs Problema N° 03	0,025 p < 0,05	Existe diferencia significativa.
Control vs Problema N° 04	0,025 p < 0,05	Existe diferencia significativa.
Control vs Problema N° 05	0,025 p < 0,05	Existe diferencia significativa.
Problema N° 01 vs Problema N° 02	1,000 p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 01 vs Problema N° 03	1,000 p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 01 vs Problema N° 04	1,000 p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 01 vs Problema N° 05	1,000 p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 02 vs Problema N° 03	1,000 p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 02 vs Problema N° 04	1,000 p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 02 vs Problema N° 05	1,000 p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 03 vs Problema N° 04	1,000 p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 03 vs Problema N° 05	1,000 p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 04 vs Problema N° 05	1,000 p > 0,05	No existe diferencia significativa.

Fuente: Análisis estadístico elaborado por las tesis según la prueba estadística U de Mann – Whitney. Valores de p < 0,05 como significativo y p > 0,05 como no significativo.

Interpretación: Comparaciones realizadas entre la placa control (*Sporothrix schenckii* en forma de levadura) versus las placas problemas, evidencian que existe diferencia significativa, mientras que las comparaciones entre las diferentes placas problemas, muestran que no existió diferencia significativa.

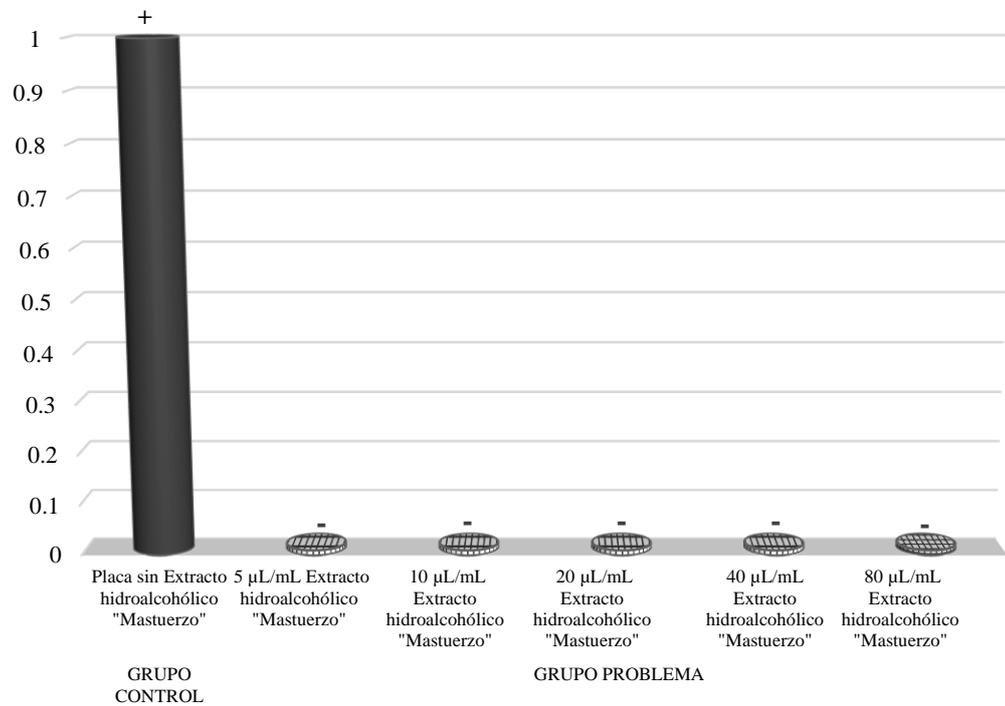
Tabla N° 3: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* en su forma de filamento

<i>Sporothrix schenckii</i>	
PLACA CONTROL	FORMA DE FILAMENTO
Libre del extracto hidroalcohólico de mastuerzo	(25 °C por 15 días)
Placa control: 0 µL/mL	(+)
PLACAS PROBLEMAS	FORMA DE FILAMENTO
Concentración del extracto hidroalcohólico de mastuerzo	(25 °C por 15 días)
N° 01: 5 µL/mL	(-)
N° 02: 10 µL/mL	(-)
N° 03: 20 µL/mL	(-)
N° 04: 40 µL/mL	(-)
N° 05: 80 µL/mL	(-)

Fuente: Elaboración propia de las tesis.

Leyenda: (-) Inhibición. (+) No inhibición.

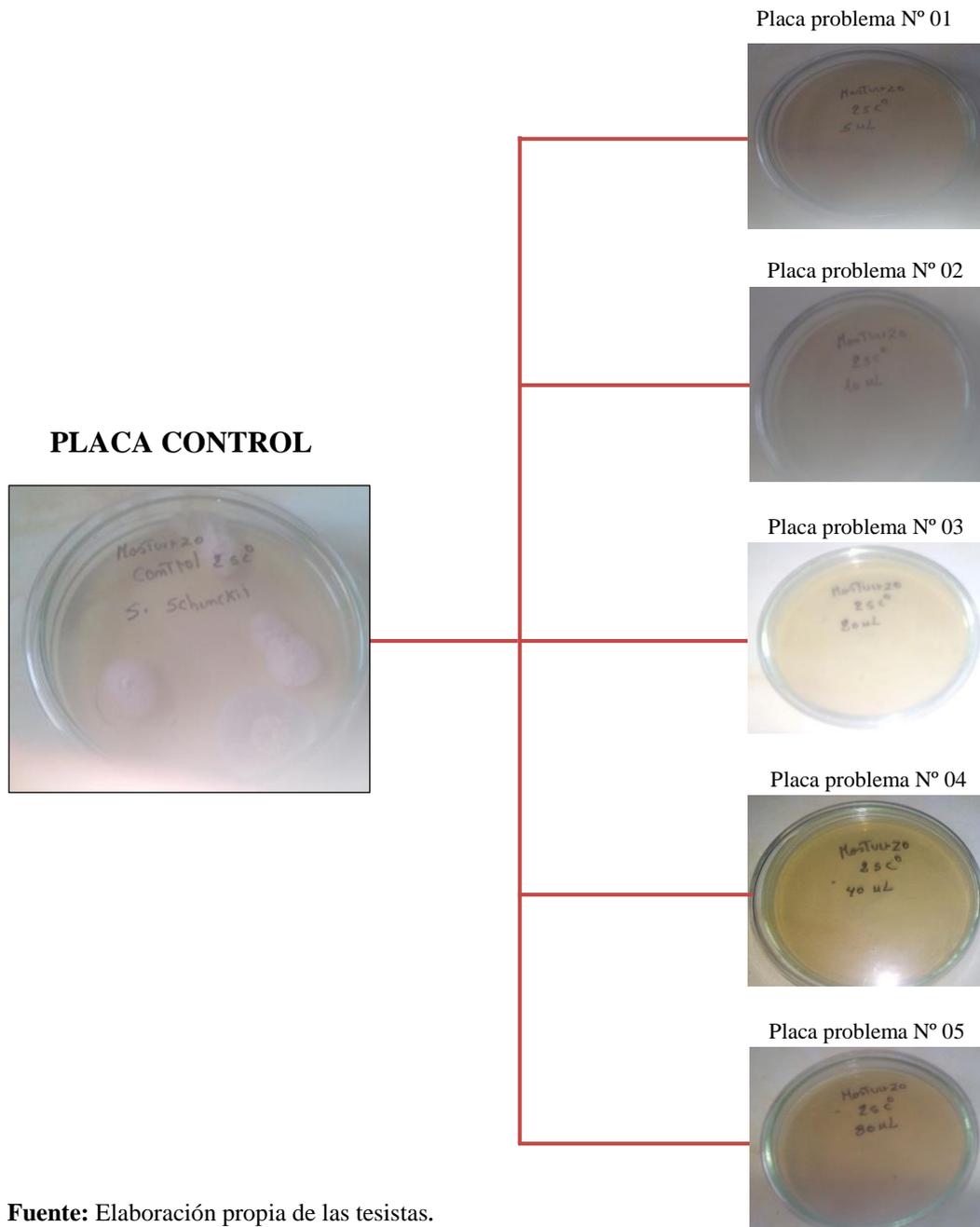
Interpretación: Se muestra la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente al hongo *Sporothrix schenckii* en su forma de filamento, se observó una inhibición (-) completa en las placas donde se agregó el extracto hidroalcohólico de mastuerzo a diferentes concentraciones, mientras que en la placa control el crecimiento del hongo fue positivo (+).



Gráfica N° 2: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* en su forma de filamento

Interpretación: Se muestra la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente al hongo *Sporothrix schenckii* en su forma de filamento, se observó una inhibición (-) completa en las placas donde se agregó el extracto hidroalcohólico de mastuerzo a diferentes concentraciones, mientras que en la placa control el crecimiento del hongo fue positivo (+).

Figura N° 2: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* en su forma de filamento



Fuente: Elaboración propia de las tesis.

Interpretación: En el grupo control no hubo inhibición de *Sporothrix schenckii* en su forma de filamento, mientras que en los grupos problemas hubo inhibición.

Tabla N° 4: Prueba estadística U de Mann - Whitney de la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* en su forma de filamento

COMPARACIÓN DE PLACAS	RESULTADOS (p)		INTERPRETACIÓN
Control vs Problema N° 01	0,025	p < 0,05	Existe diferencia significativa.
Control vs Problema N° 02	0,025	p < 0,05	Existe diferencia significativa.
Control vs Problema N° 03	0,025	p < 0,05	Existe diferencia significativa.
Control vs Problema N° 04	0,025	p < 0,05	Existe diferencia significativa.
Control vs Problema N° 05	0,025	p < 0,05	Existe diferencia significativa.
Problema N° 01 vs Problema N° 02	1,000	p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 01 vs Problema N° 03	1,000	p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 01 vs Problema N° 04	1,000	p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 01 vs Problema N° 05	1,000	p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 02 vs Problema N° 03	1,000	p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 02 vs Problema N° 04	1,000	p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 02 vs Problema N° 05	1,000	p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 03 vs Problema N° 04	1,000	p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 03 vs Problema N° 05	1,000	p > 0,05	No existe diferencia significativa.
Problema N° 04 vs Problema N° 05	1,000	p > 0,05	No existe diferencia significativa.

Fuente: Análisis estadístico elaborado por las tesisistas según la prueba estadística U de Mann – Whitney. Valores de p < 0,05 como significativo y p > 0,05 como no significativo.

Interpretación: Comparaciones realizadas entre la placa control (*Sporothrix schenckii* en forma de filamento) versus las placas problemas, evidencian que existe diferencia significativa, mientras que las comparaciones entre las diferentes placas problemas, muestran que no existe diferencia significativa.

V. DISCUSIÓN

Las infecciones fúngicas, se han incrementado paralelamente al desarrollo de la medicina moderna, frente a esta problemática, se atribuye nuevas estrategias terapéuticas que se aplican a diferentes situaciones clínicas. Los actuales medicamentos antifúngicos aunque efectivos, presentan problemas o desventajas tales como el que algunos son muy tóxicos, otros producen alergias y algunos han provocado resistencia a los microorganismos blanco. Esto conlleva a la reducción del número de alternativas terapéuticas existentes, lo cual impulsa a la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas en el campo micológico.²⁶

Al notar la importancia clínica del hongo *Sporothrix schenckii* y ante la demanda del uso de plantas medicinales por la población Cajamarquina, en la presente investigación el objetivo general fue la determinación de la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente al hongo *Sporothrix schenckii* en sus dos fases de crecimiento. Para lo cual se recolectó flores de mastuerzo del distrito de Cajamarca, las que a su vez fueron trasladadas al Laboratorio de Biología de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, las flores se seleccionaron de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión, posteriormente se siguió la metodología descrita, para finalmente obtener el extracto hidroalcohólico de mastuerzo. El efecto antifúngico de mastuerzo se determinó mediante el método de dilución en agar, método referido del estudio titulado “Evaluación de parámetros para pruebas de

susceptibilidad antifúngica en hongos filamentosos mediante la técnica de difusión en agar” realizado por Trejos E (2009)²⁵, quien indica que se trata de un método en el cual se puede determinar el efecto antifúngico in vitro de una sustancia o fármaco a diferentes concentraciones. Las diferentes concentraciones con las que se trabajó en esta investigación fueron referidas del estudio titulado “Efecto inhibitorio de los aceites esenciales de las hojas de *Origanum vulgare* L. (orégano) en *Sporothrix schenckii* in vitro” realizado por Carrera M y Miranda R (2011),¹¹ donde emplearon el aceite esencial del orégano a concentraciones de 1, 2, 3, 4 y 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de agar Sabouraud.

Las cepas de *Sporothrix schenckii* fueron proporcionadas por el área de Laboratorio Clínico del Hospital Regional de Cajamarca y se determinó el efecto tanto en su forma de levadura como filamentosos. Analizando los resultados obtenidos en tabla N° 1, gráfica N° 1 y figura N° 1, se evidenció el crecimiento del hongo *Sporothrix schenckii* en forma de levadura en la placa control, mientras que en las placas problemas (extracto a concentraciones de 5, 10, 20, 40 y 80 $\mu\text{L}/\text{mL}$), se observó que el extracto hidroalcohólico de las flores de mastuerzo inhiben el crecimiento de *Sporothrix schenckii* en su forma de levadura. Al analizar los datos obtenidos en la tabla N° 3, gráfica N° 2 y figura N° 2, se observaron resultados similares mostrándose que el extracto hidroalcohólico de las flores de mastuerzo presentan efecto antifúngico frente el hongo *Sporothrix schenckii* en forma de filamento. Estos resultados se analizaron con la Prueba

Estadística U de Mann - Whitney, en la cual se obtuvo un valor de $p < 0,05$, indicando la existencia de diferencia significativa (tabla N° 2 y tabla N° 4).

Estos resultados coinciden con el estudio de Rivera M (2007)²⁰, “Actividad de seis extractos de hierbas usadas medicinalmente contra *Fonsecaea padrosoi* y *Sporothrix schenckii*”, quien demostró que el extracto de mastuerzo tiene actividad antifúngica in vitro sobre el hongo *Sporothrix schenckii* en su forma de levadura. Así mismo Cumpa N, et al. (1991),¹² en su investigación “Avances en la investigación de tioglicósidos en plantas del género *Tropaeolum*, actividad antibacteriana y antifúngica”, refieren que el extracto etanólico puro obtenido de hojas, flores y frutos de *Tropaeolum majus* L. contienen el tioglicósido, el cual tiene actividad antibacteriana y actividad antimicótica (contra las cepas de hongos dermatofitos y *Candida albicans*).

En la investigación realizada por Bezada, et al. (2016)⁵, se hace referencia que el extracto etanólico de las hojas, flores y frutos del mastuerzo, tiene propiedades fungicidas y de rápida regeneración de las lesiones en la piel, actividad que está asociada a la presencia del flavonoide de quercetina, además del bencilisotiocianato. Por su parte Aguilar D, et al. (2017),¹ refieren que el *Tropaeolum majus* L. en sus flores y hojas, contiene principios activos como la glucotropaeolina, que contiene el isotiocianato de benzilo, un compuesto lipofílico, que posee actividad antimicótica contra algunos géneros de hongos, debido a que inhibe e inactiva las proteínas necesarias para su supervivencia; es

decir, reaccionarían inespecíficamente con alguna proteína del hongo mediante modificaciones directas e indirectas. La directa ocurriría por la reacción entre el grupo isotiocianato, con el grupo amino terminal de la lisina o sulfidrilo de la cisteína, afectando la estructura terciaria de la proteína del hongo, ocasionando la pérdida parcial o total de su actividad; mientras que, en la indirecta se daría por la alteración de la homeostasis redox en las proteínas del hongo, debido a que el isotiocianato interrumpe los mecanismos antioxidantes y aumenta la oxidación, ocasionando la apoptosis.

De esto se puede inferir que el efecto antifúngico frente al crecimiento de *Sporothrix schenckii* en forma de filamento y levadura, obtenido con el extracto hidroalcohólico de las flores de mastuerzo, se debería principalmente a la acción de la glucotropaeolina, la cual contiene isotiocianato de benzilo y otorga dicha actividad.

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó que el extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” tiene actividad antifúngica in vitro frente al hongo *Sporothrix schenckii*.
- El extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” tuvo inhibición antifúngica in vitro en todas sus concentraciones (5, 10, 20, 40 y 80 $\mu\text{L/mL}$), frente al hongo *Sporothrix schenckii* en su forma de crecimiento de levadura.
- El extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” tuvo inhibición antifúngica in vitro en todas sus concentraciones (5, 10, 20, 40 y 80 $\mu\text{L/mL}$), frente al hongo *Sporothrix schenckii* en su forma de crecimiento de filamento.
- Comparando el efecto antifúngico in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” se pudo visualizar que la mayor inhibición sobre el hongo *Sporothrix schenckii*, se dio en su forma de crecimiento de filamento, que de levadura.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilar D, Avalos S, Plasencia P, Marquillo I, Ayala M. Efecto del extracto etanólico de *tropaeolum majus* “mastuerzo” sobre micosis inducida por *trichophyton mentagrophytes* en *Rattus norvegicus*. Rev. Acta Med Perú. [Internet]. 2017; 34 (3): 196 – 202. [Citado 03 de Diciembre del 2017].
Disponible en:
<http://www.fondoeditorial.cmp.org.pe/revistas/index.php/AMP/article/view/403/224>
2. Arellana K, Herrera J, Quispe M, Espinoza C, Veliz N, Orihuela W. Evaluación de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de tres colores de pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.). Rev. Soc. Quím. Perú. [Internet]. 2015 Nov; 81(4): 319 – 327. [Citado 04 de agosto del 2017].
Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v81n4/a04v81n4.pdf>
3. Ayats J. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Sporothrix schenckii*. [Internet]. Barcelona: SEIMC. [Citado 10 de setiembre del 2016]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/espordf>
4. Bastidas Y, Llacua L. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de las flores de la especie vegetal mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) frente al crecimiento del microorganismo *Penicillium sp.* [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero en Industrias

- Alimentarias]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro del Perú; [Tesis en Internet]; 2016. [Citado 07 de diciembre del 2017]. Disponible en: http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/619/TIA_04.pdf?sequence=1&isAllowed=y
5. Bezada S, Ramirez F, Ruíz J, Guevara J, Carcelén F. Evaluación del extracto hidroalcohólico de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) en formulación crema para el tratamiento de la dermatomicosis causada por *Trichophyton mentagrophytes* en el cuy (*Cavia porcellus*). Rev. Per. Quím. Ing. Quím. [Internet]. 2016 May; 19 (1): 55 – 61. [Citado 06 de Diciembre del 2016]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/12584/11272>
 6. Blanco M. Rendimiento de biomasa y aceite esencial de quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown en respuesta a las prácticas agronómicas, y sus propiedades farmacológicas. [Tesis para optar el Grado de Magíster]. Argentina: Facultad de ciencias exactas, Universidad Nacional de la Plata; [Tesis en Internet]; 2014. [Citado 18 de julio del 2016]. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/43581/Documento_completo.pdf?sequence=1
 7. Cabezas G. Evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) en ratones (*Mus musculus*). [Tesis para optar el Título Profesional de Bioquímico Farmacéutico]. Ecuador: Escuela Superior politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias; [Tesis en Internet]; 2014. [Citado 17 de setiembre del 2016]. Disponible en:

[http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3737/1/56T00480%20UDC
TFC.pdf](http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3737/1/56T00480%20UDC%20TFC.pdf)

8. Calil J, Ferreira C, Damo L, Lima R, Gaube C, Franca I, et al. Traditional usages, botany, phytochemistry, biological activity and toxicology of *Tropaeolum majus* L. - A review. Rev. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. [Internet]. 2016 Feb; 15 (4): 264 – 273. [Citado 12 de abril del 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/856/85646544007.pdf>
9. Camargo L, Jaramillo V, Morantes L, Serna E, Vásquez E. Esporotricosis: una enfermedad ocupacional poco conocida. Rev. CES Salud Pública. [Internet]. 2012 Jun; 3(2): 273 – 270. [Citado 09 de Julio del 2016]. Disponible en: http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces_salud_publica/article/view/2125/1531
10. Carrada T. Esporotricosis, Avances recientes en el diagnóstico de Laboratorio, histopatología y la epidemiología en México. Rev Latinoamer Patol Clin. [Internet]. 2012 Jul - Set; 59 (3): 147 - 171. [Citado 06 de Julio del 2016]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2012/pt123d.pdf>
11. Carrera M, Miranda R. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. “orégano” en *Sporothrix schenckii*. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Perú: Universidad privada Antonio Guillermo Urrelo, Facultad de Ciencias de la Salud; 2011. [Citado 09 de Diciembre del 2016].
12. Cumpa N, Guerra M, Vejar V, Fuentes C. Avances en la investigación de tioglicósidos en plantas del género *Tropaeolum*, actividad antibacteriana y antifúngica. Rev. Soc. Quím. Perú. [Internet]. 1991; 6 (10): 26 – 37.

- [Citado 03 de abril del 2017]. Disponible en: <https://issuu.com/bibliotecacientifica/docs/cientifica-v6/10>
13. Gaitán I. Actividad de doce plantas nativas Guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii*. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Biólogo]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias químicas y Farmacia; [Tesis en Internet]; 2015. [Citado 22 de diciembre del 2016]. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2289.pdf
14. Hernández F. Esporotricosis. [Internet]. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2011. [Actualizado el 23 de enero del 2017, citado 01 de febrero de 2017]. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/ esporotricosis.html>
15. Huanquis L, León M. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de las hojas y flores de la especie vegetal mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) frente al crecimiento de microorganismos (*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*). [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro del Perú; [Tesis en Internet]; 2015. [Citado 07 de diciembre del 2017]. Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1259/HUANQUIS%20ALBINACORTA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Sporothrix schenckii*. [Internet]. [s.l]: DATABIO. [Actualizado el 02 de febrero del 2013,

- citado el 09 de Diciembre de 2016]. Disponible en:
<http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Hongos/Sporothrix%20schenckii.pdf>
17. Lagos E. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial *Thymus vulgaris* L. “tomillo” frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 causante de gingivitis. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Perú: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; [Tesis en Internet]; 2012. [Citado 07 de julio del 2016]. Disponible en:
http://200.37.105.196:8080/bitstream/handle/unjbg/151/38_2013_Lagos_La_Rosa_ER_FACS_Farmacia_y_Bioquimica_2012.pdf?sequence=1
18. Mira J. “Eficacia antimicrobiana in vitro del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre cepa certificada de *Staphylococcus aureus*”. [Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario Zootecnista]. Ecuador: Universidad técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias; [Tesis en Internet]; 2017. [Citado 01 de Diciembre del 2017]. Disponible en:
<http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26210/1/Tesis%2091%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20501.pdf>
19. Nanzi A. Capuchina *Tropaeolum majus* L. [Internet]. [s.l]: Nanzi A; 1999. [Citado 12 de enero del 2017]. Disponible en:
<http://www.youblisher.com/p/61602-Capuchina-Tropaeolum-majus-L/>

20. Rivera M. Actividad de seis extractos de hierbas usadas medicinalmente contra *Fonsecaea padrosoi* y *Sporothrix schenckii*. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Biólogo]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias químicas; [Tesis en Internet]; 2007. [Citado 03 de Diciembre del 2016]. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2489.pdf
21. Sánchez C, Bustamante R. Determinación de la actividad antifúngica in vitro del aceite esencial de *Satureja nubigena* “Pachachamcua” frente a *Sporothrix schenckii*. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Perú: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Antonio Guillermo Urrello; [Tesis en Internet]; 2015. [Citado 18 de setiembre del 2016]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/340490967/Determinacion-de-La-Actividad-Antifungica-in-Vitro-Del-Aceite-Esencial-de-Satureja-Nubigena-Pachachamcua-Frente-a-Sporothrix-Schenckii>
22. Sánchez L, Galarza M, Matos R. Infecciones micóticas subcutáneas. Rev. Dermatol Peruana. [Internet]. 2009 Nov; 19(4): 362 – 386. [Citado 07 de diciembre del 2016]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v19_n4/pdf/a11v19n4.pdf
23. Tenorio A, Estrada J. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* “mastuerzo” sobre *Escherichia coli* aislada de pacientes con Infecciones del Tracto Urinario. [Tesis para optar el

- Título Profesional de Licenciado en Biología, Microbiología - Parasitología]. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo; [Tesis en Internet]; 2016. [Citado 12 de abril del 2017]. Disponible en: <http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/1026/BC-TES-5826.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
24. The Center for Food Security & Public Health. Esporotricosis: Enfermedad de los cultivadores de rosas. [Internet]. [s.l.]; 2006. [Actualizado el 30 de marzo del 2006, citado 03 de Diciembre del 2016]. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/ esporotricosis.pdf>
25. Trejos E. Evaluación de parámetros para pruebas de susceptibilidad antifúngica en hongos filamentosos mediante la técnica de difusión en agar. [Tesis para optar el Título Profesional de Bacteriólogo]. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias; [Tesis en Internet]; 2009. [Citado 23 de Junio del 2016]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8403/tesis368.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
26. Verastegui M. Análisis del efecto antifúngico de 20 extractos de plantas. [Tesis para optar el Grado de Maestro en ciencias]. México: Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas; [Tesis en Internet]; 1995. [Citado 12 de Diciembre del 2016]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/386/1/1020091523.PDF>
27. Zurita S. Esporotricosis y Paracoccidioidomicosis en Perú: experiencias en prevención y control. Rev Perú Med Exp Salud Pública. [Internet]. 2014 Abr;

31 (2): 104 – 109. [Citado 03 de enero del 2017]. Disponible en:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-

[46342014000200025](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000200025)

ANEXOS



FOTOGRAFÍA N° 01: Zona del departamento de Cajamarca donde hay flores de mastuerzo.



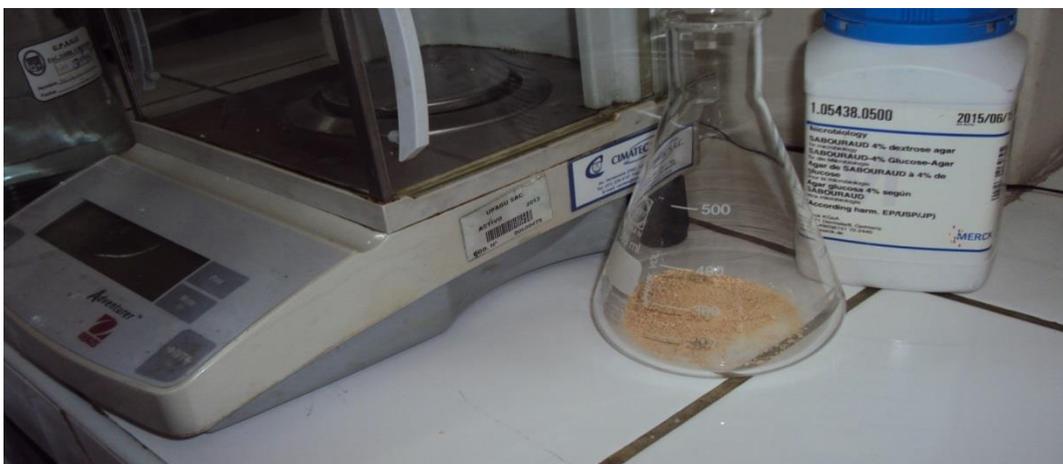
FOTOGRAFÍA N° 02: Flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo”.



FOTOGRAFÍA N° 03: Elaboración del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo”.



FOTOGRAFÍA N° 04: Obtención del extracto hidroalcohólico de las flores de mastuerzo.



FOTOGRAFÍA N° 05: Materiales para la preparación del Agar Sabouraud.



FOTOGRAFÍA N° 06: Preparación del Agar Sabouraud.



FOTOGRAFÍA N° 07: Placas y otros materiales para la cultivo.



FOTOGRAFÍA N° 8: Placas con medios de cultivo.



FOTOGRAFÍA N° 09: Esterilización del asa de siembra.



FOTOGRAFÍA N° 10: Siembra del hongo en el medio de cultivo.



FOTOGRAFÍA N° 11: Incubación de las placas para la forma de levadura.



FOTOGRAFÍA N° 12: Incubación de las placas para la forma de filamento.



FOTOGRAFÍA N° 13: Resultado del grupo control para la forma de levadura.



FOTOGRAFÍA N° 14: Resultado del grupo control para la forma de filamento.