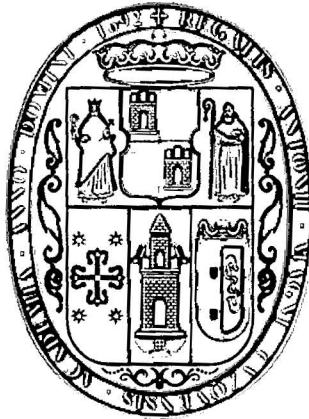


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO
ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**“ACTIVIDAD ANTIMICOTICA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL
DE LA MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. (LAMIACEAE)
SOBRE *Sporothrix schenckii*”.**

**TESIS PRESENTADA POR LA BACHILLER:
MARÍA MILAGROS DUEÑAS MENDOZA**

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:
BIÓLOGO**

**ASESORA:
M.Sc. HELDY YIYI ESPINOZA CARRASCO**

**CO- ASESOR:
Blgo. MAX CARLOS RAMIREZ SOTO**

TESIS AUSPICIADA POR LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABADE DEL CUSCO

**Cusco - Perú
2013**

DEDICATORIA

*En memoria de mi pequeño
hermanito Yogui Rachi Q.E.P.D.
con mucho cariño, por las
alegrías vertidas y por el
inmenso amor que me brindó.
Siempre te llevo presente.*

*Con profundo amor a mis
padres Edwin y María, por todo
su apoyo y abnegación,
sacrificio, paciencia y constante
lucha por brindar a sus hijos
siempre lo mejor. Y por darme
siempre todo su amor.*

*Con mucho amor a mis
hermanos Raphael y Carlos, por
su comprensión, paciencia y
entrega y por tenerlos siempre a
lado mío brindándome todo su
apoyo.*

*Con especial cariño a mis
abuelos Juan y Luisa, por
brindar todo el amor
incondicional a sus nietos. A
mis tíos (as), primos (as) por ser
parte de mi vida.*

María Milagros

AGRADECIMIENTOS

La finalización de esta tesis no hubiese sido posible sin la cooperación desinteresada de todas y cada una de las personas que a continuación citaré, siendo muchas el apoyo y soporte en momentos difíciles durante el desarrollo de la tesis.

- *Antes que nada agradecer hoy y siempre a mi familia por brindarme todo el apoyo incondicional, por estar siempre presente en los momentos más importantes de mi vida y ser parte en el inicio de mi vida profesional*
- *A mis dos asesoras: Dra Dariela Flores Calderón por su paciencia, cariño y sacrificio por brindarme todos sus conocimientos, por su amistad y ánimos para la culminación de la tesis. A la M.Sc. Hedy Espinoza Carrasco por ayudarme en momentos difíciles en el desarrollo de la tesis, por su paciencia y enseñanza.*
- *A mi amigo y Co-Asesor Blgo. Max Carlos Ramírez Soto por su amistad, por sus llamadas de atención, por su paciencia y sugerencias y apoyo incondicional durante el desarrollo de la tesis.*
- *Al Sr. Decano M.Sc. Luciano Cruz Miranda que junto con el personal administrativo me brindó todo el apoyo para alcanzar el objetivo.*
- *A los profesores M.Sc. Washington Galiano y Qco. Carlos Serrano, por brindarme su ayuda en el desarrollo de la tesis.*
- *A mis docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas, por todas las enseñanzas vertidas a lo largo de toda mi formación profesional.*
- *Agradecer al Instituto de Investigación de la UNSAAC, por el apoyo en la realización de la tesis.*
- *A mis amigas Maira, Verónica, Flor, Marite, Gissella, Ines, Viviana, Paola, Rocío; por su valiosa amistad.*
- *A mis compañeros de la universidad por brindarme su cariño y amistad.*
- *Gracias a todos y cada una de las personas que participó directa o indirectamente en el desarrollo de la tesis, por su colaboración desinteresada, cariño y amistad.*

CONTENIDO

RESUMEN.....	i
INTRODUCCIÓN.....	ii
JUSTIFICACIÓN.....	iii
HIPÓTESIS.....	iv
OBJETIVOS.....	v

CAPITULO I

MARCO CONCEPTUAL

1.1 ANTECEDENTES	1
1.2 ESPOROTRICOSIS	5
1.2.1 AGENTE ETIOLOGICO	5
1.2.2 POSICIÓN SISTEMÁTICA DE <i>Sporothrix schenckii</i> :	6
1.2.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLOGICAS	6
1.2.4 EPIDEMIOLOGIA.....	8
1.2.5 CUADRO CLÍNICO	9
1.2.6 DIAGNOSTICO	11
1.2.7 TRATAMIENTO.....	12
1.3 <i>Minthostachys acris</i> Schmidt-Leb - MUÑA	16
1.3.1 DESCRIPCIÓN.....	16
1.3.2 UBICACIÓN SISTEMÁTICA	17
1.3.3 SINONIMIA POPULAR	17
1.3.4 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	17
1.3.5 ANTECEDENTES DE USO	18
1.4 ACEITES ESENCIALES	18
1.4.1 DEFINICIÓN.....	18
1.4.2 PROPIEDADES FÍSICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES.....	21
1.4.3 MECANISMO DE ACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL SOBRE LOS MICROORGANISMOS	21
1.4.4 APLICACIONES DE ACEITES ESENCIALES.....	22
1.4.5 FUENTES DE MOLÉCULAS CON ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA.....	22

CAPITULO II
MATERIALES Y METODOS

2.1	ÁREA DE ESTUDIO	25
2.2	MATERIALES	28
2.3	DISEÑO METODOLOGICO	30
2.3.1	TIPO DE ESTUDIO	30
2.3.2	TIPO DE DISEÑO DE INVESTIGACION	30
2.3.3	VARIABLES DE ESTUDIO	30
2.3.4	OBTENCION DE LAS MUESTRAS DE <i>Sporothrix schenckii</i>.....	32
2.3.5	EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL POR ARRASTRE EN VAPOR DE AGUA.....	36
2.3.6	ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL.....	37
2.3.7	ANÁLISIS DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES.....	38
2.3.8	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA <i>IN VITRO</i> DEL ACEITE ESENCIAL DE LA Muña <i>Minthostachys acris</i> Schmidt-Leb. SOBRE <i>Sporothrix schenckii</i> POR DIFUSION EN AGAR Y DILUCIÓN EN TUBO.	39

CAPITULO III
RESULTADOS Y DISCUSION

3.1	RESULTADOS	44
3.2	DISCUSIÓN.....	57

CONCLUSIONES
SUGERENCIAS
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
ANEXOS

RESUMEN

Se realizó un estudio de corte experimental con el objetivo de demostrar la actividad antimicótica in vitro del aceite esencial de la muña *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. proveniente del distrito de Lamay provincia de Cusco sobre cepas de *Sporothrix schenckii* aisladas de pacientes clínicamente diagnosticados con esporotricosis de la Clínica Santa Teresa de Abancay. Para la toma de muestra e identificación de la especie se siguió la técnica recomendada por el Instituto Nacional de Salud (INS, 1996.). Las cepas aisladas fueron remitidas al INS para la confirmación de la especie *Sporothrix schenckii*.

El aceite esencial se obtuvo de las hojas de *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. por el método de destilación por arrastre de vapor de agua el cual fue sometido a análisis fisicoquímico y determinación de la composición química mediante cromatografía de gases (CG), obteniéndose los siguientes monoterpenos: Pulegona en mayor porcentaje, mentona y limoneno; como posibles responsables de la actividad fungicida-fungistática.

Para determinar la actividad antimicótica in vitro del aceite esencial de la muña sobre cepas aisladas de *Sporothrix schenckii* se siguió dos metodologías: Difusión en agar para ambas fases del hongo: levaduriforme y micelial y dilución en tubo para la fase micelial. Mediante el método difusión en agar, se determinó la actividad antimicótica de acuerdo al diámetro del halo de inhibición, mostrando el inicio de la actividad antimicótica a partir del 1% de concentración de aceite para la fase levaduriforme y para la fase micelial el inicio de la actividad antimicótica a partir del 10% de concentración de aceite. Para ambas fases el diámetro medio del halo de inhibición de la anfotericina B fue menor al diámetro medio del halo de inhibición del aceite al 10%. Mediante el método de dilución en tubo para la fase micelial del hongo no hubo crecimiento a los volúmenes de 50ul, 25ul, 10ul, 5ul, 4ul, 3ul y 2ul, obteniéndose un ligero crecimiento al volumen de 1ul. Concluyendo que el aceite esencial de la muña *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. tiene efecto antimicótico sobre *Sporothrix schenckii* en sus dos fases, siendo la fase más susceptible la levaduriforme.

INTRODUCCION

La naturaleza es una fuente amplia de variedad de moléculas bioactivas que podrían ser utilizadas como base para el diseño y la formulación de nuevas generaciones de medicamentos con el fin de solucionar ciertos problemas de salud. El objetivo de esta búsqueda debe ser el descubrimiento de fármacos con mayor espectro, menos efectos adversos y menor costo que los existentes.

Los aceites esenciales son productos naturales de gran valor e importancia económica. La bioactividad de los aceites esenciales (AE) se investiga a partir de los efectos farmacológicos que son producidos por sus metabolitos, los cuales son obtenidos por diferentes técnicas fisicoquímicas a partir de las hojas. Son pocas las plantas peruanas y regionales que han validado su uso tradicional, una de estas es la MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb, la cual es usada para el tratamiento de dolencias de vías respiratorias y digestivas. La muña es una planta hemocriptófila que habita en los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía, crece entre los 2500 a 3500 metros de altitud. Donde existe en abundancia.

Se han reportado que algunos aceites esenciales pueden ser más efectivos que los agentes sintéticos (antimicóticos). Ya que han demostrado su efecto antibacteriano e insecticida, se ha explorado los metabolitos presentes en el aceite esencial como: *Pulegona, Mentona, Limoneno, Mentol*, etc. Sin embargo, poco se ha explorado sobre su efecto antimicótico.

La esporotricosis es una micosis subcutánea que tiene como agente etiopatogénico al *Sporothrix schenckii* y es un problema frecuente en la región Apurímac endémica de la infección, que posiblemente se debe a las condiciones climáticas favorables para el desarrollo del hongo.

El objetivo de este estudio fue la determinación de la actividad antimicótica del aceite esencial de la MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. sobre cepas de *Sporothrix schenckii* aislados de pacientes con esporotricosis. La evaluación se realizó enfrentando al hongo con el aceite esencial de la muña, donde se

determinó su eficacia para inhibir el crecimiento del hongo, tanto en su fase levaduriforme como micelial.

El área de estudio elegida para el presente trabajo de investigación fue Abancay – Apurímac, considerada como la zona más endémica del territorio nacional. (Holgado W. 1991).

El trabajo de investigación se inició en la Clínica Santa Teresa de Abancay, en el Laboratorio Referencial de Diagnóstico para Esporotricosis, donde se realizó el aislamiento del hongo *Sporothrix schenckii* de pacientes clínicamente diagnosticados con esporotricosis. Posteriormente las cepas aisladas fueron trasladadas al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco para realizar las pruebas “in vitro” de la actividad antimicótica del aceite esencial de *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. sobre dichas cepas.

JUSTIFICACION DEL ESTUDIO

La esporotricosis es una enfermedad subcutánea causada por el hongo *Sporothrix schenckii*; se encuentra ampliamente distribuida alrededor del mundo con focos endémico en distintos países; en Latinoamérica la encontramos en Brasil, Colombia, México, Centroamérica, Perú, Venezuela y Uruguay. Los casos notificados en el ámbito nacional provienen de los departamentos de La Libertad, Ayacucho, Apurímac y Cusco (García R, 1998).

La provincia de Abancay, capital de Apurímac, es una zona endémica de esporotricosis debido a la alta incidencia anual que presenta (98 casos por cada 100 000 habitantes) y donde la infección se asocia con las precarias condiciones de las viviendas y, sobre todo, al factor socioeconómico (Lyon G, et al. 2003); afecta más a los niños y es considerada una micosis significativa en las áreas rurales del Perú. (Pappas P. et al. 2000). La enfermedad puede desarrollarse desde una forma aguda hasta llegar a una fase crónica.

En Apurímac se reportaron entre los años 2004-2011 un registro de 485 casos de esporotricosis, donde la ciudad de Abancay presenta 402 de los casos. (Ramírez M. et. al (2012).

Todos los casos registrados reciben tratamiento. Los medicamentos de elección utilizados en el tratamiento de la esporotricosis como primera opción es el itraconazol y la segunda es yoduro de potasio (SSKI) en la esporotricosis cutánea y la anfotericina B en los casos de esporotricosis pulmonar y diseminada. Aunque estos tratamientos son muy efectivos, tienen el inconveniente que producen efectos secundarios muy agresivos como vómitos náusea y fiebre entre otros; así como pueden llegar a dañar otros órganos, principalmente riñones y médula ósea, por su prolongado tiempo de administración al paciente lo que conlleva a que muchos pacientes dejen el tratamiento por las reacciones adversas que estos generan, y hace que se complique la situación del paciente, por tal motivo la utilización de aceites esenciales sería una buena alternativa terapéutica para reemplazar estos tratamientos sintéticos, y que mejor utilizar plantas nativas del Perú como alternativa como es la Muña *Minthostachys acris* Schmidt-Leb, que crece en la serranía peruana en gran cantidad sobre todo en épocas de lluvia.

HIPOTESIS

El aceite esencial de la Muña *Minthostachys acris* Schmidt-Leb., posee actividad antimicótica sobre *Sporothrix schenckii*

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la actividad antimicótica in vitro del aceite esencial de la muña *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. sobre *Sporothrix schenckii*

Objetivos Específicos:

1. Aislar e identificar *Sporothrix schenckii* en pacientes con diagnóstico clínico de esporotricosis
2. Extraer el aceite esencial de la MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb.
3. Realizar el análisis fisicoquímico del aceite esencial de la MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb.
4. Determinar la composición de metabolitos secundarios del AE (aceite esencial) de la MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb.
5. Determinar la actividad antimicótica *IN VITRO* de metabolitos del AE de *Minthostachys acris* Schmidt-Leb frente a las cepas aisladas de *Sporothrix schenckii* en su fase levaduriforme y micelial.

LIMITACIONES DE LA INVESTIGACION

No se cuenta con antecedentes de AE (aceites esenciales) sobre hongos patógenos dimórficos ni metodologías estandarizadas para realizar este tipo de estudios con hongos causantes de micosis subcutáneas

CAPITULO I

MARCO CONCEPTUAL

1.1 ANTECEDENTES

- **Ramírez M. et al. Perú. 2011.** Se realizó un estudio descriptivo entre mayo y agosto de 2008 en el Centro Médico Santa Teresa de la ciudad de Abancay, departamento de Apurímac, Perú. Se incluyó a 33 pacientes con sospecha clínica de esporotricosis; se identificó por cultivo la presencia del *Sporothrix schenckii* en 20 pacientes. Once casos (55 %) fueron de sexo masculino, mientras que el grupo más afectado fue el de niños de 0 a 14 años. El 60 % de las lesiones fueron cutánea fijas ubicadas con mayor frecuencia en la cabeza y cuello (40 %). El 55 % tuvo un tiempo de evolución menor o igual a un mes. La presentación de esporotricosis en población pediátrica, con compromiso de cabeza y cuello, debe considerarse en el diagnóstico diferencial de lesiones cutáneas de pacientes provenientes de zonas endémicas.

- **Cano C. Perú. 2007.** Tesis. La muestra botánica de *Minthostachys mollis* (muña), recolectada en la Provincia de Tarma, Junín tuvo un rendimiento de 0,19% de aceite esencial, el cual contiene: Pulegona, Mentona y Limoneno identificados por CG (cromatografía de gases). Demostró que el Aceite esencial de muña presenta y muestra efectos antimicóticos frente a cepas de *Candida albicans* a las concentraciones de 50% y 100%, y frente a los dermatofitos: *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, y *Trichophyton tonsurans*) son sensibles en los volúmenes ensayados de: 5 y 50 ul.

- **Rivera M. Guatemala. 2007.** Tesis. En el tamizaje realizado a seis extractos de hierba contra *Sporothrix schenckii*, *Dorstenia contrajerva* (raíz) y *Hedyosmum mexicanum* (hoja) fueron los únicos que presentaron actividad antifúngica positiva contra la fase micelial y levaduriforme de

Sporothrix schenckii. El extracto etanólico de hoja de *Hedyosmum mexicanum* presentó la mejor actividad antifúngica contra la fase micelial de *S. schenckii* (0.05 mg/ml). El extracto etanólico de *Dorstenia contrajerva* (raíz) presentó la mejor actividad antifúngica contra la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii* (0.1 mg/ml). El extracto etanólico de *Baccharis trinervis* (hoja) fue el único que presentó actividad antifúngica positiva contra *Fonsecaea pedrosoi* a una concentración de 0. Basándose en los resultados obtenidos en la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) la fase micelial de *S. schenckii*, es más susceptible a los componentes químicos activos, presentes en los extractos con actividad positiva para este hongo. Los extractos de *Lippia chiapasensis*, *Petiveria alliacea* y *Ocimum micranthum*, los cuales no demostraron tener actividad positiva en el tamizaje realizado contra *F. pedrosoi* y *S. schenckii*, y que muestran actividad etnomedicinal en el tratamientos de afecciones de la piel puede deberse a que los compuestos químicos activos se encuentren en otros segmentos de la planta y no en la parte específica utilizada en este ensayo.

- **Munguía R. et al. México. 2007.** Realizaron un estudio con 10 pacientes en los que se obtuvieron los siguientes resultados: 3 de tipo cutáneo fijo y 7 de tipo linfático, siendo campesinos y estudiantes las actividades más frecuentes. El tiempo de evolución fue de 1 a 13 años. La edad de los pacientes osciló de los 19 a los 78 años. La esporotricosis se presentó en 3 hombres y 7 mujeres. De las muestras de suelo procesadas se obtuvieron 3 aislamientos de *Sporothrix schenckii*: 1 de suelo asociado a pino, 1 de suelo asociado a rosal y 1 de suelo asociado a una planta silvestre. De las muestras de plantas sólo se obtuvo un aislamiento de gladiola.
- **Souza G. et al. Brasil. 2007.** Reportaron un paciente con VIH e historia de tuberculosis con sospecha de una neurotoxoplasmosis. Muestras colectadas de las lesiones ulceradas y nodulares, fueron positivas en cultivo para *Sporothrix schenckii*. El paciente respondió al tratamiento con

anfotericina B. Sin embargo, murió más tarde por complicaciones no relacionadas con la infección. Este caso de esporotricosis diseminada es un llamada de atención para recordar que en pacientes con desordenes inmunológicos pueden producirse formas exóticas de la enfermedad.

- **Gaitán I. Guatemala. 2005.** Tesis. Utilizaron doce extractos de plantas donde tres extractos del estudio con reporte de actividad antifúngica presentaron actividad contra alguna de las fases de *Sporothrix schenckii*. *Lippia graveolens* y *Valeriana prionophylla* presentan actividad antifúngica contra la fase micelial; *Lippia graveolens* (hoja), *Senna alata* (hoja), *Valeriana prionophylla* (raíz), *Salvia lavanduloides* (hoja-flor), *Hypericum uliginosum* (hierba) y *Smilax domingensis* (tallo) fueron los extractos con actividad antilevadura para *Sporothrix schenckii*. El extracto de hoja de *Valeriana prionophylla* presentó la mejor actividad antifúngica contra *Sporothrix schenckii* en su fase micelial (0.025 mg/ml). En el ensayo de la actividad antilevadura, *Hypericum uliginosum* (hierba) y *Smilax domingensis* (tallo) son los extractos que presentan mejores resultados (0.25 mg/ml). Basándose en la cantidad de extractos positivos para cada una de las fases del hongo, la fase levaduriforme es más susceptible a los compuestos presentes en las plantas responsables de la actividad antifúngica.
- **Castro E. et al. Perú. 2004.** Reportaron en Lima (Callao), el caso de un paciente de 16 años que consulta por presentar una lesión ulcerativa en antebrazo izquierdo, sin síntomas sistémicos. El examen directo fue negativo y en el cultivo se aisló *Sporothrix schenckii*. La biopsia mostró dermatitis granulomatosa supurativa con neutrófilos y áreas de necrosis. Se indicó solución saturada de yoduro de potasio con resolución de las lesiones a las cuatro semanas de tratamiento.
- **García R. et al. Perú. 2004.** Reportaron en Cusco el caso más temprano en la literatura médica peruana, iniciado en la etapa neonatal, bajo la forma de

esporotricosis fija y presentación úlcero-costrosa, que afecta la cara. El tratamiento con yoduro de potasio oral fue exitoso y bien tolerado.

- **Costa H. et al. Perú. 2001.** Informaron en Lima el caso de un paciente de 75 años de edad, con dos lesiones nodulares ulceronecroticas, cercanas al codo derecho, cuya histopatología presentó un cuadro de proceso granulomatoso supurativo. El cultivo para hongos fue positivo a *Sporothrix schenckii*. Se le administró itraconazol 20 mg diarios, durante dos meses, sin respuesta favorable. Al cambiarse la terapia a yoduro de potasio, el cuadro remitió completamente.
- **Quiñones A. et al. Venezuela. 1998.** Describieron el caso de una paciente femenina de 78 años de edad, quien fue hospitalizada por presentar úlcera localizada en antebrazo y brazo derecho de 2 1/2 años de evolución. Los estudios inmunológicos y micológicos fueron compatibles para *Sporothrix schenckii*. Recibió tratamiento oral con yoduros, calor local y fisioterapia.
- **Torres B. et al. México. 1997.** Se estudió el efecto del yoduro de potasio (KI) sobre la respuesta inmune de la esporotricosis, aparentemente no tiene una acción directa sobre el *Sporothrix schenckii*. Existen evidencias de que el bloqueo de los radicales libres disminuye con la participación del KI. Se desconoce cómo actúan en la esporotricosis la inmunidad humoral y celular, por lo que queda por determinar si en esta micosis existe una influencia del KI a través de otros procesos o factores de la respuesta inmune.
- **Cabezas C. et al. Perú. 1996.** Informaron que una dosis full diaria de SSKI era apropiado como terapia para esporotricosis cutánea. Este trabajo se realizó en la ciudad de Abancay.

- **Holgado W. Perú. 1991.** Reportó que la provincia de Abancay (Apurímac) constituye una nueva zona endémica para esporotricosis.

1.2 ESPOROTRICOSIS

Micosis de curso subagudo o crónico caracterizada por lesiones nodulares en el tejido cutáneo o subcutáneo y nódulos linfáticos adyacentes que generalmente son ulcerosos y supurativos. Se puede diseminar en raras ocasiones a articulaciones, huesos, músculos, y órganos internos (pulmones, sistema genitourinario y sistema nervioso central) (www.seime.org/control/revi-Micol/esporo.htm)

1.2.1 AGENTE ETIOLOGICO

La esporotricosis es una infección micótica subaguda o crónica, causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii* presente en los suelos. (Bonifaz A., 2010). Clásicamente, se había identificado una sola especie, pero con la revolución molecular filogenética se ha podido reconocer cuando menos cinco clases diferentes, distribuidas por regiones geográficas diversas, tales son: *S. schenckii sensu strictu*, *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. (Marimon R. et al. 2007).

Los casos clínicos son causados por la inoculación traumática de los hongos existentes en la materia orgánica y los suelos ricos en humus vegetales, o por astillas de madera de la corteza de los eucaliptus y pinos que penetran la piel; a veces las lesiones se propagan por los vasos linfáticos regionales, aunque la diseminación hematogena ha sido infrecuente. (Lavallo P. 2000). Ocasionalmente, el agente es inhalado o llega a la conjuntiva, generando neumonías o blefaroconjuntivitis. Las personas inmunodeprimidas suelen sufrir lesiones extensas y múltiples; el alcoholismo crónico y la diabetes mellitus descontrolada

parecerían ser los factores de riesgo en la forma osteoarticular. (Kauffman C. 2007)

1.2.2 POSICIÓN SISTEMÁTICA DE *Sporothrix schenckii*:

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Subdivisión: Ascomycotina

Clase: Pyrenomycetes

Orden: Ophistomatales

Familia: Ophistomataceae

Género: *Sporothrix*

Especie: *Sporothrix schenckii*

Fuente: Guarro J. et al. 1999

1.2.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

El primer informe acerca de la infección por *Sporothrix schenckii* puso de relieve que el microorganismo era dimórfico. Si bien no se había visto en el material de la lesión, en cultivo el microorganismo desarrolló como hongo micélico, pero cuando fue inyectado en animales formó levaduras en forma de cigarro. *Sporothrix schenckii* crece como microorganismo levaduriforme en gemación a 37°C y como un hongo hifal que produce conidios a 25° C, las cepas aisladas de la naturaleza varían de manera considerable en su capacidad para crecer a 37° C. La infección puede ser un proceso selectivo para aquellas cepas capaces de adaptarse a temperatura más elevada y a crecer dentro de tejido animales. (Rippon J. 1990)

Los primeros investigadores llegan a la conclusión de que la forma de crecimiento observada in vitro y en tejido a 37° C fue una extensión del proceso de conidiación. La gemación acropétala de los conidios nacidos del micelio ha sido observada in vitro, y se consideró que los conidios en el tejido formaron yemas y

así se convirtieron en blastoconidios. Sin embargo, una investigación detallada del proceso demostró que la transformación micelio a levadura en cultivo de tejido, implica la producción de células de levadura directamente a partir del micelio mismo. Se vio que los conidios germinan en unidades miceliales cortas, las cuales, a su vez, dan origen a las células de levadura. La transformación de levadura en micelio se efectúa por alargamiento de la célula madre, una nueva acomodación o disposición del sistema de membrana citoplasmática, seguida de formación de tabiques. Alargamiento continúa y se produce la ramificación. (Rippon J., 1990).

El hongo posee dos fases: una fase micelial o saprofítica es la que se encuentra en la naturaleza, presenta micelio septado, hialino, fino; conidias de dos tipos; una globosa formando rosetas (conidióforos), el otro tipo son conidias solitarias que terminan al final de la hifa. La fase parasítica son levaduras encontrada en las lesiones. (Rippon J., 1990).

1.2.3.1 Morfología de las colonias:

A temperatura ambiente en Agar Sabouraud las colonias se pueden observar a partir de 3 a 5 días, sin embargo se espera 4 semanas antes de descartarlo. Las colonias jóvenes de la fase micelial son de color blanco crema y glabras, a medida que crecen, adquieren unas coloraciones marrones o negras debido a la formación de conidias pigmentadas, con un relieve radiado y superficie cerebriforme. Es posible que algunas colonias blancas no se vuelvan oscuras durante muchos meses o nunca. Algunas colonias pueden presentar escaso micelio aéreo. (Rippon J., 1990), (Zurita S., 1996), (Gaitán I., 2005).

A 37°C en Agar BHI + 5% de sangre, *Sporothrix schenckii* crece en fase de levadura. De 3 a 5 días, las colonias se observan de colores blancos a crema, pastosos, levaduriforme y pequeñas parecidas a colonias bacterianas. (Rippon J., 1990) (Zurita, 1996).

1.2.3.2 Morfología microscópica:

A temperatura ambiente en Agar Sabouraud se desarrollan hifas delgadas, ramificadas, tabicadas, hialinas, con un diámetro de 1 a 2 μm , con conidióforos perpendiculares cuyo extremo distal se dilata formando una vesícula denticulada, de la que nacerán simpodialmente conidias hialinas de 2-3 μm x 3-6 μm que se agrupan en forma de ramillete o margarita. A medida que el cultivo envejece, la conidiación aumenta y aparecen conidias sésiles a lo largo de los conidióforos e incluso hifas no diferenciadas. A 37°C en Agar BHI + 5% de sangre se observan levaduras ovaladas o en forma de cigarros con varias gemaciones, con un tamaño promedio de 1 a 3 x 3 a 10 μm . (Rippon J., 1990) (Zurita, 1996).

1.2.4 EPIDEMIOLOGIA

Sporothrix schenckii se encuentra ampliamente distribuido alrededor del mundo, con focos endémicos en distintos países, con mayor prevalencia en países tropicales y subtropicales como México, Guatemala y Colombia. En México es la causa más frecuente de micosis subcutáneas, observándose principalmente en manipuladores de hierbas. En Uruguay, la mayoría de los casos está relacionada con la casa del armadillo, en cuyas madrigueras se ha aislado el hongo. En Brasil es una enfermedad frecuente en manipuladores de paja. En Guatemala la predisposición para adquirir la enfermedad se asocia a la agricultura. En el resto de lugares se debe a exposición ocupacional por jardinería y agricultura (Mesa A. et al. 2004).

La esporotricosis puede presentarse en todas las edades y afecta principalmente a los hombres en una proporción de 3:1 por el riesgo de exposición, pero puede variar dependiendo del país (www.seime.org/control/revi-Micol/esporo.htm).

Se han realizado varios estudios epidemiológicos donde se ha determinado que la esporotricosis es la micosis subcutánea más frecuente en la región de Apurímac-

Abancay, con un predominio del sexo masculino; la agricultura constituye el principal riesgo de exposición. (Pappas P. 2000)

1.2.5 CUADRO CLÍNICO

Clínicamente la esporotricosis es una enfermedad polimórfica: la mayor parte de las clasificaciones incluye las formas cutáneas linfática, cutánea diseminada y cutánea superficial, y las formas extracutáneas: pulmonar, visceral y osteoarticular, entre otros. (Saúl A. 2010; Bonifaz A. et al. 2010; Kauffman C. 2007).

La forma cutánea linfagítica es la más frecuente y clásica, se observa en 70% de los casos, aproximadamente, y se localiza sobre todo en los miembros superiores, inferiores y la cara. Después de una o dos semanas de la inoculación del hongo se forma el chancro esporotricósico, constituido por leve aumento del volumen, eritema, lesiones nodo-gomosas y úlceras; es asintomático y rara vez produce prurito. Cuando se establece bien el padecimiento, aparecen lesiones gomosas en forma lineal y escalonada, que siguen el trayecto de los vasos linfáticos hacia el ganglio regional principal. Las gomosas pueden ulcerarse o, bien, confluir hasta formar grandes placas de aspecto verrugoso con costras sanguíneas y melicéricas, rodeado de un halo eritemato - violáceo. Es raro que la enfermedad involucre espontáneamente. En la infancia, es frecuente que la esporotricosis cutáneo-linfática afecte la cara (hasta 40% de los casos), ya sea unilateral o bilateralmente; esta última ocurre cuando la inoculación se hace en la línea media, por ejemplo en la nariz. (Saúl A. 2010; Bonifaz A. et al. 2010)

La forma cutánea fija es crónica y localizada; se observa aproximadamente en 25% de los casos, sin embargo en algunos países (Japón, Costa Rica) puede representar incluso 60%. En general no tiende a la diseminación, surge a partir del chancro esporotricósico, se forma una lesión única, vegetante o verrugosa, de bordes bien limitados, con un halo eritemato-violáceo, cubierto con escamas y costras melicérico-sanguíneas, generalmente asintomáticas. (Takenaka M. et al. 2009)

La forma cutánea diseminada, llamada también hematológica es poco frecuente (1 a 2% de los casos) y está vinculada con importantes estados de inmunosupresión. En este caso el agente causal actúa como oportunista, y el huésped presenta una respuesta inmunitaria prácticamente anérgica. Las causas de inmunosupresión asociadas con más frecuencia son las que afectan la inmunidad celular, como la diabetes, la infección por VIH/SIDA, neoplasias hematológicas y algunos otros estados de inmunosupresión parcial, como el embarazo, tratamientos con corticoesteroides sistémicos, desnutrición y alcoholismo crónico. (Saúl A. 2010; Bonifaz A. et al. 2010; Arenas R. 2005).

Las lesiones cutáneas son nódulos, gomas, úlceras y placas verrugosas que se diseminan en la superficie de la piel, afectan también las mucosas (boca, faringe, y glándula). Esta forma tiende a la diseminación hacia los huesos y las articulaciones, sobre todo en los codos, las rodillas y otros órganos, e incluso hacia el sistema nervioso central. (Werner A. et al. 1994; Aronson E. 1992)

La forma cutánea superficial es excepcional, para algunos autores es una variante de la cutánea-fija, y la denominan superficial dermoepidérmica o escrofulosa. Está constituida por placas eritemato-escamosas, violáceas y pruriginosas; se manifiesta generalmente en la cara. (Bonifaz A. et al. 2010)

Las formas extracutáneas son poco frecuentes; entre estas los casos pulmonares son los más reportados. Se pueden dividir en dos tipos: el más común es el crónico y la mayoría de los afectados son asintomáticos (98%); es de alivio espontáneo con zonas cavitarias muy similares a la tuberculosis, mientras que los casos sintomáticos se distinguen por neumonía con tos leve y escasa expectoración; a los rayos X se demuestran áreas de condensación o, bien, infiltrados de tipo miliar. El segundo tipo es agudo y progresivo, afecta los ganglios linfáticos hiliares, y en especial los traqueo-bronquiales; pueden parecer adenopatías masivas que llegan a causar obstrucción de los bronquios; los síntomas son variados y generalmente están acompañados de gran pérdida de peso, tos con abundante expectoración, disnea y fatiga. A los rayos X se observan

adenopatías hiliares y en raras ocasiones ensanchamiento mediastinal. (Bonifaz A, 2010; Arenas R. 2005; Sassá M. et al. 2009)

1.2.6 DIAGNOSTICO

En el diagnóstico de la esporotricosis una buena toma de muestra es importante para obtener por aspiración el material de las lesiones purulentas (nódulos, úlceras o pústulas) y en los casos que fuese necesario, tejido por medio de una biopsia. (Anaissi E. 2003)

Se hace una evaluación del material obtenido con un examen en fresco y una coloración de Giemsa. El diagnóstico se confirma por medio del cultivo. También se pueden realizar estudios histológicos e inmunológicos. (Anaissi E. 2003)

a. Examen en fresco del material

Observación microscópica de los cuerpos asteroides, que son estructuras formadas por levaduras que presentan una especie de rayos, dando un aspecto de estrella (Logemann H. 1995).

b. Coloración de Giemsa

Levaduras de *Sporothrix schenckii*, de forma alargada intra y extracelulares, de 2-10 um. de diámetro. Debe confirmarse con el cultivo, ya que la observación de las levaduras es difícil debido a la cantidad tan escasa que se encuentra en la muestra. (Logemann H. 1995; Anaissi E. 2003).

c. Cultivo

El cultivo micológico es el Gold standard para establecer el diagnóstico de la esporotricosis. El material para el cultivo debe obtenerse por aspiración de las lesiones cutáneas, líquido sinovial y LCR; el *Sporothrix schenckii* es un hongo dimórfico, en medio de cultivo agar Sabouraud dextrosa con cloranfenicol a 25 y 28°C da colonias filamentosas en las que microscópicamente se observan micelios delgados de 1 a 2 micras, tabicadas y ramificadas con microconidios

hialinos o subhialinos sésiles y simpudólicos que crecen entre 3 a 5 días; a la transformación en medio de cultivo agar BHI sangre (Infusión cerebro y corazón) a 37°C dan colonias levaduriformes, con 5-8 días de incubación, compuestas por blastoconidios delgados. (Mendoza M. et al. 2012).

d. Estudios histopatológicos

Presencia de cuerpos asteroides, granulomas con infiltración de linfocitos, células gigantes, fibrosis y otros cambios celulares (Rippon J. 1990).

e. Inmunología

Aglutininas, fijación del complemento, precipitinas, se pueden demostrar, pero no son pruebas de rutina en los laboratorios. La técnica serológica para el diagnóstico más rápido de esporotricosis son los anticuerpos fluorescentes (Stites D. et al. 1998).

1.2.7 TRATAMIENTO

Todas las formas de esporotricosis requieren de tratamiento. El tratamiento clásico para la esporotricosis cutánea sigue siendo la solución saturada de yoduro de potasio. El uso de imidazoles es recomendado como tratamiento antimicótico alternativo para la mayoría de casos. En la esporotricosis pulmonar y diseminada se utiliza la anfotericina B como tratamiento de elección, ya que es un antimicótico más agresivo que produce una mejor respuesta, este medicamento se puede combinar con otros antimicóticos y antibacterianos, estos últimos utilizados como profilácticos para evitar posibles infecciones bacterianas (Anaissi E. 2003).

- **YODURO DE POTASIO (KI)**

Es el tratamiento de elección específico de la esporotricosis cutánea y linfocutánea. Su acción contra la esporotricosis linfocutánea fue reportado por primera vez en 1903 por Beurmann y Raymond. (Smith C. et al. 1995).

i. Mecanismo de acción

Su mecanismo de acción es desconocido, no tiene acción directa contra *Sporothrix schenckii*, ya que se ha demostrado que el hongo puede crecer en medios de cultivo con altas concentraciones de yoduro de potasio. Se asume que más bien que su acción es indirecta, facilitando los procesos de inmunidad celular o general (Smith C. et al. 1995; Torres B. et al. 1997).

ii. Dosis

Según la guía de Infectious Diseases Society of America se inicia con una dosis de 5 gotas (utilizando un cuenta gotas) 3 veces al día y en aumento, según la tolerancia hasta llegar a 40-50 gotas 3 veces al día en adultos y para niños se inicia con 1 gota al día hasta llegar a un máximo de 1 gota por kg. de peso corporal o 40-50 gotas 3 veces al día. (Kauffman C. et al. 2007),

iii. Efectos secundarios

Exantema, salivación, lagrimeo, náusea, vómitos, gastritis, rinitis, faringolaringitis, bronquitis (Zamarripa A. 2007; Smith C. et al. 1995).

• ANFOTERICINA B

Antimicótico de amplio espectro aislado del hongo *Streptomyces nodosus*. Se utiliza como el tratamiento inicial para micosis diseminadas y extracutáneas, siendo posteriormente reemplazado por imidazoles. (Teixidor J. et al. 1998)

Administrado en casos de esporotricosis pulmonar o diseminada, o en aquellos en los cuales hay resistencia a otros tratamientos (Teixidor J. et al. 1998, Ayats J. 2011).

i. Mecanismo de acción

El fármaco se une firmemente al ergosterol en la membrana celular del hongo. La membrana de las células fúngicas se alteran y se pierden las macromoléculas

celulares y los iones, lo que origina un daño irreversible. La resistencia a la anfotericina B se puede deber a una disminución en la cantidad de ergosterol de la membrana o a una modificación en su estructura (Datzung B.G. 2002).

ii. Dosis

Vía de administración intravenosa. Se debe de administrar con suero con dextrosa al 5% durante 4 a 6 horas, iniciando con una dosis de 0.5 mg/kg de peso hasta alcanzar 1mg/kg, durante 2 a 3 días por un periodo de hasta 4 meses (Ayats J., 2011).

iii. Efectos secundarios

Fiebre, calofríos, anorexia, cefalea, náusea, vómitos, insuficiencia renal; su administración intertecal causa aracnoiditis, parestias, pérdida de la visión y alteraciones de los esfínteres. A menudo se presenta disminución de la presión arterial (Zamarripa A. 2007; Ayats J. 2011; Datzung B. 2002).

• 5-FLUOROCISTOCININA

Sintetizado por primera vez en 1957 por Duschinsky y colaboradores, como un agente citostático, pero en 1958 se descubrió su actividad citotóxica contra las células fúngicas por el equipo de investigación de Heidelberger. Es un antimicótico oral de amplio espectro, también se puede encontrar disponible en presentación para su administración intravenosa y tópica (Smith C. et al. 1995).

i. Mecanismo de acción

La 5-fluorocitostocinina es un análogo de la pirimidina hidrosoluble. Penetra a la célula fúngica por medio de la permeasa de citosina e inhibe la síntesis del ácido ribonucleico (ARN) por acción de una desaminasa de citosina. Intracelularmente es convertida en 5-fluorouracilo y en trifosfato de fluororidina. La sustitución del uracilo por 5-fluorouracilo y el fosfato de fluororidina, inhiben la síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN) y del ácido ribonucleico (ARN) respectivamente, lo que

altera la síntesis proteica, llevando a la célula fúngica a la muerte (Datzung B. 2002).

ii. Dosis

Se puede administrar en forma oral, intravenosa o tópica. Por vía intravenosa se recomienda una dosis de 100 a 150 mg / kg de peso. Tiene actividad anti fúngica en una dosis de 100 mg / L (Smith C. et al. 1995).

iii. Efectos secundarios

Nauseas, vómitos, enterocolitis y depresión de la medula ósea (Smith C. et al 1995).

• OTROS ANTIMICÓTICOS

Otros antimicóticos de utilidad en el tratamiento de la esporotricosis son los triazoles, principalmente el itraconazol, activo en todas las formas de esporotricosis pero por su alto costo solo se emplea en las formas diseminadas. La dosis promedio empleada es de 200 mg diarios que pueden administrarse por varios meses y puede asociarse al yoduro de potasio con buenos resultados. No se recomienda el uso del ketoconazol por su pobre respuesta y su potencial hepatotoxicidad. El fluconazol es también efectivo en las formas graves de esporotricosis, utilizándose dosis de 200 a 400 mg diarios, hasta por seis meses (www.galderma.com.mx).

En los enfermos con SIDA es recomendable la combinación de por lo menos dos antimicóticos; se ha considerado la terbinafina más fluconazol como una buena alternativa (Teixidor J. et al. 1998).

Se han comunicado algunos buenos resultados con griseofulvina; sin embargo son más las publicaciones que refieren fracasos, por lo que en la actualidad no se considera su uso (Teixidor J. et al. 1998).

La combinación de trimetoprim-sulfametoxazol ha sido recomendada para contrarrestar cualquier tipo de infección bacteriana secundaria (Teixidor J. et al. 1998).

1.3 *Minthostachys acris* Schmidt-Leb - MUÑA

1.3.1 DESCRIPCIÓN

Especie dominante en las tierras altas del sur del Perú, más específicamente en el Cusco. (Schmidt-Lebhun, 2008).

En la monografía de Schmidt-Lebuhn, lo ha nombrado como *M. acris* Schmidt-Leb;. El epíteto específico significa "fuerte" y se refiere al aroma de menta fuerte. (www.minthostachys.com)

Es una planta de 0.9 a 1.5 m de altura, frondosa en la parte superior, de aspecto bien tupido en hojas, las mismas que son opuestas y aserradas presentando pelos en los peciolos y en la cara inferior de las hojas, en las cuales se deposita la mayor cantidad de (AE). El tallo es ramificado desde la base, que también presenta pelos, tiene forma prismático cuadrilátero y propenso a la lignificación. Las flores se encuentran en la parte superior de las ramas reunidas en verticilos. (Inga B. et al. 2000)

Las flores son pequeñas y blancas; irregulares o zigomorfas. Se encuentran reunidas en seudo verticilos axilares, formados por cuatro pequeñas cimas, brevemente pedunculadas, dos en cada axila y situadas en la parte superior de las ramas. (Inga B. et al. 2000).

1.3.2 UBICACIÓN SISTEMÁTICA

CLASE: Equisetopsida C. Agardh

SUB CLASE: Magnoliidae Novák ex Takht

SUPERORDEN: Asteranae Takht

ORDEN: Lamiales Bromhead

FAMILIA: Lamiaceae Martinov

TRIBU: Mentheae

SUB TRIBU: Menthinae

GENERO: *Minthostachys*

ESPECIE: *Minthostachys acris* schmidt-Leb

NOMBRE COMUN: "MUÑA"

Fuente: Herbario Vargas Cuz (ANEXO N° 02)

1.3.3 SINONIMIA POPULAR

Se denomina en lengua quechua Muña y en aymará tiene dos nombres Coa y Huaycha, debido a sus características semejantes al poleo y al orégano, los españoles lo llamaban poleo silvestre siendo este de diferente especie. (Palacios V. 1997)

1.3.4 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La muña es un recurso natural que tiene un plano altitudinal de crecimiento entre 2.500 y 3.500 metros. Habita en los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía. El clima más apropiado es aquel con abundante lluvias y elevada luminosidad. Los fertilizantes más recomendados son los ricos en contenido de potasio y fosfato, siendo fundamental el abono orgánico ya que influyen favorablemente en la síntesis de la esencia. (Palacios V. 1997)

1.3.5 ANTECEDENTES DE USO

Se le conoce de tiempos preincaico por sus propiedades medicinales, comestibles y para preservar los tubérculos de plagas durante su almacenamiento. (Palacios V. 1997)

Se señala que sus hojas actúan como resolutivas de tumores y en mezcla con clara de huevo la emplearon en fracturas de huesos. Su cocimiento se aplicaba como antiinflamatorio y antirreumático. Su cocimiento con miel limpia la flema en el pecho y llagas del pulmón, riñones, vejiga. Lastres la definía como febrífugo. Valdizán y Maldonado la definen como carminativa. (Palacios V. 1997)

La muña se emplea en infusión para curar cólicos de gases, diarreas, tiene acción carminativa, para curar heridas y tumores, úlceras, sarna y rasca - rasca, el pie de atleta y además por limpiar la flema del pecho (expectorante). Además, por sus propiedades aromáticas se emplea como un condimento en muchos platos típicos de la sierra central en especial la llamada sopa verde en Junín. El género *Minthostachys* es utilizado por el campesino de los Andes Peruanos para preservar la papa y otros tubérculos menores contra el ataque de insectos en condiciones de almacenamiento, esto deja entrever que se trata de una planta con singulares propiedades, se considera que esta planta permitió en épocas prehispánicas; conservar en perfectas condiciones los alimentos de origen vegetal. (Inga B. 2000; Palacios V. 1997).

1.4 ACEITES ESENCIALES

1.4.1 DEFINICIÓN

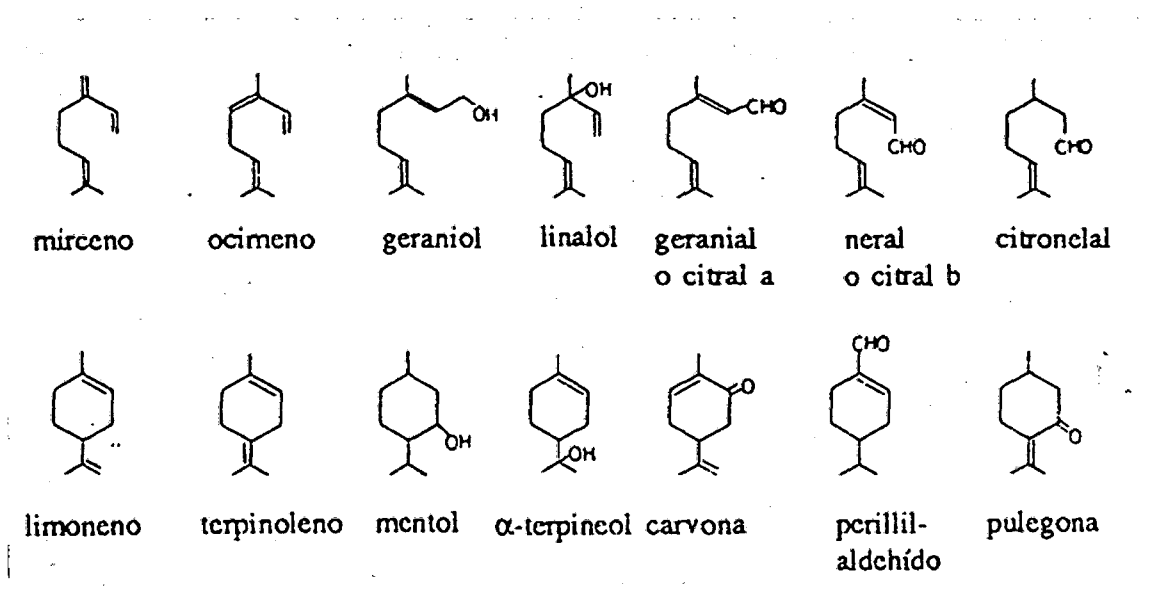
Son llamados así los constituyentes odoríferos o “esencias” de una planta. El término aceite, probablemente, se origina del hecho que el aroma de una planta existe en las glándulas o entre las células en forma líquida, el cual al igual que los aceites grasos son inmiscibles con el agua. La palabra esencial fue derivada del latín “quinta essentia” que significaba el quinto elemento, asignado a estos aceites,

ya que la tierra, el fuego, el viento y el agua, fueron considerados los cuatro primeros elementos. Químicamente están formados por monoterpenos, algunos sesquiterpenos y compuestos aromáticos. (Domínguez X. 1985)

Son biosintetizados a partir de los pirofosfatos de geraniol y de farnesilo respectivamente. (Lock O. 1994).

Los aceites esenciales son obtenidos del material fresco que los contiene utilizando principalmente el clásico procedimiento de destilación por arrastre de vapor; obtenido el aceite esencial éste es secado con sulfato de sodio anhidro. Otros métodos usuales son de: expresión, extracción con solventes lipofílicos y el enflorado; este último bastante usado en perfumería, consiste en que los pétalos de una flor, por ejemplo, se colocan y presionan entre dos láminas impregnadas de grasa en las cuales se absorbe el aceite, el que luego es extraído con alcohol. (Lock O., 1994).

FIG. N° 01: MONOTERPENOS



Fuente: Lock O. 1994

CUADRO N° 01: Actividades Farmacológicas de algunos Monoterpenos

Actividades Farmacológicas de la Pulegona	Actividades Farmacológicas del Limoneno	Actividades Farmacológicas de la Mentona
Inhibidor de la acetil colinesterasa	Inhibidor de la Acetilcolinesterasa	Acaricida
Antialzheimer	Acaricida	Analgésico
Antibacteriano	Alergénico	Antiagregante
Antihistamínico	Antialzheimer	Antialérgico
Antipirético	Antiasmático	Antibacilar
Preventivo del Cáncer	Antibacteriano	Antibacteriano
Candidiasis	Anticancerígeno	Antihistamínico
Cerebrotóxico	Antigripal	Antisalmonellosis
Encefalopático	Antiinflamatorio	Antiséptico
Saborizante	Antilinfómico	Antiespasmódico
Fungicida	Antimutagénico	Antiestafilococo
Alucinógeno	Anti Obesidad	Preventivo del cáncer
Hepatotóxico	Antiséptico	Candidiasis
Herbicida	Antiespasmódico	Cerebrotoxico
Insecticida	Antitumoral	Saborizantes
Insectifugo	Antiviral	Fungicida
Nefrotóxico	Broncoprotector	Insecticida
Neurotóxico	Preventivo de Cáncer	Mutagenico
Esencia	Candidiasis	Nematicida
Pesticida	Expectorante	Esencia
Pulifugo	Saborizante	Pesticida
Pulmotóxico	Fungistático	Sedativo
Sedativo	Herbicida	Tricomonicida
	Histámico	

Fuente: Agricultural research service

1.4.2 PROPIEDADES FISICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES

Propiedades Generales de los aceites esenciales

- Líquidos a temperatura ambiente.
- Volátiles.
- Aromáticos.
- Incoloros o amarillentos.
- Menos densos que el agua (canela y clavo: más densos que el agua)
- Insolubles en agua. (Mouhssen L., 2004)
- Lipófilos.
- Solubles en disolventes orgánicos.
- Solubles en alcoholes de alta graduación.
- Índice de refracción elevado.
- Extraíbles por arrastre de vapor de agua o expresión.
- Poder rotatorio (quirales). (Kuklinski C. 2003)

1.4.3 MECANISMO DE ACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL SOBRE LOS MICROORGANISMOS

Este mecanismo de acción hacia los microorganismos es complejo y aún no ha sido del todo entendido y explicado.

El modo de acción de los aceites esenciales (AE) también dependerá del tipo de microorganismos y está principalmente relacionado con la estructura de la pared celular y la membrana externa de los mismos. (Kalemba D. et al. 2003)

La acción de los (AE) sobre los dermatofitos es destruir la pared celular y la membrana citoplasmática; lo cual resulta ser un rompimiento del citoplasma y su coagulación. (Mesa A. et al. 2004)

Las plantas demuestran cambios diversos, inducidos, en sus metabolitos secundarios tras la alimentación de insectos herbívoros a partir de ella. Los cuales difieren en su comportamiento alimenticio, fisiológico y modo de adherirse a la superficie de una hoja, y estas variaciones podrían reflejarse en las respuestas inducidas en plantas dañadas. (Banchio E. et al. 2005)

Cambios inducidos fueron analizados para *M. mollis*, una Lamiaceae con usos aromáticos y medicinales, y cuatro especies de insectos “hojivoros” con diferentes hábitos alimenticios (masticación, rascado o laceración, succión y punción). En las hojas de *M. mollis* expuestas experimentalmente a estos insectos, los niveles de dos monoterpenos dominantes (pulegona y mentona) fueron evaluados tras 24 y 48 horas de exposición. El contenido general de mentona decreció en el aceite esencial de las hojas dañadas, mientras que las concentraciones de pulegona incrementaron a su vez. (Banchio E. et al. 2005)

Estos cambios ocurrieron también en hojas adyacentes no expuestas y sanas, sugiriendo una respuesta sistémica. La respuesta relativamente uniforme a diferentes tipos de daños podría atribuirse a la presencia de compuestos muy activos en el aceite esencial de *M. mollis*, como la pulegona. Por ende los efectos de estos tipos de daños en las hojas; las concentraciones de diferentes componentes del aceite esencial podrían ser significativos desde un punto de vista comercial. (Banchio E. et al. 2005).

1.4.4. APLICACIONES DE ACEITES ESENCIALES.

Las aplicaciones de los aceites esenciales son muy variadas: son ampliamente utilizados en perfumería, como saborizantes de alimentos y en medicina. Ejemplo: los aceites esenciales de anís, menta y canela son carminativos y soporíferos; el de clavo de olor es analgésico. (Lock O. 1994, Kuklinski C. 2003).

1.4.5. FUENTES DE MOLÉCULAS CON ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA

Las especies de plantas conocidas oscilan entre 250.000 y 500.000. Esta riqueza es un recurso que no se aprovecha totalmente, a pesar de que su uso en el tratamiento de diversas enfermedades es ancestral. Dicha costumbre se ha conservado hasta nuestros días, principalmente en poblaciones rurales, lo que ha permitido acumular un amplio conocimiento etnofarmacológico, punto importante de partida en las investigaciones dirigidas a la búsqueda de productos naturales

con actividad biológica. Los vegetales sintetizan metabolitos secundarios, como las fitoanticipinas y las fitoalexinas, que utilizan para defenderse de la infección por agentes fitopatógenos, entre ellos los hongos. Por esta razón, dichas moléculas pueden ser candidatas para estudios in vitro contra agentes micóticos implicados en infecciones en humanos. En la actualidad se dispone de variados agentes antimicóticos obtenidos de plantas que se han probado tanto in vitro como in vivo con buenos resultados. De la destilación de las hojas de la planta australiana *Melaleuca alternifolia* se obtiene el aceite esencial del árbol del té (TeaTree Oil), un fitofármaco que ha mostrado actividad antimicótica por la acción directa de los componentes activos, terpinen-4-ol y 1,8-cineol, a una concentración que varía del 29% al 45% y del 4,5% al 16,5%, respectivamente, contra las estructuras de las membranas celulares, no sólo en hongos sino también en bacterias. El aceite se utiliza para el tratamiento de infecciones en la piel por hongos de los géneros *Candida* y *Malassezia*, y en las onicomicosis causadas por dermatofitos. Con la aplicación tópica del aceite no se han descrito reacciones adversas; sin embargo, la administración oral accidental produjo toxicidad sistémica. En los extractos alcohólicos, los aceites esenciales y los compuestos de naturaleza sulfúrica aislados de los bulbos del ajo (*Allium sativum*) se ha demostrado un importante efecto antimicótico, atribuido a los componentes activos alicina y ajoeno, sobre especies de los géneros *Candida*, *Malassezia*, *Cryptococcus* y *Aspergillus*, así como contra especies de dermatofitos y el hongo *Paracoccidioides brasiliensis*. La alicina, aunque es efectiva, ve limitado su uso por su inestabilidad; en contraste, el ajoeno, producto de la degradación de la alicina, es un compuesto más estable y la formulación tópica para el tratamiento de tinea pedis, cruris y corporis ha mostrado resultados considerables. Así mismo, de la planta *Eucalyptus globuluse* obtienen aceites esenciales, extractos e infusiones con actividad antimicótica, a concentraciones entre el 54% y el 95% del componente activo 1,8-cineol. El uso tópico del extracto crudo y el aceite esencial producen irritación dérmica y dermatitis de contacto. Las plantas *Thymus vulgaris* y *Thymus zygis* son fuente de las moléculas timol y carvacrol, ambas con reconocido efecto desinfectante en heridas y componentes de enjuagues bucales. Asimismo, es reconocida su

actividad principalmente contra *Cryptococcus neoformans* y especies de *Candida*, *Aspergillus*, *Saprolegnia* y *Zygorhynchus* .Otras moléculas producidas por las plantas son las fitodefensinas, de naturaleza peptídica y ricas en cisteína, con capacidad de inhibir el crecimiento de los hongos al producir en ellos cambios morfológicos y daño en algunas de sus estructuras celulares. En las semillas de la planta *Zea mays* se encuentra la proteína zeamatina, que tiene como función proteger a la planta de hongos patógenos por la capacidad de producir lisis osmótica. En el patógeno humano *Candida albicans*, la molécula impide el crecimiento a una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 0,5 mg/l. (Kalembe D. 2003; Mesa A. et al. 2004).

CAPITULO II

MATERIALES Y METODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDIO

El presente estudio para el aislamiento de las cepas del hongo *Sporothrix schenckii* se realizó en el departamento de Apurímac situado al sur centro del territorio nacional, limita con los departamentos de Cusco, Ayacucho y Arequipa. Presenta una población de 426 904 habitantes. Está dividido en 7 provincias. (INEI, 2000).

La provincia de Abancay, capital del departamento, está ubicado a una altitud de 2378 metros, latitud sur 13°38'33'' y longitud oeste 72°52'54''. Comprende una superficie de 3447.13 Km², en el cual se ubican 9 distritos. Presenta un clima cálido – húmedo, con una temperatura máxima de 23.20°C, una temperatura mínima de 12.08°C y una temperatura media de 17.58°C. La precipitación pluvial anual es de 465.04 mm y es estacional. Cuenta con una población calculada del orden de los 118,853 habitantes (año 2000) y se encuentra ubicada en la parte central y norte de la región. (INEI, 2000).

La tasa de crecimiento poblacional para 1993, fue de 5,9; sin embargo ésta ha experimentado una variación, de modo que actualmente la tasa de crecimiento es 4,3, observándose que un 42,7% es población menor de 15 años

La cobertura de los establecimientos de salud, comprende, por parte del MINSA, 1 hospital (con sede en Abancay, una red de 8 centros de salud y 36 postas; mientras que Essalud cuenta con un hospital y una posta en la provincia (Municipalidad provincial de Abancay, 2010)

Pero si bien la mayor concentración poblacional está en la ciudad de Abancay, contradictoriamente, la principal actividad económica es la agropecuaria por la diversidad de pisos ecológicos y las condiciones climatológicas favorables; asimismo existe abundante recursos hídricos que no son utilizados adecuadamente debido a la falta de infraestructura de riego. Esta limitación es

más notoria para las tierras con pastos naturales, porque estas solo dependen de la época de secano, incidiendo negativamente en la crianza extensiva de ganado. Las tierras aptas para la actividad agropecuaria en la provincia asciende a 246626,97 Has y de ellas las tierras de labranza constituyen una 20327,81 Hás y con una casi paridad entre tierras bajo riego y de secano. La superficie no agrícola alcanza las 226299,16 Hás, con un total de 146174,16 Hás de pastos naturales (casi no manejados), quedando unas 146174,16 Hás de bosques y 43468,27Hás de otros tipos de suelos.

Los principales cultivos son las menestras, anís, frutales, maíz y papa. Asimismo se puede apreciar que los distritos con mayor aptitud agrícola son los de Curahuasi, Tamburco, Huanipaca, San Pedro Cachora y Abancay, mientras que en los restantes distritos el desarrollo agrícola es menor. Cosa similar pasa con la ganadería.

Es atracción turística, el paisaje andino en todo el ámbito, con una composición paisajista de montañas, planicies, ríos y lagunas, abundantes en flora y fauna entre ellas la más importante es el Santuario Nacional de Ampay. Asimismo hay aguas termales medianamente explotadas como las de Cconocc (Curahuasi) y las de Pachachaca (Abancay) (INEI, 2001)

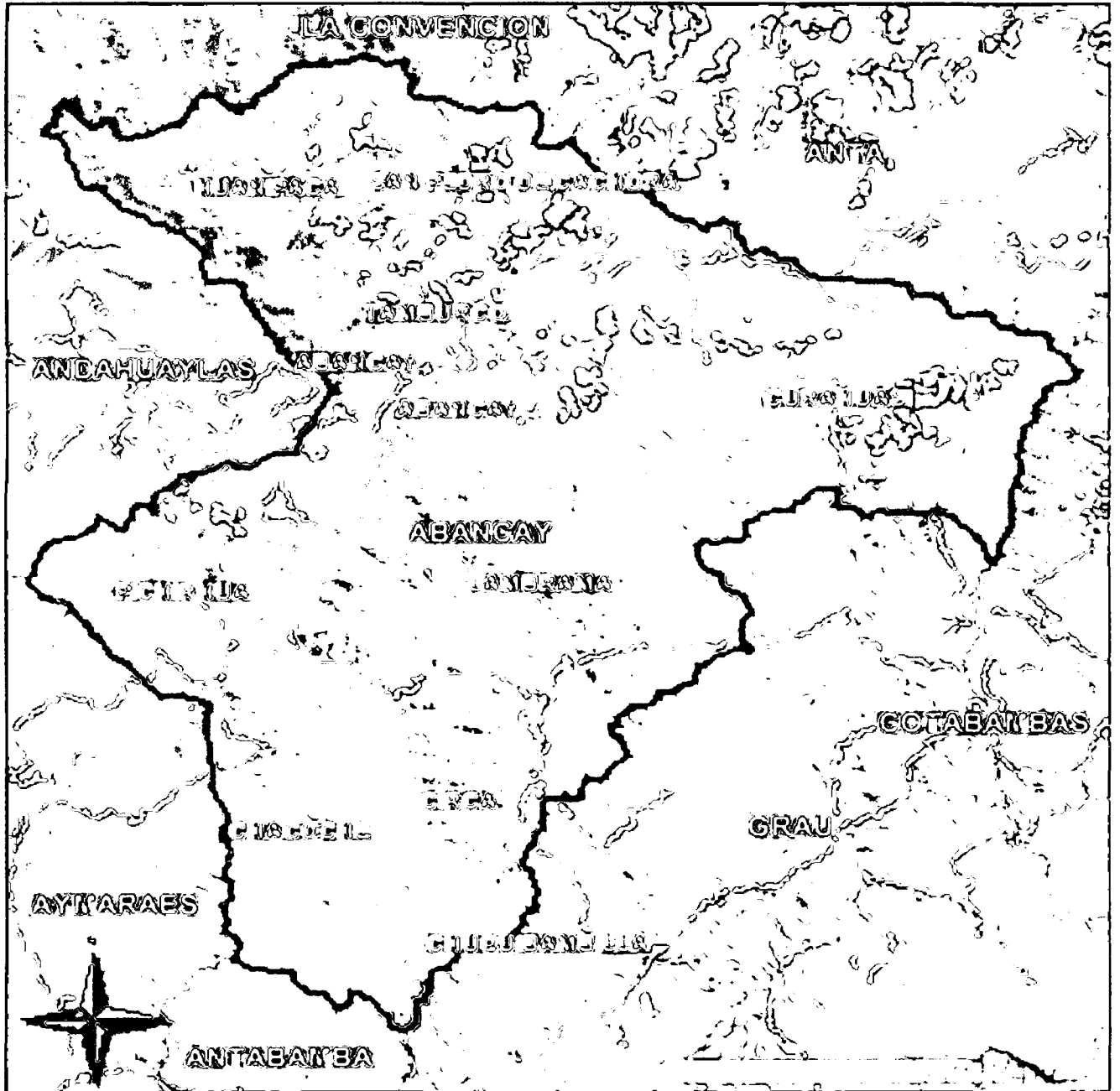


Fig. N° 02. Mapa de la provincia de Abancay (Fuente: INEI y MINSA, 2010)

2.2 MATERIALES

2.2.1 Material Biológico

- Cepas de *Sporothrix schenckii* obtenidas de pacientes con *esporotricosis*.
- Aceite esencial de la MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb.

2.2.2 Materiales de Laboratorio

- Placas Petri
- Tubos con tapa rosca
- Pipetas
- Pro pipeta
- Matraces
- Probeta
- Mechero
- Lancetas
- Bisturíes
- Láminas portaobjetos
- Láminas cubreobjetos
- Jeringas de Tuberculina.
- Asa y aguja de siembra
- Asa de nicromo en L
- Algodón
- Agua destilada
- Cintas pHmétricas
- Cámara de Neubauer

2.2.3 Equipos de Laboratorio

- Horno Pasteur (BINDER)
- Incubadoras (SELECTA) A 25C Y 37C
- Autoclave
- Microscopio (LEICCA)
- pHmetro (JENWAY)
- Balanza analítica (OHAUS EXPLORER)
- Refrigeradora

2.2.4 Medios de cultivo

- Agar dextrosa Sabouraud (MERCK)
- Agar Sabouraud con cloranfenicol (MERCK)
- Medio Takashio
- Agar BHI (MERCK) + 5% de sangre

2.2.5 Reactivos

- Azul de lactofenol (SIGMA)
- KOH al 10%
- Solución salina estéril
- Fenol al 5%
- Etanol al 50%

2.2.6 Otros Materiales

- Sacabocados de 11 mm. de diámetro
- Papel Kraft
- Algodón

2.3 DISEÑO METODOLOGICO

2.3.1 TIPO DE ESTUDIO

Para la realización del presente trabajo de investigación se realizó un estudio correlacional, ya que se establece una relación entre la actividad antimicótica y el aceite esencial de la Muña *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. sobre el hongo *Sporothrix schenckii*, demostradas in vitro

2.3.2 TIPO DE DISEÑO DE INVESTIGACION

- a. Tipo de estudio: Experimental.
- b. Tipo de muestreo no probabilístico, por conveniencia (Pagano M. et al. 2001)

2.3.3 VARIABLES DE ESTUDIO

El número de variables fue relacionado con la hipótesis.

- a. **Variable independiente:** Aceite esencial de *Minthostachys acris* Schmidt-Leb.(MUÑA)
- b. **Variable dependiente:** Actividad antimicótica del aceite esencial de muña frente a cepas del hongo *Sporothrix schenckii*.
- c. **Variables Intervinientes:**
 - DEL HONGO
 - Medios de cultivo
 - Temperatura de almacenamiento
 - DE LA PLANTA
 - Lugar de recolección
 - Temporada de recolección
 - Partes de la planta a estudiar

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión:

➤ De la especie vegetal

- Se tomaron las partes aéreas de las especies vegetales (las hojas) que se encontraban en buen estado: se procedió a recolectar hojas sin daños y libres de contaminantes.

Criterios de exclusión:

➤ Del Hongo

- Pacientes que no estén diagnosticados con Esporotricosis.
- Pacientes que no aceptaron participar voluntariamente en el trabajo de investigación.
- Pacientes previamente tratados en forma empírica u otros tratamientos médicos no específicos para esporotricosis.

2.3.4 OBTENCION DE LAS MUESTRAS DE *Sporothrix schenckii*

Se realizó el estudio con cepas de pacientes diagnosticados clínicamente con Esporotricosis.

- **Consideraciones éticas:** Para efectos del estudio previamente se coordinó con el Director de la Clínica Santa Teresa de Abancay, para permitirnos el ingreso, contacto con el paciente y toma de muestra en los laboratorios de la Clínica. Con los pacientes que voluntariamente desearon participar en el estudio de investigación se procedió al llenado del consentimiento informado debidamente estructurado. (ANEXO N° 04 Y ANEXO N° 05)

2.3.4.1 Técnica de muestreo (Según el INS, 1996)

En caso de lesiones cutáneas fijas, primero se ubicó la región anatómica de las lesiones para lavarlas con agua y jabón dejando limpia y desinfectada las zonas lesionadas, se tomó la muestra con una lanceta o bisturí con el fin de exponer la lesión, para realizar el raspado de los bordes tratando de obtener exudados, secreción sero-purulento.

En el caso de lesiones linfocutáneas, primero se ubicó las lesiones y determinó la presencia y ubicación de los nódulos, se tomó la muestra realizando una punción con una tuberculina cargada con solución salina estéril, para homogenizar y aspirar la secreción purulenta.

Para ambos casos se realizó la toma de muestra en condiciones de esterilidad.

2.3.4.2 Método de aislamiento (Según el INS, 1996)

En el caso de lesiones cutáneas fijas, de la muestra obtenida se sembró en agar Sabouraud con cloranfenicol.

En caso de lesiones linfonodulares, las muestras obtenidas con la tuberculina cargada con solución salina estéril, se inoculó 0.5 ml de muestra en los tubos con agar Sabouraud con cloranfenicol.

Por cada paciente se realizaron los cultivos por triplicado, rotulados y se incubó a temperatura ambiente. De los cultivos positivos en agar Sabouraud con cloranfenicol se cultivó en agar BHI + 5% sangre e incubar a 37°C.

2.3.4.3 Métodos de identificación de *Sporothrix schenckii*. (Según el INS, 1996)

El cultivo es uno de los métodos seguro, sensible y específico para el diagnóstico de la esporotricosis. Para la identificación por medio del cultivo y por ser este un hongo dimórfico es necesario demostrar la conversión de la fase micelial a la fase levaduriforme para lo cual se tuvo que evaluar las características morfológicas de las colonias y las características morfológicas microscópicas tanto en la fase micelial y en la fase levaduriforme.

CUADRO N° 02: Métodos de identificación de *Sporothrix schenckii*

<i>Sporothrix schenckii</i>	Características Macroscópicas	Características Microscópicas
<p>Fase micelial (Temperatura ambiente)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Crecimiento: 3 – 5 días. • Textura: glabrosa • Relieve: cerebriforme, radiado. • Color: blanco-crema (colonias jóvenes); marrón o negra (colonias viejas). 	<ul style="list-style-type: none"> • Hifas delgadas, ramificadas, tabicadas, hialinas, con un diámetro de 1 a 2 µm, con conidióforos. • Conidias: formadas simpodialmente, hialinas de 2-3 µm x 3-6 µm que se agrupan en forma de ramillete o margarita.
<p>Fase levaduriforme (37°C)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Crecimiento: 3 – 5 días. • Color: blanco a crema, • Textura: pastosas, levaduriforme y pequeñas parecidas a colonias bacterianas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Levaduras ovaladas o en forma de cigarros con varias gemaciones, con un tamaño promedio de 1 a 3 x 3 a 10 µm.

Fuente: Laboratorio de Micología, CNSP – INS

2.3.5 EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL POR ARRASTRE EN VAPOR DE AGUA

2.3.5.1 RECOLECCION DE LA MUESTRA

El espécimen vegetal fue recolectado en el distrito de Lamay, Provincia de Calca, departamento del Cusco. El Distrito de Lamay se ubica a 51 km al noreste de la Ciudad de Cusco, entre las coordenadas 71° 41' y 72° 22' de longitud oeste y 12° 30' y 13° 35' de latitud sur. El distrito se encuentra adyacente a la cuenca del río Vilcanota, ubicándose en un rango altitudinal que va desde los 2200 a 4500 msnm. Tiene una superficie de 94.22 km². (Municipalidad Distrital de Lamay, 2012)

La muña fue tomada de las laderas de los cerros, zonas pedregosas, fueron cortadas con una hoz a unos 10 cm por encima de la superficie del suelo. Luego se separaron las hojas (parte aérea).



FOTO N° 01: ZONA DE COLECTA

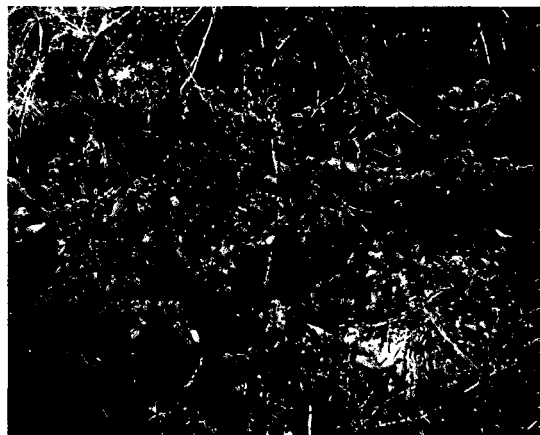


FOTO N° 02: *Minthostachys acris*
Schmidt-Leb.

2.3.5.2 EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

Para realizar la extracción del aceite esencial de la muña se utilizó el método de arrastre con vapor de agua y se siguió las pautas indicadas por Morales (Inga B. et al. 2000).

Se utilizó 10 kg de “muña” fresca, obteniéndose al final un total de 21 ml. de aceite esencial. El proceso se realizó en laboratorio de obtención de licores de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de San Antonio abad del Cusco.

El método consiste en colocar agua en el primer recipiente (generador de vapor), en el segundo recipiente se colocó 1,5 kg de la muña, de tal modo que el material no estuvo en contacto directo con el agua; luego se calentó hasta el desprendimiento de vapor de agua conteniendo el aceite esencial a través de los refrigerantes de vidrio, siendo recolectados en una pera de decantación; se dejó en reposo hasta observar la separación del agua y del aceite, procediéndose luego a su decantación. (Inga B. et al. 2000).

El aceite no fue sometido a otro tratamiento.

2.3.6 ANÁLISIS FISCOQUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL

El análisis fisicoquímico se realizó en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, el cual fue sometido a las siguientes pruebas:

2.3.6.1 Características Organolépticas

A través de este análisis se confirmó las características propias del aceite esencial en cuanto a su aspecto, color, sabor y olor. (Lovón M. et al. 2011)

2.3.6.2 Ensayos Físicos

Determinación de densidad

Se determinó la densidad por el método del picnómetro. (Cano C. 2007).

Determinación del índice de refracción

Índice de refracción (n) de una sustancia es el cociente entre la velocidad de la luz en el aire y la velocidad de la luz en la sustancia. Es importante para la identificación de sustancias y la detección de impurezas. (Cano C. 2007)

Aunque la temperatura estándar para las mediciones farmacopeicas es 25°C, muchas de las especificaciones de índice de refracción en las monografías individuales requieren la determinación de este valor a 20°C (Inga B. et al. 2000)

Rotación óptica

Es la medida de rotación de plano de polarización de la luz, a una longitud de onda definida, al atravesar un espesor determinado de aceite esencial. La longitud de onda es generalmente aquella correspondiente a la línea del sodio. (Fuertes R. et al. 2001)

Solubilidad

Para las determinaciones usuales de solubilidad de aceites se emplea alcohol etílico de 96° (Fuertes R. et al. 2001).

2.3.7 ANÁLISIS DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

El aceite esencial de *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. fue analizado por cromatografía de gases, en el Laboratorio de Cromatografía de la Facultad de Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática de la UNSAAC. Se utilizó un equipo de cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas. Cuyas características son las siguientes:

- Cromatógrafo: Agilent 6890N
- Detector de Masas: Agilent 5975B
- Columna: HP-5MS

Este ensayo se fundamenta en el tiempo de retención de algunos de los componentes mediante un detector FID; luego mediante estándares conocidos se determinó la composición cuali-cuanti centesimal de componentes del aceite esencial. (ANEXO N° 03).

2.3.8 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA *IN VITRO* DEL ACEITE ESENCIAL DE LA Muña *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. SOBRE *Sporothrix schenckii* POR DIFUSION EN AGAR Y DILUCIÓN EN TUBO.

A. METODO DE DIFUSIÓN EN AGAR (Cano C. 2007)

Fundamento

Esta prueba se basa en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la difusión de las sustancias activas en un medio sólido, y posteriormente se evidencia por la formación de halos claros.

a. Evaluación de la actividad antimicótica del aceite esencial frente a la fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*.

i. Preparación del medio de cultivo

- Se preparó agar Infusión Cerebro Corazón (BHI). En cada placa se vertió 20 ml de agar.
- El medio se dejó solidificar, e incubó a 37°C por 24 horas para comprobar esterilidad. Las placas se guardaron en refrigeración hasta el momento de su uso.

ii. Preparación del Inoculo

- Se prepararon placas Petri con 20 ml de agar BHI con sangre al 5% y se incubaron a 37°C durante 24 horas para comprobar su esterilidad.
- Para estimular la conversión del hongo de su fase micelial a la levaduriforme se sembró en el agar BHI + 5% de sangre durante 5 días a 37°C, ambiente de CO₂ y humedad hasta obtener un crecimiento uniforme.
- Se seleccionaron 4 o 5 colonias bien aisladas, del cultivo en BHI.

- Se transfirió una porción de cada colonia con un asa de siembra a un tubo que contiene de 4 ml. a 5 ml. de solución salina estéril.
- Se incubó el caldo a una temperatura entre 35°C a 37°C hasta que alcance la turbidez del estándar Mc. Farland (2 a 6 horas).

iii. Inoculación de levaduras en placa

- En las placas con agar BHI se inoculó la suspensión de levaduras, cubriendo toda la placa utilizando la técnica del hisopo.
- Se abrieron pozos en la placa con un sacabocados estéril de 11mm. de diámetro.
- Se procedió a colocar 0,1 ml. del aceite esencial al 100%, 75%, 50%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, y 1% (v/v), en los pozos previamente hechos.
- Se dejó reposar por un periodo de 30 minutos a temperatura ambiente
- Se incubó las placas a 37°C durante 7 días.
- Para el control negativo se sembró la levadura en una placa de agar BHI con etanol al 50% y como control positivo una placa con anfotericina B (1mg/ml)

iv. Lectura e interpretación de los resultados

Luego de transcurrir el tiempo de incubación se procedió a realizar la lectura correspondiente con la observación de las zonas claras de inhibición del crecimiento, mediante el registro de los diámetros en mm de estas zonas.

b. Evaluación de la actividad antimicótica del aceite esencial frente a la fase micelial de *Sporothrix schenckii* (Cano C. 2007 y Gaitán I. 2005)

i. Preparación del medio de cultivo. (Cano C. 2007)

Se prepararon placas con agar dextrosa Sabouraud los cuales se dejaron solidificar e incubar a 37°C durante 24 horas para comprobar esterilidad. Las placas se guardaron en refrigeración hasta el momento de usarlas.

ii. Preparación del Inóculo (Gaitán I. 2005)

- Se preparó medio Takashio (Sabouraud modificado para producción de esporas) con los siguientes reactivos: Dextrosa 0.6 g; Na₂SO₄ 0.3g; KH₂PO₄ 0.3 g; Peptona 0.3 g; Agar-agar 6.0 g. Agregarlo a 300 ml de agua.
- Se vertió 6 ml del medio preparado en tubos con tapa de rosca, y luego se esterilizó durante 15 minutos a 121°C y dejando solidificar con un ángulo de inclinación adecuado para la siembra.
Para descartar contaminación el medio se incubo durante 24 horas a 37°C.
- El hongo se sembró en medio Takashio con un asa de nicromo en L y fue incubado a 27°C durante 21 días hasta obtener un crecimiento homogéneo (aproximadamente 15 días).
- Se agregó a cada tubo de Takashio 2 ml de solución salina estéril y desprendió el hongo con el asa de nicromo
- El material obtenido se trasvasó a tubos con tapa de rosca estériles y luego se agitó durante 2 minutos en vórtex para luego hacer un conteo de esporas en cámara de Neubauer.
- La suspensión de esporas preparadas en solución salina fue de 100 esporas/μl, que es igual a 1 x 10⁵ esporas/ml (aproximadamente 10 esporas/cuadrante) y se almacenó en tubos con tapa rosca estériles, en refrigeración.

iii. Inoculación del hongo (Cano C. 2007)

- De la suspensión de esporas se sembraron en cada placa cubriendo todo el diámetro por el método del hisopo.
- Se abrieron pozos en las placas con agar dextrosa Sabouraud con ayuda de un sacabocados estéril de 11 mm de diámetro.
- Se procedió a colocar 0,1 ml. del aceite esencial a 100%, 75%, 50%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, y 1% (v/v), en los pozos previamente hechos.
- Se dejó reposar por un periodo de 30 minutos a temperatura ambiente
- Se incubó las placas a 27°C por 14 días a 21 días.
- Como control negativo se utilizó una placa con agar Sabouraud y etanol al 50% y como control positivo una placa con agar Sabouraud y anfotericina B (1 mg/ml).

iv. Interpretación de los resultados (Cano C. 2007)

Luego de transcurrir el tiempo de incubación se procedió a realizar la lectura correspondiente con la observación de las zonas claras de inhibición del crecimiento, mediante el registro de los diámetros en mm de estas zonas.

B. METODO DE DILUCION EN TUBO (Cano C. 2007).

Se utilizó este método solo para la fase micelial.

Fundamento

Esta prueba se basa en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la dilución del aceite esencial en tubos con agar, y se evidencia por la ausencia de crecimiento en los tubos.

Preparación de los extractos de prueba

Las diluciones se prepararon usando 50ul., 25ul., 10ul., 5ul. 4ul., 3ul., 2ul y 1ul del aceite esencial tal cual, diluido en 10 ml del agar dextrosa Sabouraud fundido e inoculado con *Sporothrix schenckii*

Interpretación de los resultados

Los tubos fueron determinados por inspección visual de la inhibición de crecimiento de cada uno de los tubos comparado con el tubo control de crecimiento (libre de muestra).

*Las pruebas se realizaron por triplicado.

CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 RESULTADOS

3.1.1 AISLAMIENTO DE *Sporothrix schenckii*

Se aislaron 7 cepas de pacientes clínicamente diagnosticados con esporotricosis siguiendo el procedimiento del INS para su aislamiento e identificación. Las cepas aisladas fueron remitidas al Instituto Nacional de Salud a través del laboratorio referencial de salud pública de la DIRESA-Apurímac, para la verificación y confirmación de la especie. (ANEXO N° 06)

3.1.2 EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL

Los especímenes colectados de acuerdo a la determinación taxonómica correspondió a la especie de *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. certificación dada por el Herbario Vargas Cuz. (ANEXO N°02).

El aceite esencial de *Minthostachys acris* Schmidt-Leb, tuvo un rendimiento de 0,20% p/p, cuya características organolépticas fue el siguiente:

CUADRO N° 03. Características Organolépticas del aceite esencial de la Muña

COLOR	Ligeramente verde amarillento
OLOR	Aromático agradable (parecido al mentol)
SABOR	Picante-fresco no persistente
ASPECTO GENERAL	Líquido fluido y transparente

Fuente: Elaboración Propia en base al ensayo experimental

En el Cuadro N° 03, el aceite obtenido resultó ser inicialmente un líquido transparente y a lo largo de la destilación fue adquiriendo una tonalidad ligeramente amarillenta verdosa, lo cual concuerda con Cerpa 2007; quien lo

describe como "líquido incoloro de color amarillo pálido con un fuerte aroma fresco alcanforado o mentolado herbáceo.

Con respecto a la composición química del aceite esencial de la muña, existen pocos trabajos de investigación por lo que se tiene poca información: el aceite esencial de la muña, al igual que otros aceites esenciales, presenta una estructura aldehídica, cetónica, alcohólica (mentol y mentona), ésteres, éteres y terpenos en mayor porcentaje

3.1.3 PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb.

CUADRO N° 04. Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de la Muña

DENSIDAD RELATIVA		0.9334
ROTACION ESPECIFICA		+3.45
INDICE REFRACCIÓN		1.4871
SOLUBILIDAD	ETANOL 70%	+++
	ETANOL 50%	++
	ETANOL 96%	+++
	CLOROFORMO	+++
	BENCINA	+++
	ETER ETILICO	+++
	ALCOHOL 98%	++
	AGUA DESTILADA	—

Fuente: Elaboración propia en base a los ensayos experimentales

Leyenda:

- Muy soluble : +++
- Soluble : ++
- Poco soluble : +
- Insoluble : —

En el Cuadro N° 04, se muestra valores del índice de refracción el cual es una propiedad utilizada para controlar la pureza y calidad de los aceites tanto a nivel laboratorio como industrial (Pérez T. 2006), en este caso para la muña.

En cuanto a la densidad de los aceites varía entre 0.84 y 1.18 dependiendo de la especie y del lugar de origen según Costa-Batlíori, 2003. La muña empleada en el presente estudio tiene una densidad de 0.9334.

En cuanto a la solubilidad hay una mayor solubilidad en compuestos apolares como bencina, cloroformo, y éter etílico y una completa insolubilidad en los solventes polares como es el caso del agua. Según estos resultados el aceite esencial de la Muña es de naturaleza apolar, esto sirvió para reconocer al etanol como adecuado vehículo para el desarrollo de la presente investigación

3.1.4 COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. ANALIZADOS POR CROMATOGRAFIA DE GASES

CUADRO N° 05. Compuestos mayoritarios encontrados en concordancia con la Biblioteca NIST05a.L.

	COMPUESTO	TIEMPO DE RETENCION min.	CONTENIDO RELATIVO%	PORCENTAJE DE COINCIDENCIA (%)
1	o-Cymene	4.924	1.40	97
2	Limonene	4.983	0.75	94
3	Eucalyptol	5.034	0.93	99
4	ç-Terpinen	5.343	0.65	96
5	Linalol	5.812	1.00	94
6	Menthone	6.641	1.17	98
7	Menthone Isomero	6.810	7.79	98
8	Isopulegone	9.958	2.51	50
9	Pulegone	8.041	38.64	98
10	Thymol	8.857	4.62	98
11	(+)-4-Carene	10.037	0.73	93
12	Caryophyllene	11.851	2.27	99
13	á-Gurjunene	13.830	1.95	97
14	à-Muurolene	14.270	0.40	98
15	ë-Cadinene, (+)-	14.489	1.31	99
16	Phthalic acid, isobutyl octyl ester	25.196	0.69	90

Fuente: Constancia de Análisis - Laboratorio de Cromatografía de la Facultad de Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática de la UNSAAC (ANEXO N° 03)

En el Cuadro N° 05, se muestra los resultados mediante cromatografía de gases que se fundamenta en el tiempo de retención a una temperatura y presión determinadas, luego mediante la biblioteca de estándares se informó de la presencia de metabolitos que tienen función antimicótica como es la pulegona (38.64%), mentona (8.96%) y limoneno (0.75%).

3.1.5 LECTURA DE RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA SOBRE *Sporothrix schenckii*

De acuerdo al análisis realizado en el laboratorio para la actividad antimicótica in vitro se obtuvo los siguientes resultados:

CUADRO N° 06. DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION OBTENIDOS POR EL METODO DE DIFUSION EN AGAR A DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL ACEITE ESENCIAL SOBRE *Sporothrix schenckii* EN SU FASE LEVADURIFORME

Concentración de AE %(v/v)	Cepa 38	Cepa 283	Cepa 360	Cepa 225	Cepa 227	Cepa 52	Cepa 62
100	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm
75	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm
50	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm
25	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm
20	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm
15	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm
10	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm	>90mm
5	22 mm	20.8 mm	18.3mm	21mm	20 mm	19.3 mm	19 mm
1	13.8mm	13mm	14mm	13.5mm	14mm	13.8mm	13mm
Etanol(control Neg)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Anfotericina B	33 mm	34 mm	35 mm	35 mm	38 mm	36 mm	37 mm

Promedio de lectura por triplicado

Fuente: Elaboración propia

En el Cuadro N° 06 se muestra los diámetros de los halos de inhibición obtenidos con el aceite esencial a concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% y 1% para las diferentes cepas.

El inicio de la inhibición fue a partir de 1% de aceite esencial de la muña frente a las 7 cepas de *Sporothrix schenckii* en su fase levaduriforme, mientras que se observa un correcto desarrollo del hongo con etanol (control negativo). En tanto la anfotericina B (control positivo), presenta inhibición frente a las diferentes cepas del hongo pero el diámetro del halo es menor a la concentración de 10% del aceite esencial; considerándose sensible el hongo a partir de esta concentración

TABLA N° 01: ANALISIS DE VARIANZA UNIFACTORIAL (ANOVA) DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. SOBRE *Sporothrix schenckii* EN FASE LEVADURIFORME

Diámetro

	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	53918,304	5	10783,661	13460,880	,000
Intra-grupos	28,840	36	,801		
Total	53947,144	41			

Fuente: Datos experimentales

Leyenda:

GI = Grados de Libertad

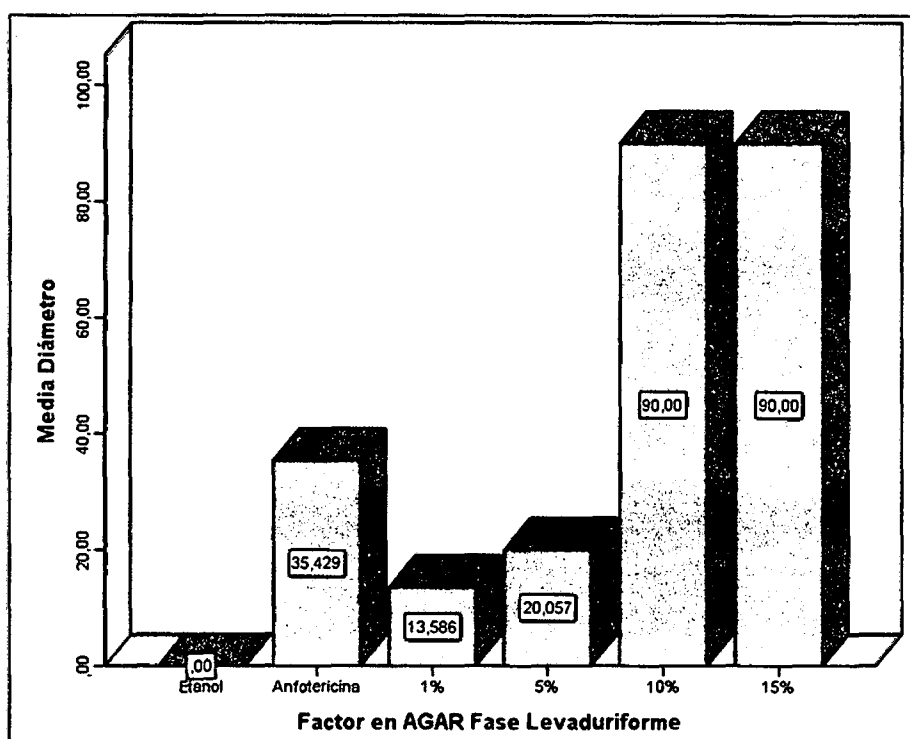
F = Estadístico de prueba

Sig. = Significancia

En el análisis de varianza ANOVA, se observa que el valor de Sig = 0,000, es menor que el valor de significación 0,05, por lo que se puede afirmar que existe diferencia altamente significativa entre los halos medios de inhibición formados por el aceite esencial de *Minthostachys acris* a diferentes concentraciones; es decir presento diferencia altamente significativa en la actividad antimicótica.

Como el ANOVA dio diferencia significativa para la Concentración, se realizó el análisis de estos resultados mediante la prueba de DUNCAN

GRAFICO N° 01: ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. SOBRE *Sporothrix schenckii* EN FASE LEVADURIFORME.



Fuente: Datos experimentales

Según el Gráfico N° 01, se puede observar que el aceite esencial de *Minthostachys acris* (muña) no presenta actividad antimicótica con el etanol (control negativo) sobre el *Sporothrix schenckii*, donde hubo un crecimiento óptimo del hongo; es a partir del 1% de concentración de aceite que se muestra el inicio de la actividad antimicótica mostrando un halo medio de 13, 586 mm, considerándose como una actividad moderada, se incrementa esta actividad con el 5%. A partir del 10% la inhibición es total es decir no hay crecimiento del hongo en la placa, En cuanto a la anfotericina B (control positivo) para esta fase tiene un halo medio de inhibición de 35,429 mm, lo cual es mucho menor a la concentración de aceite al 10%, ya que en el medio con anfotericina B si hubo crecimiento y en la concentración de 10% la inhibición fue total.

TABLA N° 02: COMPARACIONES MULTIPLES DE DUNCAN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. SOBRE *Sporothrix schenckii* EN FASE LEVADURIFORME

Diámetro

Duncan^a

Factor en AGAR Fase Levaduriforme	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Etanol	7	,0000				
1%	7		13,5857			
5%	7			20,0571		
Anfotericina B	7				35,4286	
10%	7					90,0000
15%	7					90,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.000.

Leyenda:

Sig: Significancia

En la Tabla N° 02, se muestra las pruebas de comparaciones múltiples de DUNCAN, en la que se puede apreciar que existen 5 subconjuntos homogéneos, que se obtuvieron al comparar las medias de los halos de inhibición del aceite esencial de la muña con el etanol y Anfotericina B, donde se puede observar que el aceite esencial de *Minthostachys acris* empieza la actividad antimicótica a partir de la concentración del 1% como se muestra en el subconjunto 2 con un halo medio de 13,5857mm., que fue incrementándose de acuerdo al aumento de la concentración del aceite hasta llegar a la inhibición total a partir de la concentración del 10% como se muestra en el subconjunto 5. La anfotericina B usada como control positivo se observa en el subconjunto 4 con un diámetro medio del halo de inhibición de 35,4286mm., muestra una menor actividad al ser comparado con la concentración de aceite esencial al 10%.

CUADRO N° 07. DIÁMETRO DE LOS HALOS DE INHIBICION OBTENIDOS POR EL METODO DE DIFUSION EN AGAR A DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL ACEITE ESENCIAL SOBRE CEPAS DE *Sporothrix schenckii* EN SU FASE MICELIAL

Concentración de AE %(v/v)	Cepa 38	Cepa 283	Cepa 360	Cepa 225	Cepa 227	Cepa 52	Cepa 62
100	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm
75	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm
50	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm
25	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm	>90 mm
20	49.1 mm	49.2 mm	49.4 mm	50 mm	49.5 mm	50.5 mm	49 mm
15	34.6	35.4 mm	36 mm	35.6 mm	35.8 mm	34.6 mm	34.8 mm
10	25.2	24 mm	25 mm	25 mm	24.8 mm	24.3 mm	24.3 mm
5	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
1	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Etanol(control Neg)	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Anfotericina B	19 mm	17 mm	18 mm	19.8 mm	18 mm	19 mm	20 mm

Promedio de lectura por triplicado

Fuente: Elaboración propia

En el Cuadro N° 07, se muestra los diámetros de los halos de inhibición obtenidos con el aceite esencial a concentraciones de 100%, 50%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% y 1% para las diferentes cepas.

El inicio de la Inhibición fue a partir de 10% de concentración del aceite esencial de la muña frente a las 7 cepas de *Sporothrix schenckii* en su fase micelial, mientras que se observa un correcto desarrollo del hongo con etanol (control negativo). En tanto la anfotericina B (control positivo), presenta inhibición frente a las diferentes cepas del hongo pero el diámetro del halo es menor a la concentración de 10% del aceite esencial.

TABLA N° 03: ANALISIS DE VARIANZA UNIFACTORIAL (ANOVA) DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. SOBRE *Sporothrix schenckii* EN FASE MICELIAL

Diámetro

	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	72128,209	8	9016,026	40581,780	,000
Intra-grupos	11,997	54	,222		
Total	72140,206	62			

Fuente: Datos experimentales

Leyenda:

GI = Grados de Libertad

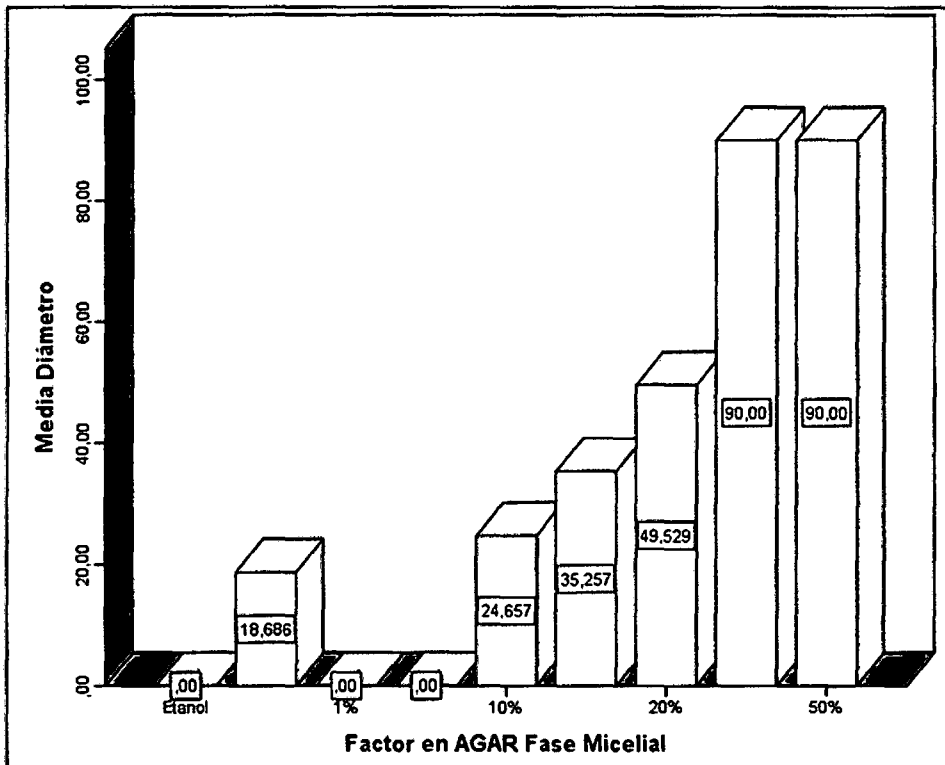
F = Estadístico de prueba

Sig. = Significancia

En el análisis de varianza ANOVA, se observa que el valor de Sig = 0,000, es menor que el valor de significación 0,05, por lo que se puede afirmar que existe diferencia altamente significativa entre los halos medios de inhibición formados por el aceite esencial de *Minthostachys acris* a diferentes concentraciones; es decir presentó diferencia altamente significativa en la actividad antimicótica.

Como el ANOVA dio diferencia significativa para la Concentración, se realizó el análisis de estos resultados mediante la prueba de DUNCAN

GRAFICO N° 02: ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. SOBRE *Sporothrix schenckii* EN FASE MICELIAL



Fuente: Datos Experimentales

En las comparaciones múltiples de DUNCAN en el gráfico N° 02 se puede observar que el aceite esencial de *Minthostachys acris* (muña) no presenta actividad antimicótica con el etanol (control negativo) sobre el *Sporothrix schenckii*, donde el crecimiento es óptimo, tampoco presenta actividad con 1% y 5% de concentración del aceite; es a partir del 10% de la concentración del aceite que se muestra el inicio de la actividad antimicótica mostrando un halo medio de 24,657 mm, a partir del 25% la inhibición es total es decir no hay crecimiento del hongo. En cuanto a la anfotericina B (control positivo) para esta fase tiene un halo medio de inhibición de 18.686 mm, lo cual podemos indicar que es menor a la concentración del aceite al 10%. Es en ambas fases el diámetro medio del halo inhibición de la anfotericina B es menor al a diámetro medio del halo de inhibición con el aceite a la concentración de 10%.

TABLA N° 04: COMPARACIONES MULTIPLES DE DUNCAN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA *Minthostachys acris* SOBRE *Sporothrix schenckii*, EN FASE MICELIAL

Diámetro

Duncan^a

Factor en AGAR Fase Micelial	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Etanol	7	,0000					
1%	7	,0000					
5%	7	,0000					
Anfotericina B	7		18,6857				
10%	7			24,6571			
15%	7				35,2571		
20%	7					49,5286	
25%	7						90,0000
50%	7						90,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.000.

Leyenda:

Sig: Significancia

En la Tabla N° 04, se muestra las pruebas de comparaciones múltiples de DUNCAN, en la que se puede apreciar que existen 6 subconjuntos homogéneos, que se obtuvieron al comparar las medias de los halos de inhibición del aceite esencial de la muña para la fase micelial con el etanol y Anfotericina B, donde se puede observar que el aceite esencial de *Minthostachys acris* empieza la actividad antimicótica a partir de la concentración del 10% como se muestra en el subconjunto 3 con un halo medio de 24,6571mm., que fue incrementándose de acuerdo al aumento de la concentración del aceite hasta llegar a la inhibición total a partir de la concentración de 25% como se muestra en el subconjunto 6. La anfotericina B usada como control positivo se observa en el subconjunto 2 con un diámetro medio del halo de inhibición de 18,6857mm., muestra una menor actividad al ser comparado con la concentración de aceite esencial al 10%.

METODO DE DILUCION EN TUBO

CUADRO N° 08: RESULTADO DE LA PRUEBA DE DILUCION EN TUBO - FASE MICELIAL

Concentración de AE (volumen)	Cepa 38	Cepa 283	Cepa 360	Cepa 225	Cepa 227	Cepa 52	Cepa 62
50ul	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
25ul	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
10ul	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
5ul	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
4ul	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
3ul	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
2ul	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
1ul	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
Sin aceite (S/A)	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C

S/A: Sin aceite

S/C: Sin Crecimiento del hongo

C/C: Con crecimiento del hongo

En el Cuadro N° 08, los tubos fueron determinados por inspección visual de la inhibición del crecimiento de cada uno de los tubos comparando con el tubo control de crecimiento (sin aceite).

Las 7 cepas en la fase micelial son sensibles a los volúmenes ensayadas de 50ul, 25ul, 10ul, 5ul, 4ul, 3ul, 2ul de aceite esencial de *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. al no presentar crecimiento en el tubo. En el tubo con volumen de 1ul hubo un ligero crecimiento del hongo.

3.2 DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinó la actividad contra cepas del agente etiológico de micosis subcutánea *Sporothrix schenckii* del aceite esencial de la muña *Minthostachys acris*. Por ser este un hongo dimórfico, el ensayo se realizó tanto para la fase micelial (saprofítica) como para la levaduriforme (parasítica).

El bioensayo de la fase micelial fue una adaptación de la metodología de Brancato y Golding modificada por MacRae para hongos filamentosos, una vez obtenido el crecimiento óptimo de *Sporothrix schenckii*, sembrando el hongo en medio Takashio para la inducción de esporas. Posteriormente se sembraron las esporas en agar Sabouraud y se realizaron mediciones del diámetro de la colonia cada 3 días, durante 27 días. El hongo se desarrolló adecuadamente según la metodología, obteniéndose un crecimiento máximo de la colonia después de 18 días de incubación.

La Muña cuenta con un registro de identificación y clasificación que corresponde al Herbario Vargas Cuz de la Facultad de Biología de la UNSAAC (Anexo N°02)

En cuanto a los Ensayos Físicos tales como la densidad e índice de refracción, se pueden hacer deducciones sobre sus componentes: en nuestro caso el aceite esencial de la muña presenta una densidad de 0,9334 e índice de refracción de 1,4871; lo que nos indica que la muestra está conformada posiblemente por sustancias oxigenadas aromáticas o alicíclicas (Lock O. 1994; Fuertes R. et al. 2005)

En el presente estudio se demuestra la gran utilidad de los ensayos in vitro, tales como el método de difusión en agar, que se fundamenta en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la difusión de sustancias activas en un medio sólido y posteriormente se evidencia por la formación de halos claros, y el método de dilución en tubo, que se basa en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la dilución del aceite esencial en tubos en agar y se evidencia por la ausencia de crecimiento en los tubos (Mouhssen L, 2004)

En los cuadros N° 06 y N° 07 se muestran las medias de los halos de inhibición para la fase micelial y levaduriforme respectivamente a las concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% y 1% del aceite esencial. En la fase levaduriforme el inicio de la actividad antimicótica fue a partir de 1% de concentración del aceite y a partir del 10% de concentración del aceite la inhibición fue total (todo el diámetro de la placa). En la fase micelial el inicio de la actividad antimicótica fue a partir del 10% de concentración del aceite y a partir del 25% la inhibición fue total (todo el diámetro de la placa). En ambas fases el diámetro medio del halo de inhibición de la anfotericina B fue menor al diámetro medio del halo de inhibición del aceite al 10%. Lo cual nos puede indicar que el aceite a una concentración del 10% es más efectivo que la anfotericina B, esto podría deberse a que el aceite esencial posee varios principios activos que pueden actuar a bajas concentraciones, contrariamente a los medicamentos sintéticos que tienen un solo principio activo.

Por el método de dilución en tubo para la fase micelial no se observa crecimiento a los volúmenes ensayados de 50ul, 25ul, 10ul, 5ul, 4ul, 3ul, 2ul, esto se podría deber a que el aceite está completamente puro y considerando la gran variedad de compuestos químicos presentes en los aceites esenciales, es probable que su actividad antifúngica no sea atribuible a un mecanismo específico, sino a la acción combinada de varios de ellos sobre distintas localizaciones de la célula. (Mateus et al. 2006). Al volumen de 1ul hubo ligero crecimiento del hongo.

La fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii* es más susceptible al aceite esencial de *Minthostachys acris*, lo que puede deberse a la cantidad de ergosterol presente en la pared celular del hongo, lo cual es menor en una levadura que el micelio de un hongo. Es posible que los compuestos activos presentes en el AE inhiban la biosíntesis de ergosterol o de otros esteroides, lesionando la pared celular fúngica y alterando su permeabilidad; como consecuencia se produce la pérdida de elementos intracelulares esenciales. Otro posible mecanismo antifúngico es la inhibición de la síntesis de triglicéridos y fosfolípidos o la inhibición de la actividad enzimática oxidativa y peroxidativa, lo que conlleva a la acumulación de

concentraciones tóxicas de peróxido de hidrogeno, que contribuyen al deterioro de los órganos subcelulares y necrosis celular (www.danival.org, www.facmed.unam.mx). Sin embargo no se puede definir el mecanismo de acción del aceite esencial ya que aún no se cuenta con el compuesto puro al que se le atribuya la actividad en forma precisa, ni con los bioensayos que lo comprueben.

La razón por la cual un aceite esencial actúa a cierta concentración aún se desconoce pero se le puede atribuir al mecanismo de acción de los compuestos presentes en el aceite esencial, como son pulegona, mentona, etc., y a la susceptibilidad de la célula fúngica ante ellos.

Un aspecto que ha complicado la situación de pacientes con Esporotricosis es el desarrollo de mecanismos de resistencia a los antimicóticos sintéticos por algunas especies, se explica en parte porque la mayoría de fármacos son fungistáticos y por la administración prolongada de los tratamientos en el tiempo, lo cual permite la aparición de clones resistentes. Por tanto ante este aumento de infecciones por hongos, se busca una constante búsqueda de alternativas terapéuticas eficaces entre las plantas medicinales como fuente de nuevos y variados agentes antimicóticos. (Mesa A. et al. 2004)

Se reconoce que la actividad antimicótica del Aceite Esencial (AE), depende de sus propiedades lipofílicas o hidrofílicas. Los terpenoides pueden servir como un ejemplo de agentes liposolubles, los cuales afectan la actividad de las enzimas catalizadoras a nivel de membrana, por ejemplo ciertos componentes de (AE) pueden actuar como desacopladores, los cuales interfieren en la translocación de protones sobre la membrana y subsecuentemente interrumpir por la fosforilación del ADP. (Kalembe A. et al. 2003)

En el aceite esencial de la muña los monoterpenos se encontraron en mayor cantidad que conjuntamente al actuar con otros compuestos químicos mostraron un amplio espectro fungicida-fungistático frente a cepas de *Sporothrix schenckii*. Los analitos responsables de estas actividades son: Pulegona, Limoneno y Mentona. (Duke's J. 1985). (Agricultural research service)

En cuanto a las pruebas in vitro, estas han demostrado una gran ayuda en años recientes, a la búsqueda de nuevas drogas para combatir las infecciones, es de absoluta necesidad y en cuanto a los aceites esenciales se consideran una gran alternativa de esperanza para las infecciones (Domínguez X, 1985)

En los estudios de las actividades farmacológicas de los aceites esenciales debe tenerse en consideración diferentes factores, los cuales pueden afectar los resultados de estos estudios (especies, factores ecológicos y condiciones ambientales). Como así también: el porcentaje de humedad del material recolectado, y los métodos de extracción han sido identificados como posibles fuentes de variación de la composición química, toxicidad y bioactividad de los aceites esenciales. (Mouhssen L. 2004).

En cuanto al mecanismo de acción del aceite esencial de la muña, se fundamenta en: la destrucción de la pared del hongo y la membrana citoplasmática los cuales conllevan al rompimiento de la membrana y coagulación del citoplasma. El aceite esencial también inhibe la síntesis de DNA, RNA, proteínas y polisacáridos en los hongos, evocando cambios similares a los obtenidos a los antimicóticos de acción tópica (itraconazol, miconazol. Etc.). (Goodman y Gilman, 1985)

Se han reportado trabajos de investigación en los cuales los aceites esenciales son más efectivos que los agentes sintéticos (antimicóticos); el timol y carvacrol inhibieron el crecimiento de un gran número de microorganismos, y su eficacia contra: *Phytophthora capsicii*, fue mayor que al de los antimicóticos de patente. (Kalemba D. et al, 2003). Ocurre lo mismo en el presente estudio al usar la anfotericina B como control positivo donde la formación del halo es menor o igual a las concentraciones usadas con el aceite.

En la acción antimicótica de estos componentes (metabolitos secundarios) el carácter lipofílico e hidrofílico de sus grupos funcionales son de gran importancia, debido a la polaridad que poseen tiene propiedades antisépticas, antimicrobianas y antimicóticas, siendo esta actividad biológica de mayor a menor: fenoles, aldehídos, cetonas y alcoholes. Los esfuerzos para encontrar correlación entre la

composición y bioactividad de los aceites esenciales no han sido totalmente dilucidados. Se presume que la actividad biológica de estos (AE) no está determinada por la cantidad de los monoterpenos, sino más por la tasa de proporcionalidad de los mismos (Mouhssen L, 2004).

La muña fue seleccionada para el estudio basándose en los criterios: Primero, planta que cuenta con un registro de actividad antifúngica contra hongos filamentosos dermatofitos de los géneros *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton* y contra hongos levaduriformes como es *Candida* o *Monilia*, tal como lo demuestra Cano C. en el 2007 en su estudio de Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* "muña" contra cepas de Hongos Filamentosos. Segundo por tener antecedentes de ser utilizada en otro tipo de afecciones dérmicas como heridas, con todos estos antecedentes cuenta con un gran potencial de efectividad para el tratamiento de la esporotricosis.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación se concluye:

1. Se aisló 7 cepas de pacientes con diagnóstico clínico de esporotricosis las cuales fueron certificadas como *Sporothrix schenckii* por el Instituto Nacional de Salud (INS)
2. Se obtuvo un rendimiento de 0,20% p/p de aceite esencial de *Minthostachys acris* Schmidt-Leb, recolectada del distrito de Lamay provincia Calca, Cusco.
3. El aceite esencial de *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. es un líquido ligeramente verde amarillento, de consistencia fluida, de sabor picante fresco y de olor aromático parecido al mentol. tiene un índice de refracción de 1,4871, una densidad relativa de 0,9334 y una rotación específica de +3.45.
4. El Aceite esencial de la muña contiene pulegona (38.64%) en mayor porcentaje, mentona (8.96%) y limoneno (0.75%), porcentajes identificados por cromatografía de gases (CG).
5. El aceite esencial de *Minthostachys acris* Schmidt-Leb., presenta efectos antimicóticos frente a las 7 cepas de *Sporothrix schenckii*; ambas fases del hongo son sensibles a partir del 10% (v/v) de concentración del aceite en comparación con la anfotericina B (1mg/ml), siendo la fase levaduriforme más susceptible que la fase micelial

RECOMENDACIONES:

1. Realizar trabajos in vivo con el aceite esencial de la muña para utilizarla como alternativa terapéutica contra *Sporothrix schenckii*.
2. Utilizar la Muña juntamente con los tratamientos sintéticos para ver la posible actividad sinérgica del AE, con los esquemas de tratamientos estandarizados.
3. Realizar ensayos usando a la muña como control biológico frente al hongo *Sporothrix schenckii* en áreas agrícolas donde hay mayor número de casos con esporotricosis.

BIBLIOGRAFÍA:

- Aguilar W. Detección de dermatofitos en los focos de *Sporothrix schenckii* H&P en la ciudad de Abancay. Informe de Tesis. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco. 1995.
- Anaissi EJ, MacGinnis MR, Pfaller MA. Clinical Micology. USA: Churchill Livingstone, 2003. 608p
- Ayats Ardite J. *Sporothrix schenckii*. Disponible en www.seimc.org/cpmtrp;/redy/Myco/esporo.htm . Fecha de consulta Junio 2012.
- Alexopoulos J. Introducción a la Micología. 2ª ed. España. Editorial Omega. 1985
- Arenas R. Atlas diagnóstico y tratamiento, micosis profundas. 2da. Edición. Mc. graw-Hill, Interamericana. 1996; 346-358.
- Arenas R. Sporotrichosis. In: Merz WG; Hay R, editors. Topley and Wilson's microbiology and microbial infections. 10th ed. London: Hodder-Arnold; 2005:367-384.
- Aronson EN. Disseminated sporotrichosis. JAMA 1992; 268: 2021-2022.
- Banchio E, Zygadlo J, Valladares GR. Quantitative variations in the essential oil of *Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb. In response to insects with different feeding habits. J Agric Food Chem. 2005 Aug 24;53(17):6903-6.
- Bonifaz A. Micología Médica Básica. 3ª ed. McGraw-Hill, 2010;p: 179-196.
- Bonifaz A, Vázquez-González D. Spporotrichosis: an overview. G Ital Dermatol Venereol 2010; 145:6509-6657
- Brancato FP. Golding NS. The Diameter of the Mold Colony as a Reliable measure of Growth. J of Mycol 1953 45:173-463
- Cabezas C., Bustamante B., Holgado W., Begue R. Tratamiento de esporotricosis cutánea con una dosis diaria de ioduro de potasio. Journal of Pediatric Infections Diseases. 1996; 15: 352 – 4.

- Cano C., Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). Lima. Informe de Tesis. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2007.
- Cano C. Contacto por e-mail. Fecha enero 2012.
- Castro E, Pacheco H., Juárez D, Lozano Z. Esporotricosis cutánea fija: reporte de un caso. *Dermatología Pediátrica Latinoamericana*. 2004; 2(1): 59-63.
- Centro Nacional de Salud Pública – Instituto Nacional de Salud (CNSP-INS), 1996. Diagnóstico en micosis subcutánea y profunda.
- Cerpa M. Hidrodestilación de aceites esenciales: Modelado y caracterización. Universidad de Valladolid. 2007;4:10-11.
- Costa H., Bravo F., Scavino Y, Bustamante B. Esporotricosis cutánea fija resistente a itraconazol. 2001; *Folia Dermatológica Peruana* - Vol. 12 • Nº.1 abril.
- Costa-Batlloori D. Antioxidantes naturales en alimentación animal. Conferencia inaugural del curso académico 2003-2004. Real Academia de ciencias Veterinarias. 2003.
Consultado el 30 de julio del 2012. Disponible en:
[www.racve.es/actividades/ciencias-basicas/2003-10-\)*PereCostaBatllori.htm](http://www.racve.es/actividades/ciencias-basicas/2003-10-)*PereCostaBatllori.htm)
- Datzung BG. Farmacología básica y Clínica. 8ª ed. México: El manual moderno, 2002. 1346p.
- De La Fuente J., Florez A., Indacochea S., Bustamante B., Holgado W. Esporotricosis en Abancay, Perú. *Revista Peruana de Epidemiología*. 1991; 4(1): 5-0.
- De Torres E., Mendoza M., De Medero. Coloración y montaje de cultivo en lámina de hongos. *Dermatología Venezolana*. 1998; vol. 26-Nos. 3 y 4.
- Dr Dukes's Phytochemical and Ethnobotanical Database
A phytochemical and ethnobotanical database compiled by Dr Jim Duke of the Agricultural research Service/USD. Disponible en www.ars.grin.gov/duke/8k.

Acceso el 23 de Julio de 2012

- Domínguez X. Métodos de Investigación fitoquímica. 3ª ed. México: Limusa S.A. 1985. P. 229-238.
- Donabedian H. et al. Disseminated cutaneous and meningeal sporotrichosis in an AIDS patient. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994. 18:111-115.
- Esporotricosis. Disponible en www.seime.org/control/revi-Micol/espore.htm
Fecha de consulta Junio 2012
- Fenner R, Sortino M, Rates SM, Dall'agnol R, Ferraz A, Bernardi AP, Albring D, Nor C, Von Poser G, Schapoval E, Zacchino S. Antifungal activity of some Brazilian Hypericum species. *Phytomedicine*. 2005 Mar; 12(3):236-40.
- Ferreti R., De Moraes C. Viabilidad, características morfológicas y capacidad dimórfica de hongos conservados según diferentes métodos. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2001; 18: 191-196.
- Fuertes RC, Munguía SY. Estudio Comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb muña de tres. regiones peruanas 45 pro. cromatografía de gases y espectrometría de masas. *Ciencia e Investigación*. 2001; 4(1):23-39.
- Gaitán I. Actividad de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii*. Informe de tesis. Universidad de San Carlos de Guatemala. 2005.
- García M., Urquiaga T., López N. Esporotricosis cutánea en el hospital regional de Cajamarca. *Revista Peruana de Dermatología*. 2001; Vol. 11 N° 2.
- García, R. Esporotricosis en la altura del Cusco - Perú. nueva zona endémica. experiencia de 11 años. 1999; *Folia Dermatológica Peruana* - Vol. 9 • N°.1-2 marzo-junio.
- García R., Figueroa Y., Ugarte G. El Caso Más Temprano de Esporotricosis pediátrica en el Perú. *Folia dermatológica Perú*. 2004; 15 (2): 105-107.
- Gezuele E, Da Rosa D. Relevancia del cuerpo asteroide esporotricósico en el diagnóstico rápido de la esporotricosis. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2005; 22: 147-150.
- Goodman y Gilman. Las bases Farmacológicas de la Terapéutica. 6ª ed. México: Interamericana 1985.

- Guarro J., J. Gene, and A. M. Stchiegel. Developments in fungal taxonomy. Clin. Microbiol. 1999. Rev. 12:454-500.
- Holechek S., Casquero J., Zurita S., Guevara J., Montoya Y. Variabilidad genética en cepas de *Sporothrix schenckii*. aisladas en Abancay, Perú. Revista Peruana Médica Experimental de Salud Pública. 2004; 21(2).
- Holgado W. Estudio de esporotricosis (*Sporothrix schenckii* H&P) En el centro médico santa teresa de Abancay-Apurímac Perú. Informe de tesis. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco. 1991
- Inga BA., Guerra MB. Efecto del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) contra algunas bacterias y hongos de interés en la Salud [Tesis de Licenciatura]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2000\
- INEI. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Abancay, Perú. 2000.
- INEI. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Abancay, Peru. 2001.
- Janssen AM, Scheffer JJC, Baerheim SA. Screening for antifungal activity of nineteen Latin American plants. Phitotherapy research 1998: 12:427-430.
- Kalemba D. y Kunicka A. Institute of general Food Chemistry, technical University of Lodz. Poland Institute of Fermentation Technology and Microbiology. Technical university of Lodz, Poland. Antibacterial and Antifungal properties of Essential Oils Current medicinal Chemistry, 2003, 10, 813-829.
- Kauffman C, Bustamante B, Chapman S, Pappas P. Clinical Practice Guidelines for the Management of Sporotrichosis: 2007 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases; 2007; 45: 1255-65.
- Kuklinski C, Farmacognosia, Editorial Omega, 2003, Barcelona, España.
- Lavalle P, Padilla M. Esporotricosis. Programa de actualización continua 2000: dermatología II. <http://www.galderma.com.mx/pac/Pa2/index.htm>Rev.
- Logemann H. Manual Práctico de Micología Médica. Guatemala: Bayer, 1995. 227p.

- López R., Reyes M., Sifuentes J., Toriello C. Micología (Fasc. III). Manuales departamentales. Facultad de Medicina, UNAM. 2005.
- Lock O. Investigación fotoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Lima. Fondo editorial PUCP. 1994. P. 23-34.
- Lovón M. Delgado S. Actividad antimicótica in vitro de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* L. Romero y de *Cinnamomum zeylanicum* B. Canela frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 evaluados por separado y en combinación. Tesis. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. 2011.
- Lyon G., Brandt M., Hajjeh R., Warnock D., Zurita S., Casquero J., Holgado W. Population – based surveillance and a case control study of risk for endemic lymphocutaneous sporotrichosis in Perú. *Clinical Infections Diseases*. 2003; 36:34 – 9.
- Macfaddin J. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3º edición. Editorial Médica Panamericana. 2004.
- Marimon R, Cano J, Gené J, Sutton DA, Kawasaki M, Guarro J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. *J Clin Microbiol*. 2007;45:3198-206.
- Mateus E., Lopes C., Nogueira T., Lourenco J. Curto M. Pilot Steam distillation of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from Portugal. *Silva Lusitana*. 2006; 14(2):203-217.
- Méndez L., Anides A., Peña G., Manzano P., López R., Hernández F., Almeida V. Esporotricosis cutánea fija incógnita. *Revista Iberoamericana de Micoogíl*. 2004; 21: 150-152.
- Mendoza M., Alvarado P., Díaz E., De Albornoz L., De Albornoz M. Comportamiento fisiológico y sensibilidad in vitro de aislamientos de *Sporothrix schenckii* Mantenidos 18 años por dos métodos de preservación. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2005; 22: 151-156.
- Mendoza M., Diaz E., Alvarado P., Romero E., Bastardo M. Aislamiento de *Sporothrix schenckii* Del medio ambiente en Venezuela. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2007; 24: 317-319.

- Mendoza M., Brito A, Schaper D, Spooner V, Alvarado P, Castro A, Fernández A, Evaluación de la técnica PCR anidada para el diagnóstico de la esporotricosis experimental. *Rev. Iberoam Micol.* 2012; 29(3): 120-125.
- Mesa Arango AC. Bueno Sánchez JG. Betancur Galvis LA. Productos naturales con actividad antimicótica. *Rev Esp Quimioterap.* 2004; 17(4):325-331.
- Miranda H. Características clínicas e incidencia de la esporotricosis palpebral: Comunicación de 16 casos nuevos. 2006; *Folia Dermatológica* - Vol. 17 N°1 enero - abril.
- Ministerio Nacional de Salud (MINSA). Abancay-Perú. 2010.
- Mouhssen Lahlou. Methods to study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential oils. *Phytother. Res.* 2004;18:435-448.
- Munguía R., Romo Y., Castañeda E., Velásquez M. Epidemiología de la esporotricosis en el municipio de Huauchinango, Puebla. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología.* 2007; vol. 27, núm. 2, abril-junio.
- Municipalidad Distrital de Lamay. 2012.
- Nobre M., DE Castro A., Caetano D., De Souza L., Meireles M., Ferreiro L. Recurrencia de esporotricosis en gatos con implicaciones zoonóticas. *Revista Iberoamericana de Micología.* 2001; 18: 137-140.
- Padilla M., Saucedo A. Esporotricosis de doble inoculación. comunicación de un caso. *Revista Central Dermatológica Pascua.* 2001; Vol. 10, Núm. 1.
- Padilla M., Siordia S., Novales J. Esporotricosis con involución espontánea. *Dermatología Revista Mexicana.* 2007; 51:14-19.
- Pagano M., Gauvreau K. *Fundamentos de bioestadística.* 2º edición. México. Editorial Thomson – Learning. 2001.
- Palacios Vaccaro. *Plantas Nativas Medicinales.* 1ª ed. Lima: Concytec. 1997.
- Pappas P., Tellez I., Deep A., Nolasco D., Holgado W., Bustamante B. Sporotrichosis in Perú: Description of an area of hyperendemicity. *Clinical Infections diseases.* 2000; 30: 65 – 70.
- Pérez T. Efectividad de los vapores de aceites de tomillo y orégano como agentes antibacterianos. Universidad de las Américas, Puebla. 2006.

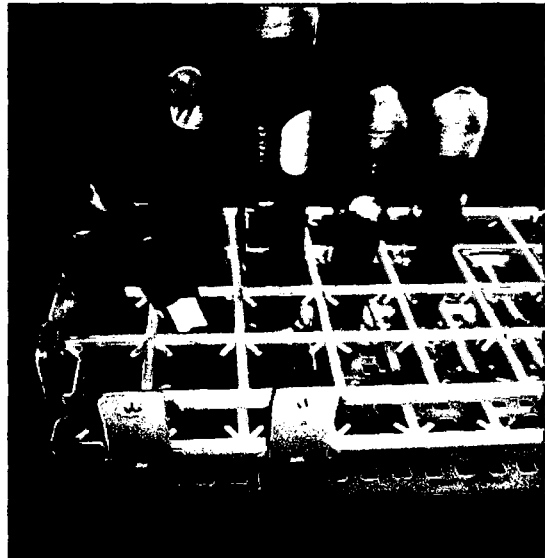
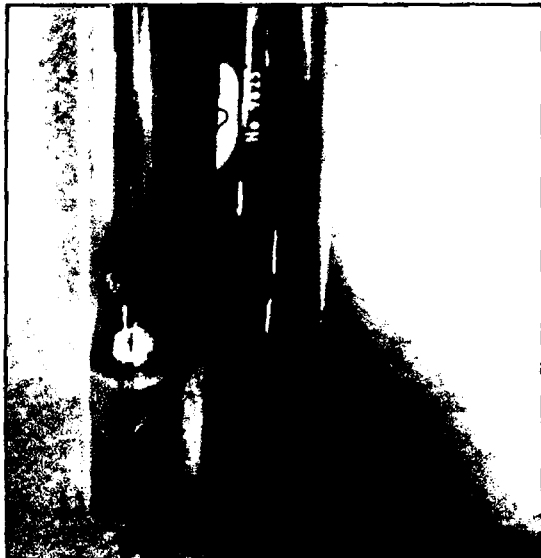
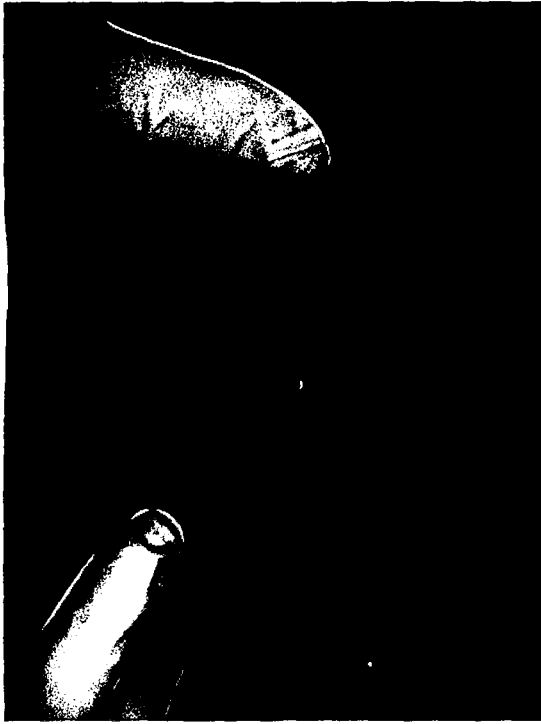
- Quiñones A., Alió A., Aranzazu N., Zerpa O., Cavallera E., Reyes O., Piquero J., Vielma H. Esporotricosis: presentación inusual. *Dermatología Venezolana*. 1998; 36: 101-104.
- Ramírez M., Andagua J., Lizarraga J., Aguilar E., Pezo J., Esporotricosis en pacientes que acuden a un centro médico de referencia, en Abancay, Perú: *Rev Perú Med Exp Salud Publica*. 2011; 28(3):508-12.
- Rivera M. Actividad de seis extractos de hierbas usadas medicinalmente contra *Fonsecaea padrosoi* y *Sporothrix schenckii*. Informe de tesis. Universidad de San Carlos De Guatemala. 2007.
- Rippon J. *Micología médica. hongos y actinomicetos patógenos*. 3ª ed. México: Editorial Interamericana. 1990
- Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants *J Ethnopharmacol*. 2003; 88 (2-3): 199–204
- Sabanero M., Tsutsumi V., Barbosa G., López E., Sandoval G. Interacción de levaduras DE *Sporothrix schenckii* con epitelios. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. Número 36, septiembre-diciembre. 2006
- Sánchez M., Araiza J., Bonifaz A. Aislamiento y caracterización de cepas silvestres de *Sporothrix Schenckii* e investigación de reactores a la esporotocina. *Gaceta Médica México*. 2004; Vol. 140 No. 5.
- Sassá MF, Saturi AE, Souza LF, Ribeiro LC, et al. Response of macrophage Toll-like receptor 4 to a *Sporothrix schenckii* lipid extract during experimental sporotrichosis. *Inmunology* 2009;128:301-309
- Saúl A. *Lecciones de dermatología*. 14ª ed. México: Méndez editores; 2010.
- Schmidt-Lebuhn. J. *Ethnopharm*. 2008; 118:343-353.
- Silva V., Zepeda G., Rybak M., Febré N. Portación de levaduras en manos de estudiantes de medicina. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2003; 20: 41-45.
- Smith CM, Reyard AM. *Farmacología*. Argentina: Médico panamericano, 1995. 1135p.

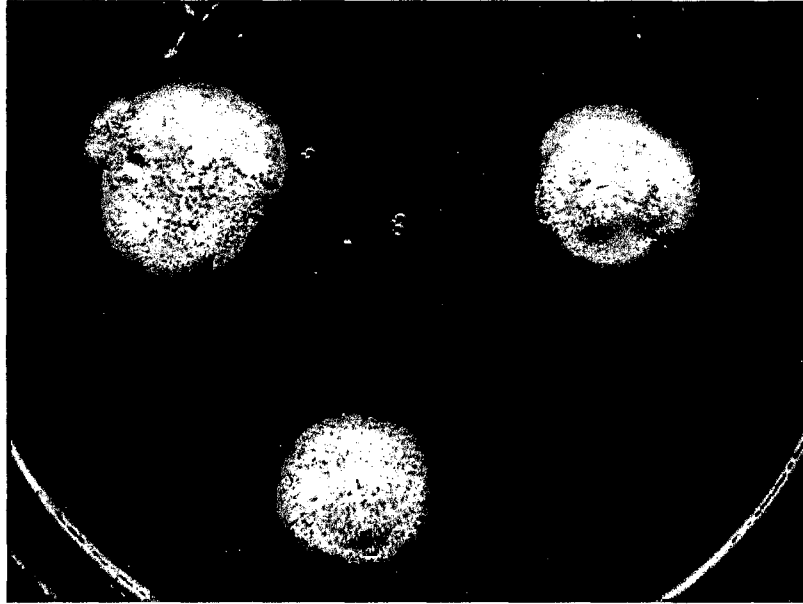
- Souza G., Vilela R., Fernandes G., Mendoza L. Esporotricosis cutánea y meníngea en un paciente con VIH. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2007; 24: 161-163.
- Stites D. et al. *Inmunología básica y Clínica*. 9ª ed. México: Manual Moderno, S.A. de C.V., 1998. 1080p.
- Takenaka M. Sato S. Nishimoto K. Survey of 200 cases of 155 sporotrichosis cases examined in Nagasaki Prefecture from 1951 to 2007 *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi* 2009;50:101-108.
- Teixidor JR et al. *Medicina Interna*, Barcelona: Masson, S.A. 1998. 1938p.
- Torres B., Vázquez E., González A. Efecto del Yoduro de potasio sobre la respuesta inmune en la esporotricosis. *Revista Iberoamericana de Micología*. 1997; 14: 98-100.
- Universidad Autónoma de México. México. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/bmnd/plm/mex/productos/9745.htm>
Acceso el 20 de febrero del 2012.
- Werner AH, Werner BE. Sporotrichosis in man and animal. *Int J Dermatol* 1994;33:692-700
- Zurita S. Diagnóstico en micosis sub cutánea y profunda. CNLSP-INS. 1996.
- Zamarripa A. *Sporothrix schenckii*: Aspectos bioquímicos y morfológicos. IV Congreso de Micología: Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de México (UNAM), Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guanajuato. México D.F. 2007.
- www.minthostachys.com

ANEXOS

ANEXO N° 01

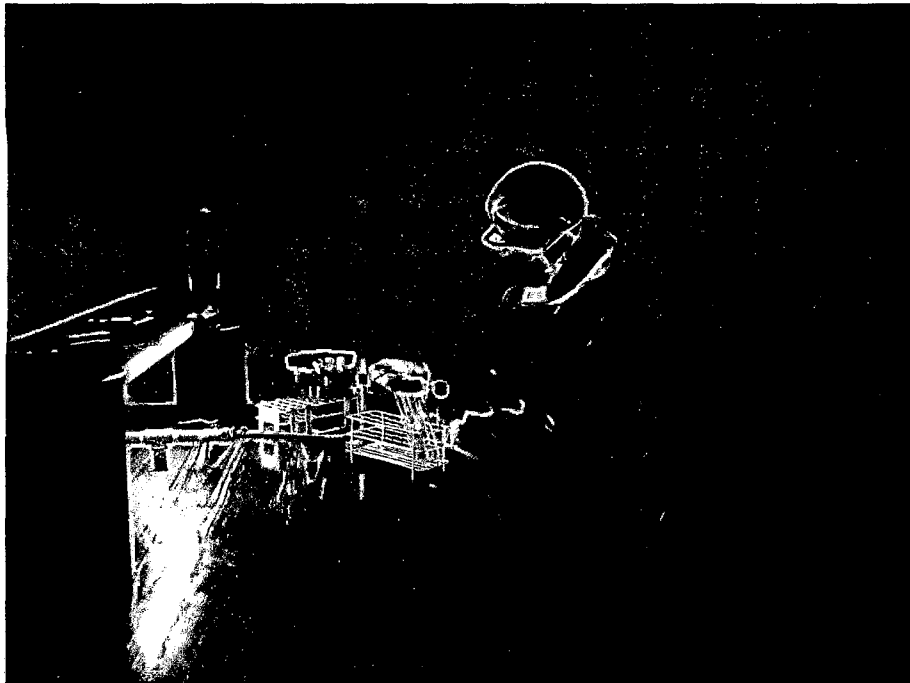
**IMÁGENES REPRESENTATIVAS DEL TRABAJO DE INVESTIGACION
TOMA DE MUESTRA**



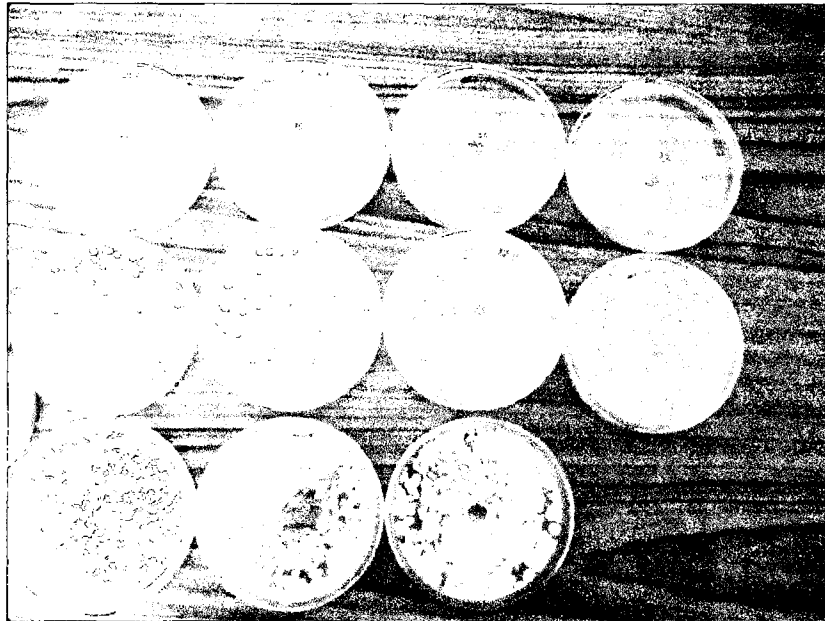


Sporothrix schenckii EN AGAR SABOURAUD CON CLORANFENICOL

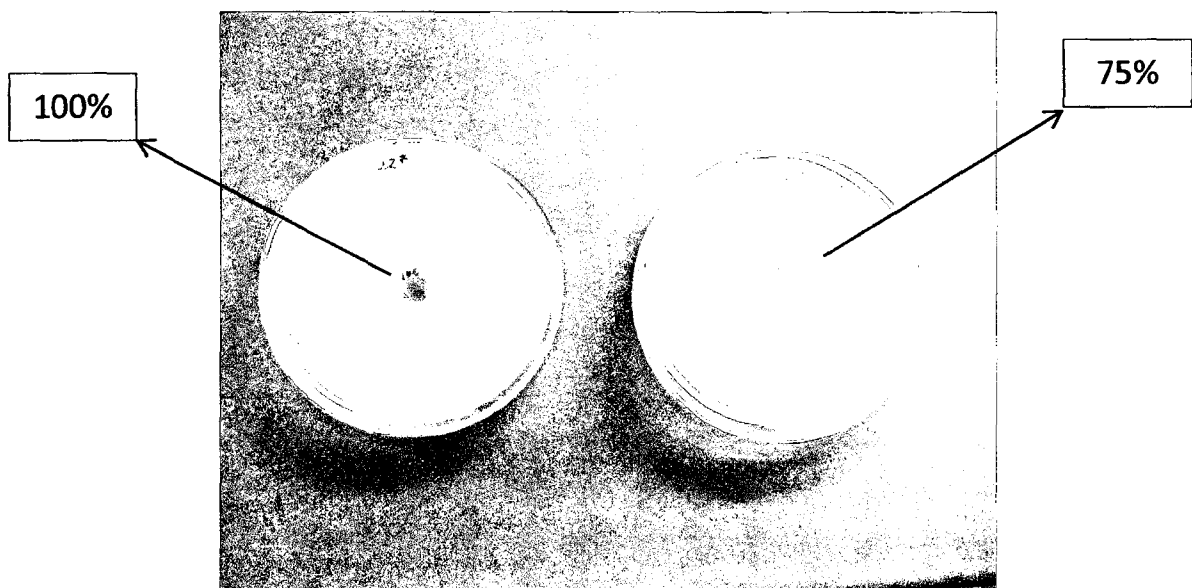
PROCEDIEMIENTO EXPERIMENTAL



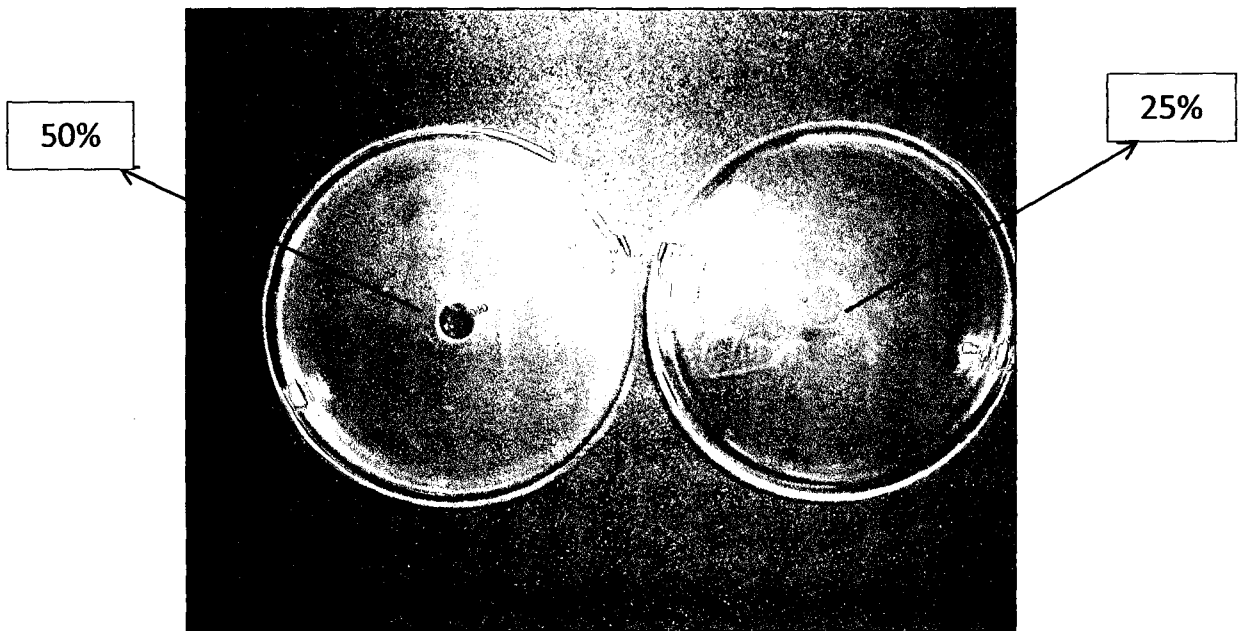
IMÁGENES DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL POR EL METODO DIFUSION EN AGAR



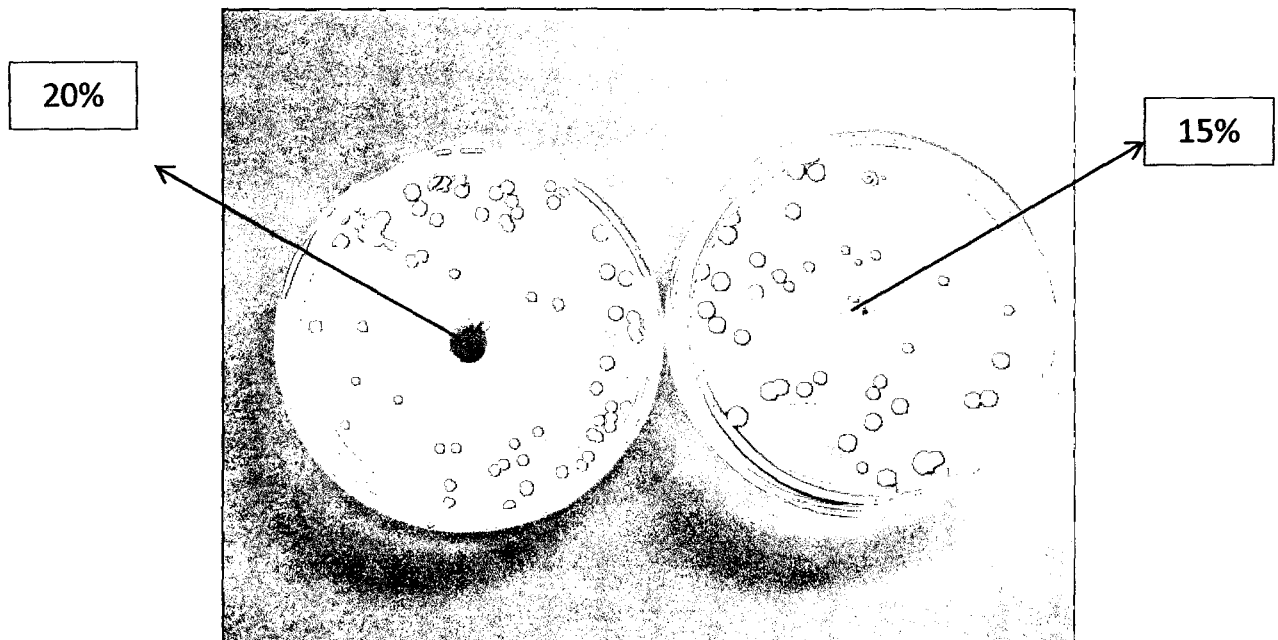
ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE MICELIAR DEL *Sporothrix schenckii*



ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE MICELIAR DEL *Sporothrix schenckii* A CONCENTRACIONES DE 100% Y 75%



ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE MICELIAR DEL *Sporothrix schenckii* A CONCENTRACIONES DE 50% Y 25%



ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE MICELIAR DEL *Sporothrix schenckii* A CONCENTRACIONES DE 20% Y 15%

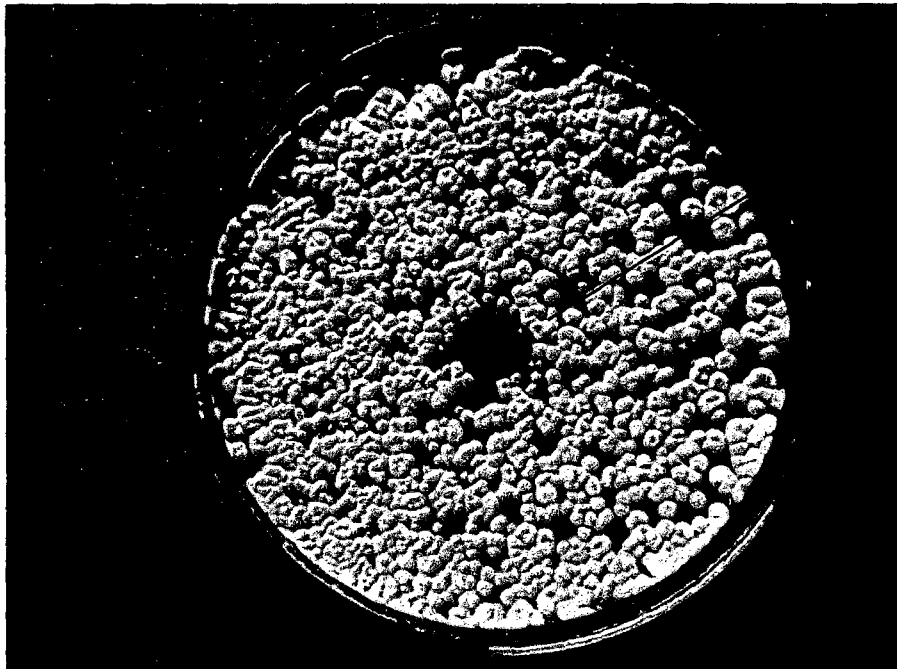
10%



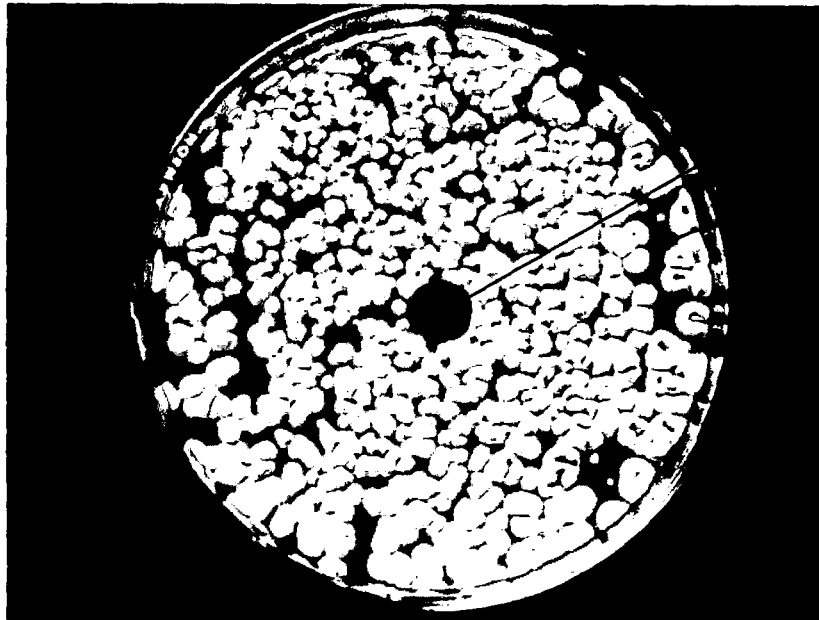
5%

ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA EN FASE MICELIAR DEL *Sporothrix schenckii* A CONCENTRACIONES DE 10% Y 5%

1%

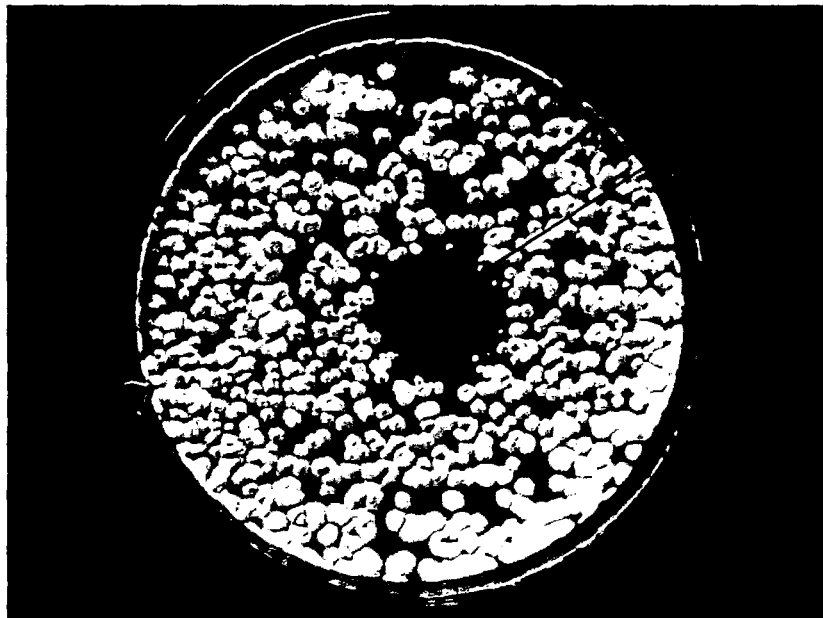


ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE MICELIAR DEL *Sporothrix schenckii* A CONCENTRACION DE 1%



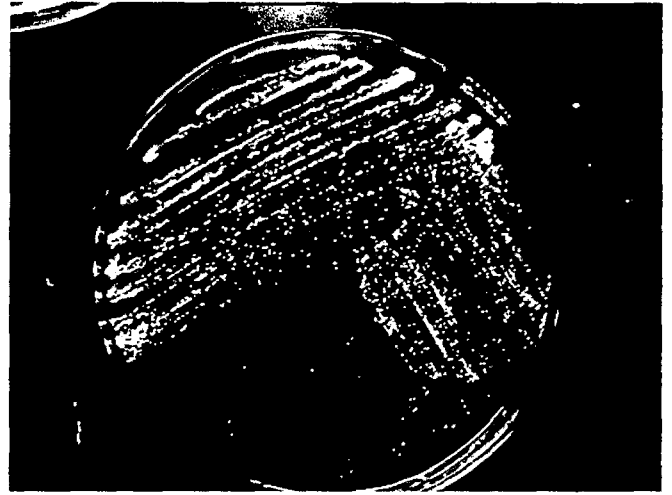
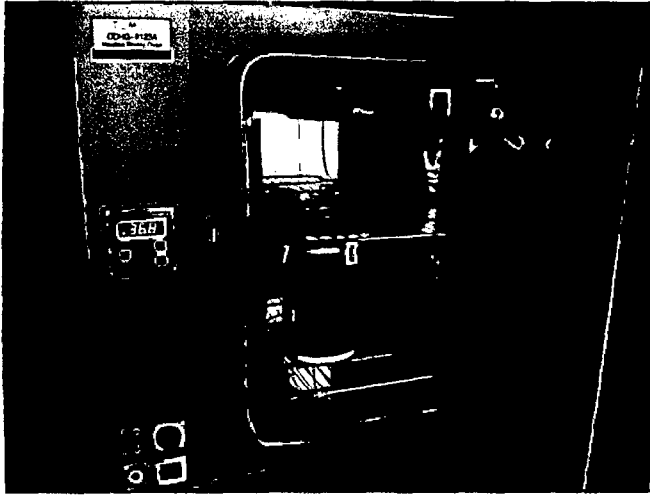
Etanol
50%

ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE MICELIAR DEL *Sporothrix schenckii*. CONTROL NEGATIVO CON ETANOL

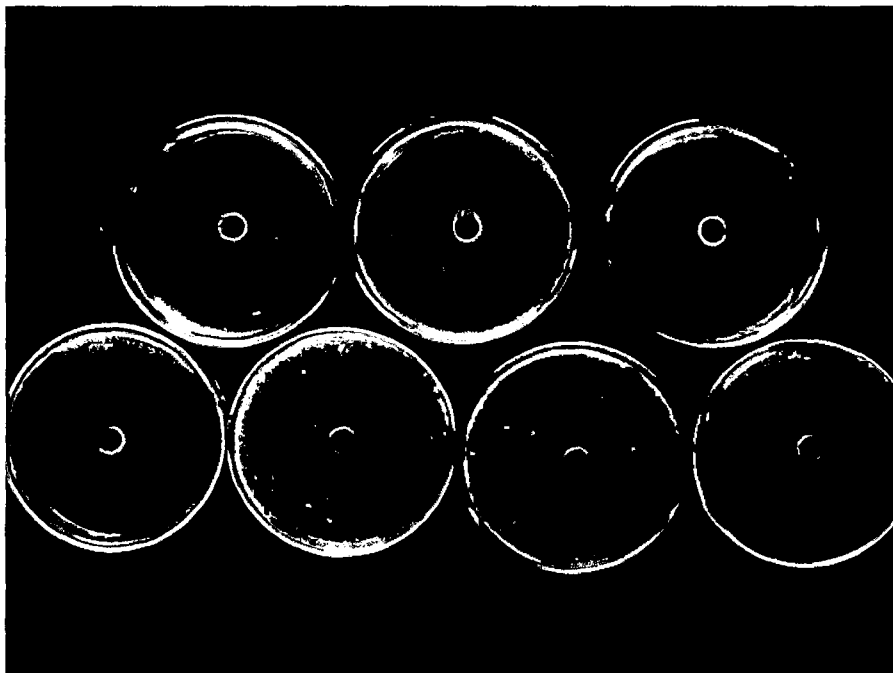


Anfotericina
B

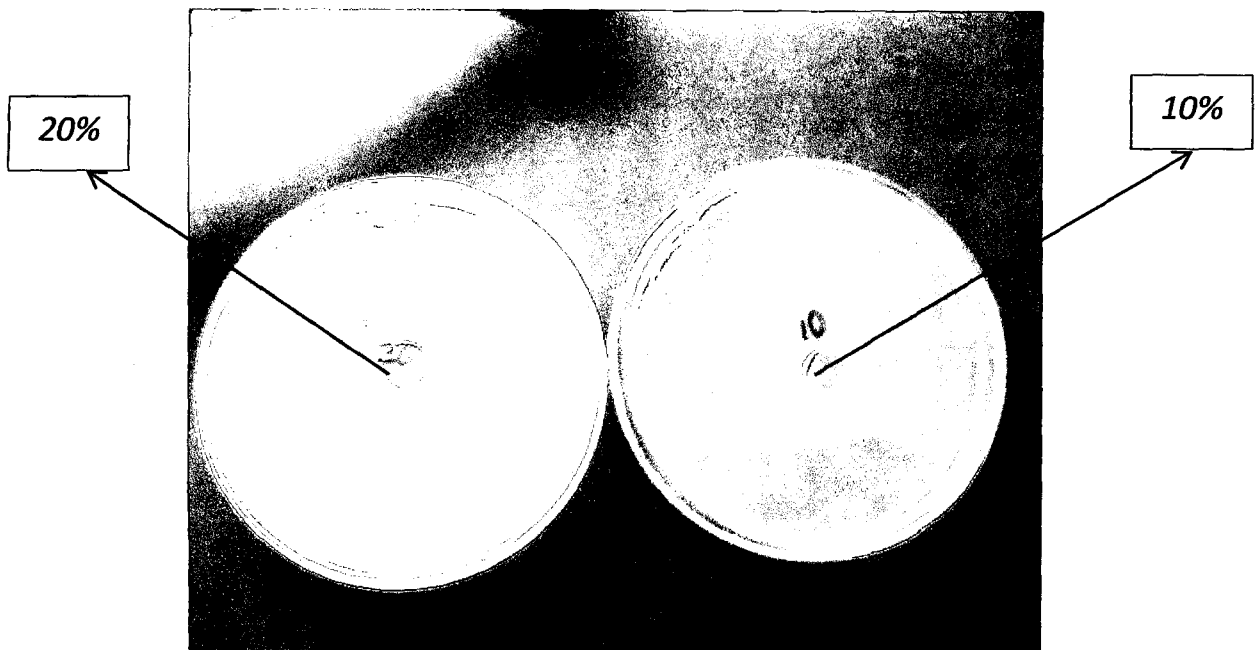
ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE MICELIAR DEL *Sporothrix schenckii*. CONTROL POSITIVO CON ANFOTERICINA B



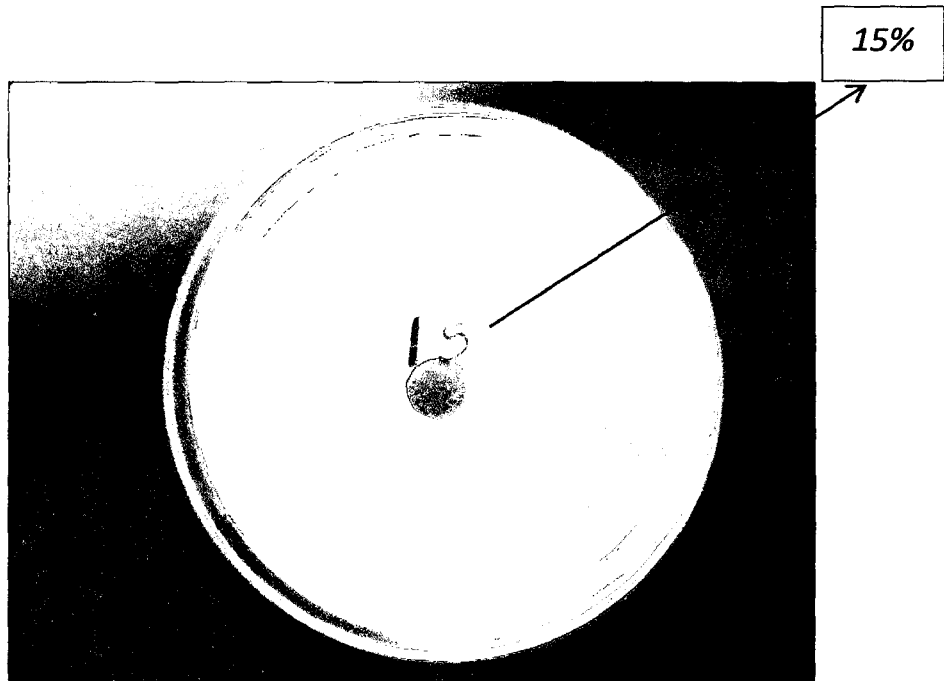
CONVERSION DE LA FASE MICELIAR DEL *Sporothrix schenckii* A SU FASE LEVADURIFORME EN AGAR BHI+5% DE SANGRE



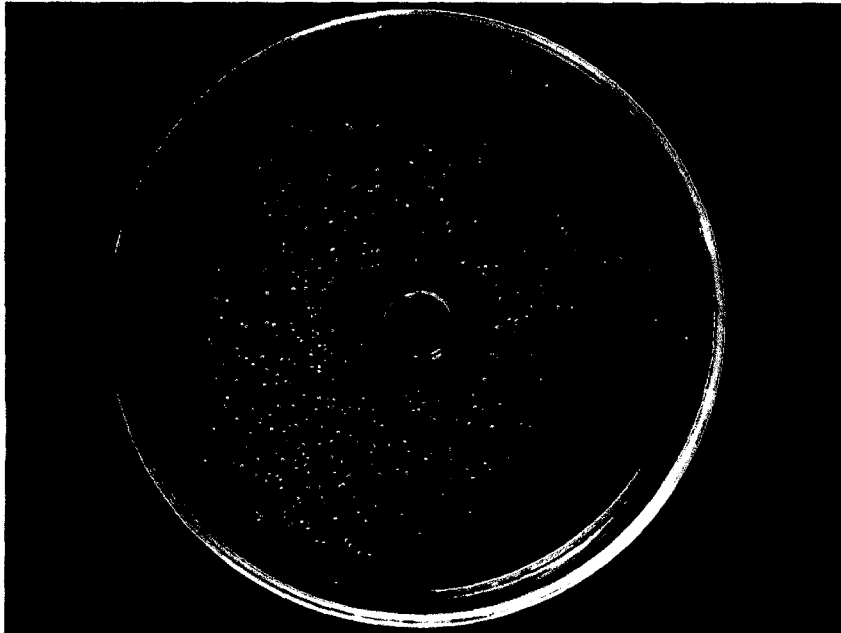
ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE LEVADURIFORME DEL *Sporothrix schenckii*.



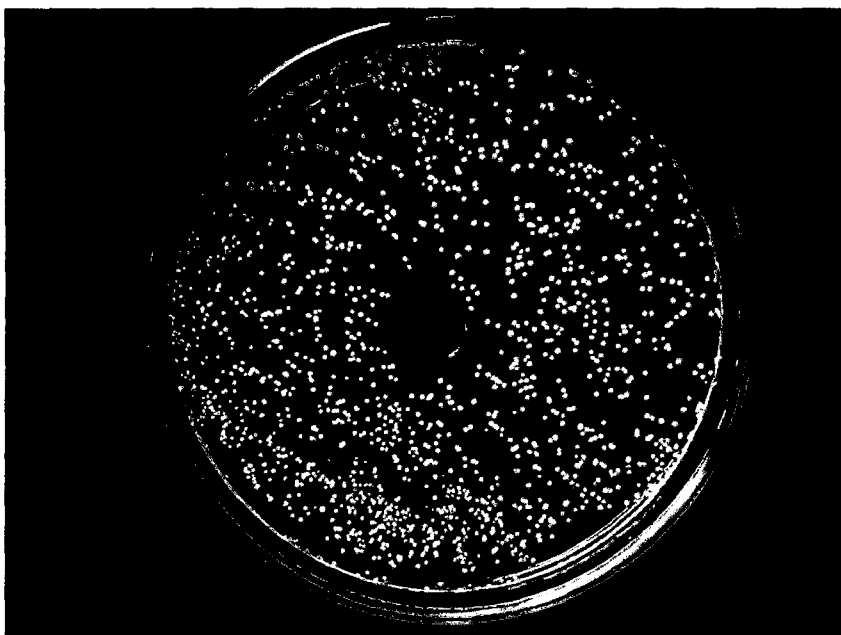
ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE LEVADURIFORME DEL *Sporothrix schenckii*. A CONCENTRACION DE 20% y 10%



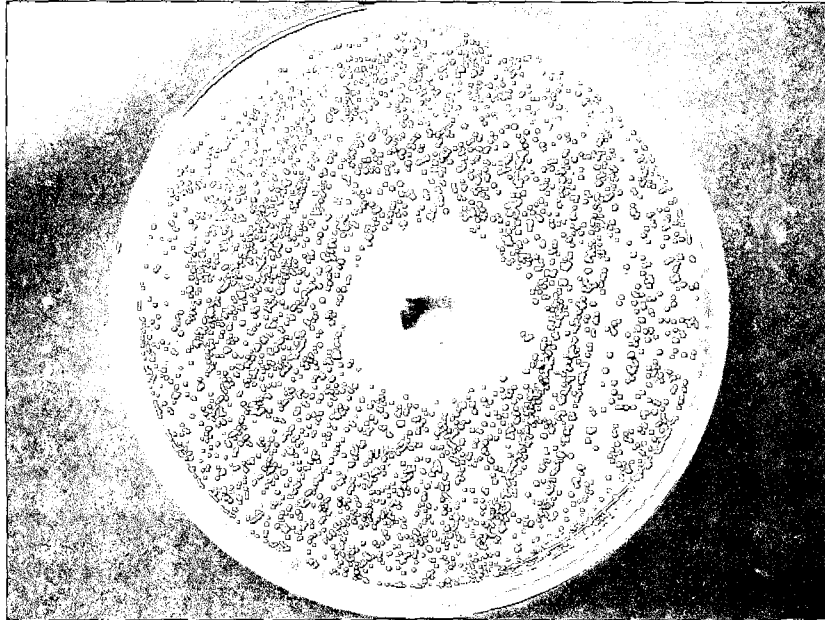
ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE LEVADURIFORME DEL *Sporothrix schenckii*. A CONCENTRACION DE 15%



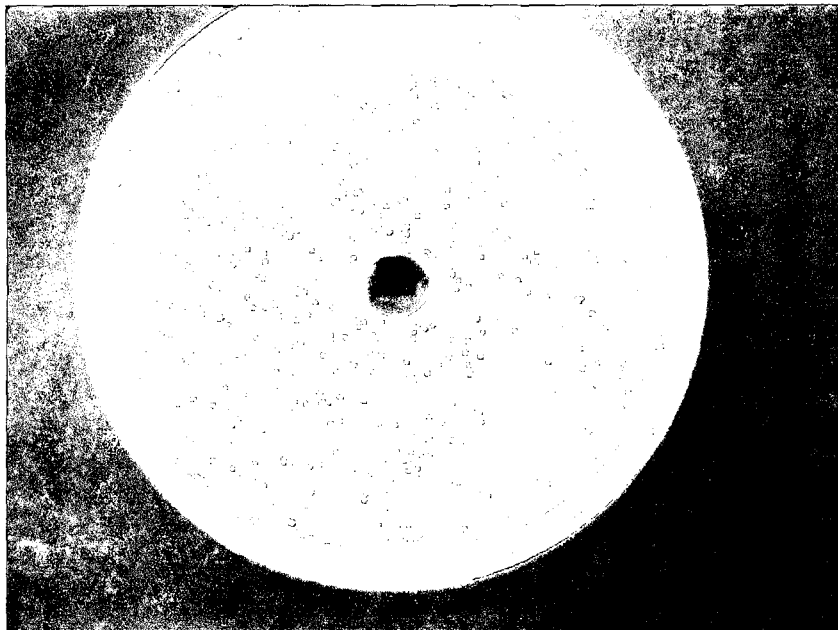
**ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE
LEVADURIFORME DEL *Sporothrix schenckii*. A CONCENTRACION DE 5%**



**ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE
LEVADURIFORME DEL *Sporothrix schenckii*. A CONCENTRACION DE 1%**



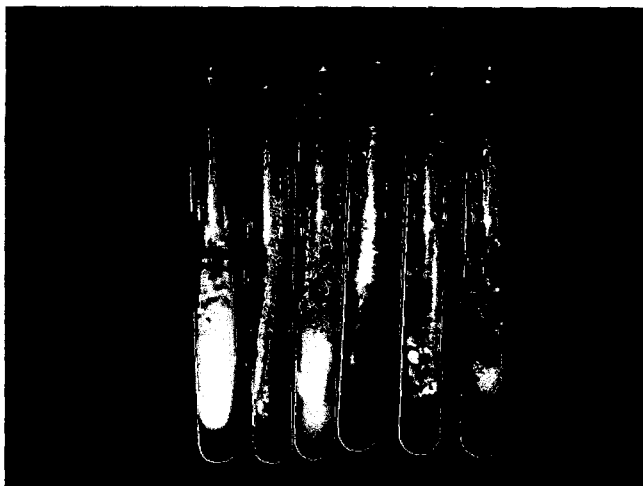
ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE LEVADURIFORME DEL *Sporothrix schenckii*. CONTROL POSITIVO CON ANFOTERICINA B



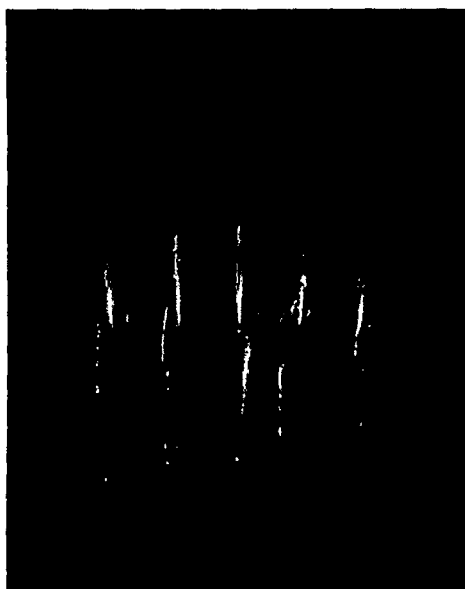
ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA EN FASE LEVADURIFORME DEL *Sporothrix schenckii*. CONTROL NEGATIVO CON ATANOL AL 50%

METODO DILUCION EN TUBO

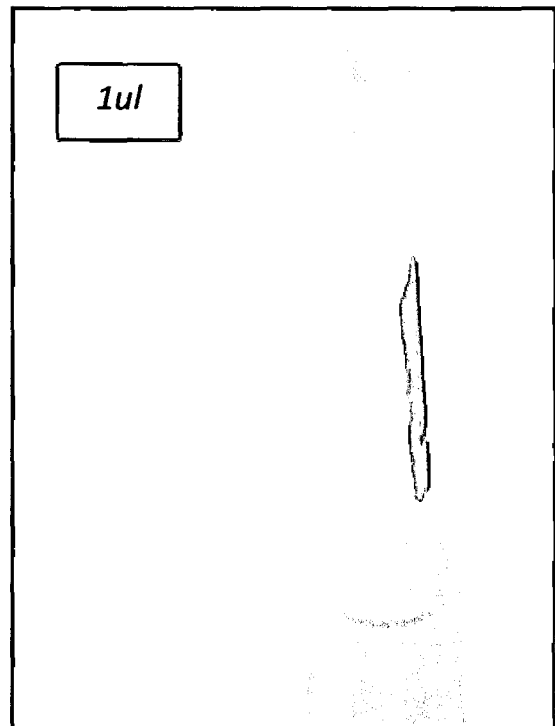
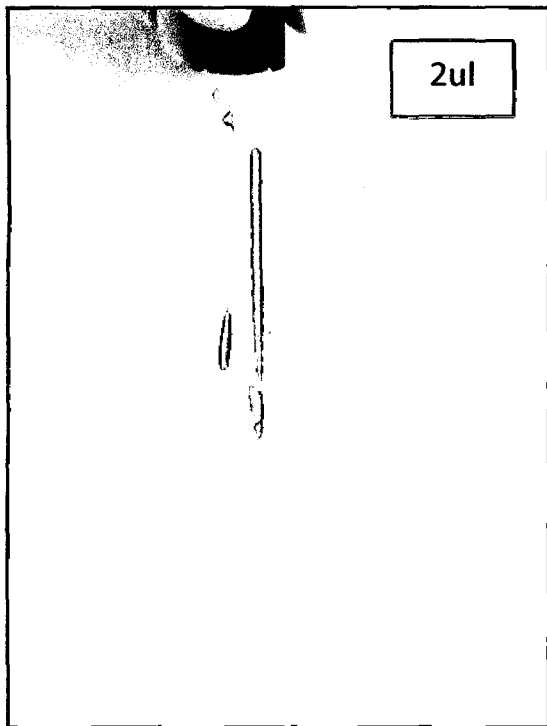
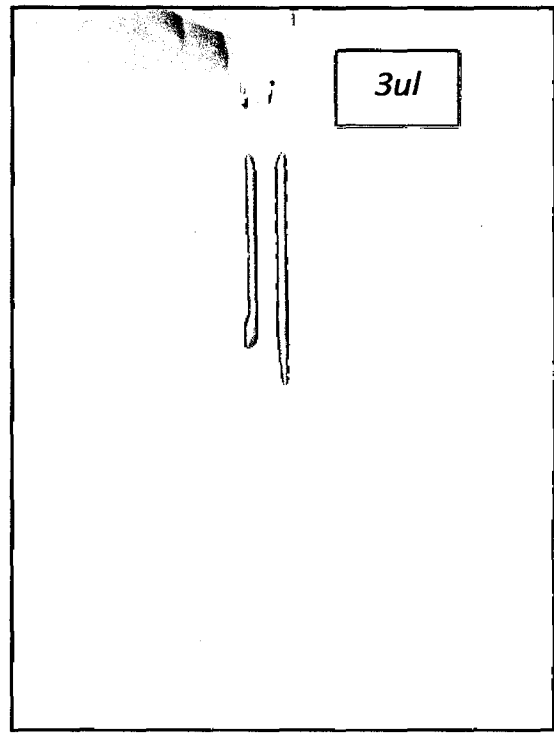
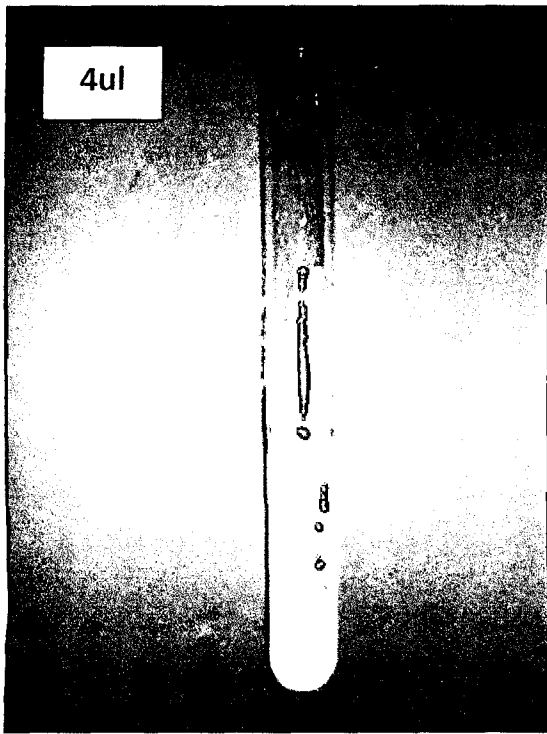
FASE MICELIAR



METODO DE DILUCION EN TUBO: MUESTRAS SIN ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA
Minthostachys acris* Schmidt-Leb. SOBRE *Sporothrix schenckii



METODO DE DILUCION EN TUBO: MUESTRAS CON ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA
Minthostachys acris* Schmidt-Leb. SOBRE *Sporothrix schenckii



METODO DE DILUCION EN TUBO: MUESTRAS CON ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. SOBRE *Sporothrix schenckii*

ANEXO N° 02



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

CERTIFICACION

El que suscribe, Profesor Investigador Asociado del Herbario Vargas (CUZ), certifica que los señorita Bachiller en Ciencias Biológicas: **María Milagros Dueñas Mendoza**, del código: 030460-A con DNI: 42770258 de la Facultad de Ciencias Biológicas. Ha sometido muestras botánicas colectadas para su determinación taxonómica las que al ser diagnosticadas y determinadas corresponden a la siguiente especie:

Nombre científico	Sub Tribu	Nombre común
<i>Minthostachys acris</i> Schmidt-Leb.	(Menthinae).	"muña"

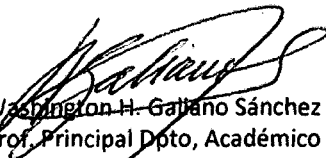
La misma que corresponden a la siguiente Clasificación (APG):

- clase: Equisetopsida C. Agardh
- subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- superorden: Asteranae Takht.
- orden: Lamiales Bromhead
- familia: Lamiaceae Martinov
- tribu: Mentheae
- Sub Tribu: Menthinae
- Género: *Minthostachys*
- Especie: *Minthostachys acris* Schmidt-Leb.

Que, corresponde al trabajo de tesis intitulado: ACTIVIDAD ANTIMICOTICA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. (LAMIACEAE) SOBRE *Sporothrix schenkii*

Se expide el presente certificación para los fines concernientes al caso.

Cusco, 12 de julio del 2012.


Washington H. Galiano Sánchez M. Sc.
Prof. Principal Dpto, Académico de Biología
Investigador Asociado al Herbario Vargas CUZ



ANEXO N° 03

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAJ DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS Y MATEMÁTICAS
LABORATORIO DE CROMATOGRFIA - Pabellón de Control de Calidad

CONSTANCIA DE ANALISIS

Los que suscriben, Responsables del Laboratorio de Cromatografía de la Facultad De Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, dejan Constancia.

Que la Bachiller: **MARIA MILAGROS DUEÑAS MENDOZA**, de la Carrera Profesional de Biología, ha presentado al Laboratorio de Cromatografía una muestra de aceite esencial de muña (*Minthostachys acris* Schmidt-Leb.) para su caracterización e identificación de componentes, resultados que formaran parte de la tesis intitulo "Actividad antimicótica in vitro del aceite esencial de la muña *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. (Lamiaceae) sobre *Sporothrix schenckii*". El aceite ha sido caracterizado utilizando el Cromatógrafo de Gases Agilent 6890N- acoplado a un Espectrómetro de Masas. La identificación se basó en la comparación de las señales del espectro de masas de cada componente con los datos compilados en la librería NIST05a.L. (Wiley).

Del análisis efectuado se reportan los siguientes componentes mayoritarios para los cuales se indican los tiempos de retención y la abundancia.

RT (min)	Area %	Library ID
4.924	1,40	σ-Cymene
4.983	0,75	Limonene
5.034	0,93	Eucalyptol
5.343	0,65	σ-Terpinen
5.749	2,26	Anthraquinone, 1-hydroxy-4-nitro
5.812	1	Linalol
6.641	1,17	Menthone
6.810	7,79	Menthone Isomero
6.958	2,51	Isopulegone
8.041	38,64	Pulegone
8.857	4,62	Thymol
10.037	0,73	(+)-4-Carene
11.851	2,27	Caryophyllene
13.830	1,95	α-Gurjunene
14.270	0,40	α-Murolene
14.489	1,31	ε-Cadinene, (+)-
25.196	0,60	Phthalic acid, isobutyl octyl ester

Se expide la siguiente constancia a solicitud de la interesada para los fines que viera por conveniente.

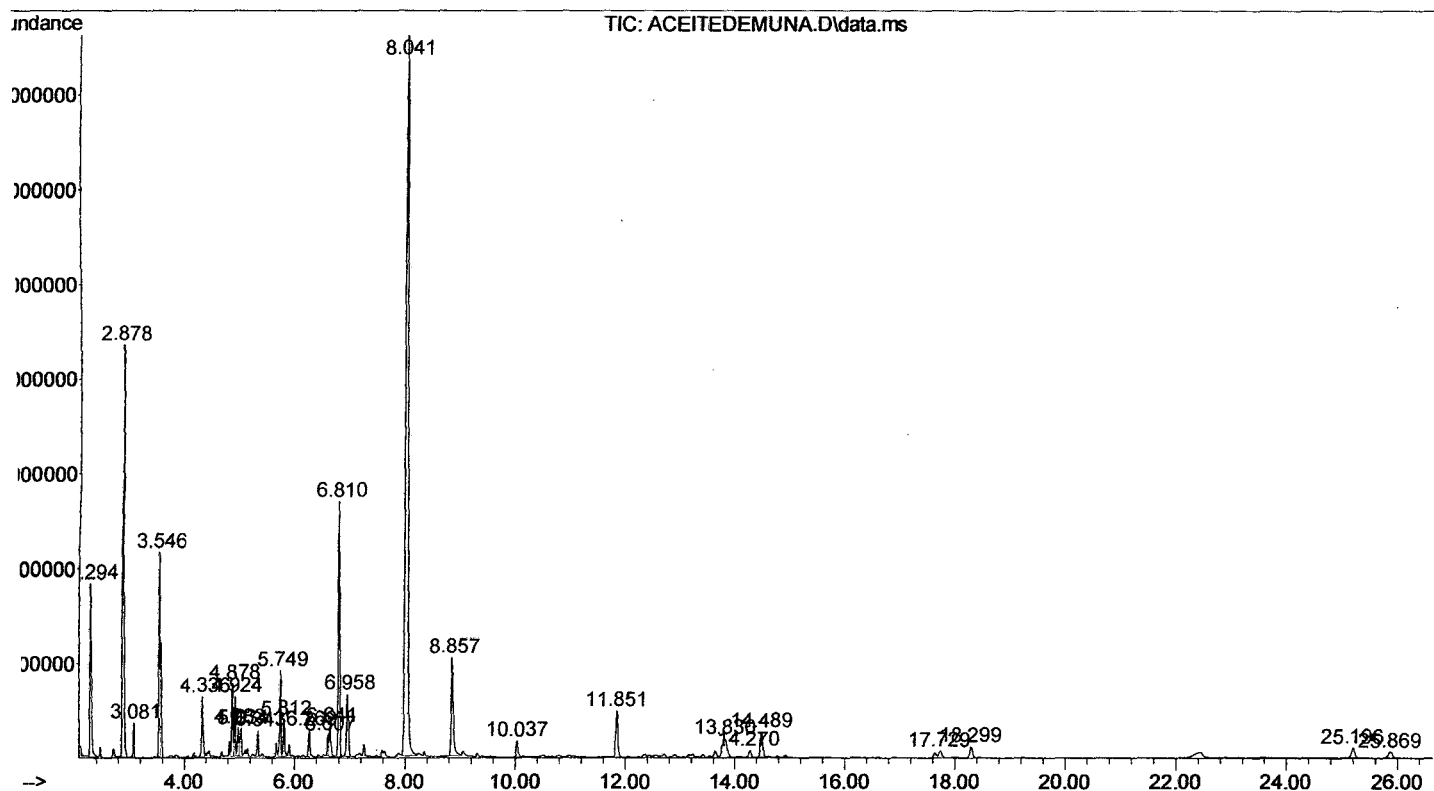
Cusco, 27 de Agosto del 2011.

Oco. Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía -
UNSAAC.

Mgt. Nancy Accostupa Quispe
Analista del Laboratorio de Cromatografía -
UNSAAC.

ENTREGADO el 7 AGO. 2011

:D:\DATA MSD\pesticidas\ACEITEDEMUNA.D
ator : NBAQ
ired : 27 Aug 2011 9:56 using AcqMethod ACEITE ESENCIAL.M
ment : UNSSAC
le Name: MunaT
Info :
umber: 8



Name: Scan 671 (4.924 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms

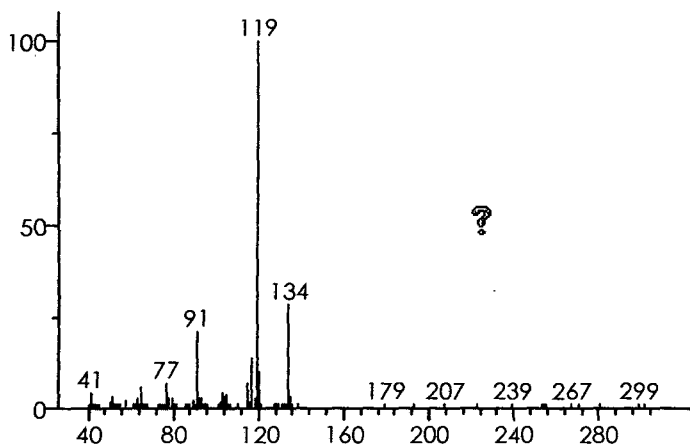
MW: N/A ID#: 197 DB: Text File

Comment: MunaT

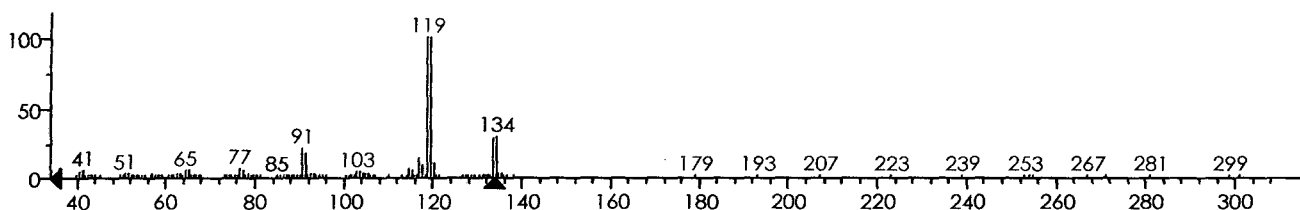
10 largest peaks:

119	999	134	279	91	209	117	134	120	98
115	66	77	65	65	56	103	42	41	39

Synonyms:



no synonyms. (Text File) Scan 672 (4.928 min): ACEITEDEMUNA.D\data.ms



▲ Scan 672 (4.928 min): ACEITEDEMUNA.D | Side by Side MF=973 RMF=982 | ▼ Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-

Name: Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-

Formula: C₁₀H₁₄

MW: 134 CAS#: 527-84-4 NIST#: 232297 ID#: 15946 DB: replib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, EPA, HODOC, NIH, EINECS, IRDB

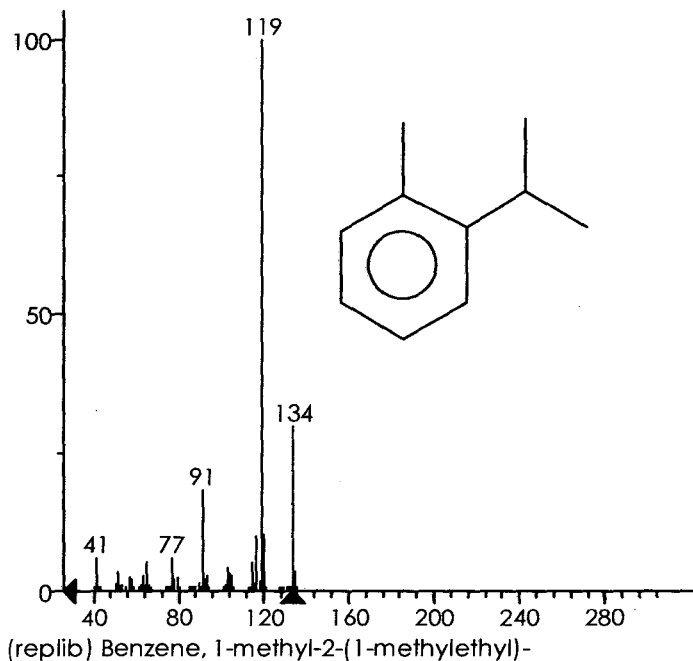
Contributor: Japan AIST/NIMC Database- Spectrum MS-NW-5332

10 largest peaks:

119	999	134	293	91	178	120	99	117	95
41	59	77	57	65	52	115	50	39	50

Synonyms:

- 1.o-Cymene
- 2.o-Cymol
- 3.o-Isopropyltoluene
- 4.1-Isopropyl-2-methylbenzene
- 5.1-Methyl-2-isopropylbenzene
- 6.2-Isopropyltoluene
- 7.1-Methyl-2-(1-methylethyl)-benzene
- 8.Cymene, ortho
- 9.UN 2046



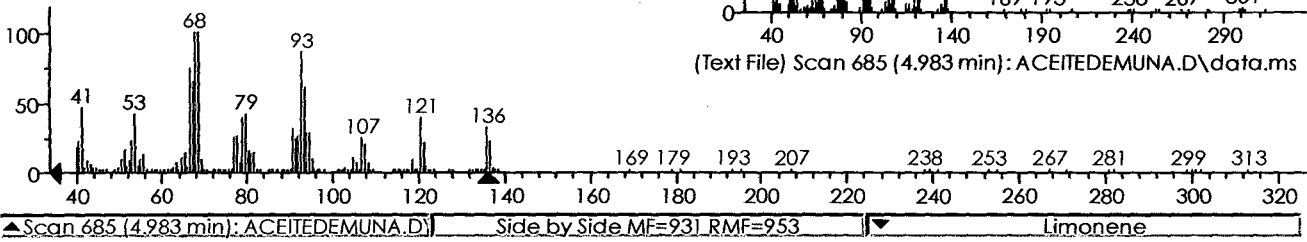
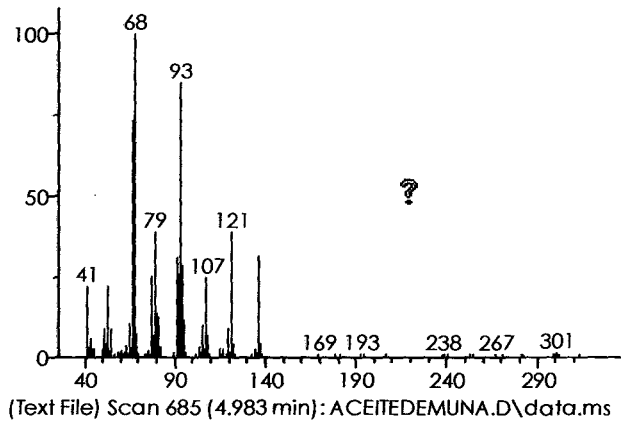
Name: Scan 685 (4.983 min): ACEITEDEMUNA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 198 DB: Text File

Comment: MunaT

10 largest peaks:

68 999	93 847	67 729	121 385	79 383
136 310	91 305	94 282	92 254	77 247



Name: Limonene

Formula: C₁₀H₁₆

MW: 136 CAS#: 138-86-3 NIST#: 64032 ID#: 7399 DB: replib

Other DBs: TSCA, RTECS, EPA, HODOC, NIH, EINECS, IRDB

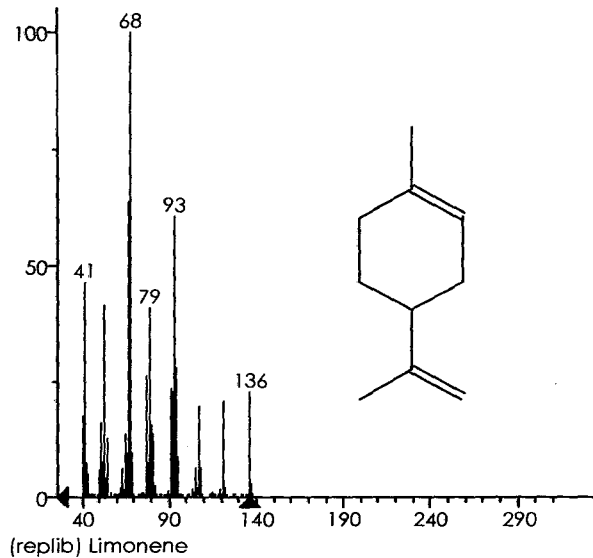
Contributor: D.HENNEBERG, MAX-PLANCK INSTITUTE, MULHEIM, WEST GERMANY

10 largest peaks:

68 999	67 637	93 603	39 578	41 463
53 414	79 407	27 397	94 278	77 261

Synonyms:

1. Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-
2. p-Mentha-1,8-diene
3. α-Limonene
4. Cajeputen
5. Cajeputene
6. Cinen
7. Cinene
8. Dipenten
9. Dipentene
10. Eulimen
11. Kautschin
12. Limonen
13. Nesol
14. p-Mentha-1,8(9)-diene
15. ß-1,8-Terpodiene
16. p-Mentha-1,8-diene, dl-
17. Acintene dp dipentene
18. Di-p-mentha-1,8-diene
19. DL-Limonene
20. Inactive limonene
21. 1-Methyl-4-isopropenyl-1-cyclohexene
22. 1,8(9)-p-Menthadiene
23. 4-Isopropenyl-1-methyl-1-cyclohexene
24. Acintene dp
25. Dipanol
26. UN 2052
27. Unitene
28. 4-Isopropenyl-1-methylcyclohexene
29. 1,8-p-Menthadiene
30. 1-Methyl-4-(1-methylethenyl)cyclohexene
31. 1-Methyl-4-isopropenylcyclohexene
32. Carvene
33. Dipentene
34. (ñ)-Limonene
35. Achilles dipentene
36. Limonene, cajeputene



Name: Scan 697 (5.034 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 199 DB: Text File

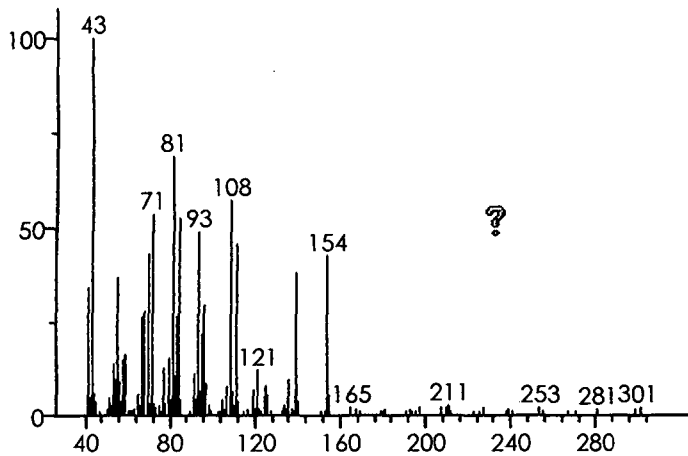
Comment: MunaT

10 largest peaks:

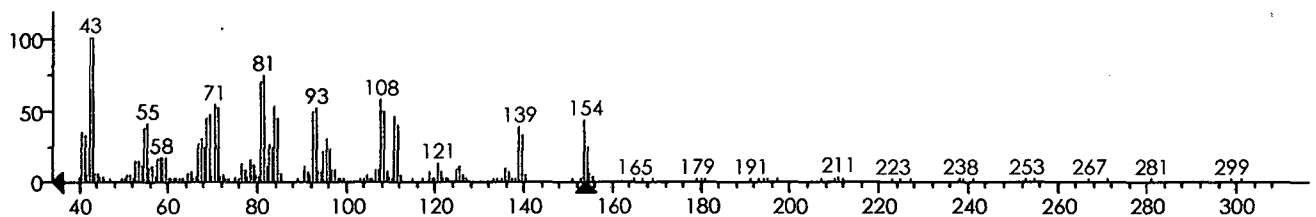
43 999	81 685	108 567	71 534	84 519
93 486	111 451	69 429	154 422	139 372

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 697 (5.034 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms



▲ Scan 697 (5.034 min): ACEITEDEMUÑA.D Side by Side MF=942 RMF=988 ▼ Eucalyptol

Name: Eucalyptol

Formula: C₁₀H₁₈O

MW: 154 CAS#: 470-82-6 NIST#: 290612 ID#: 2574 DB: replib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, EPA, USP, HODOC, NIH, EINECS, IRDB

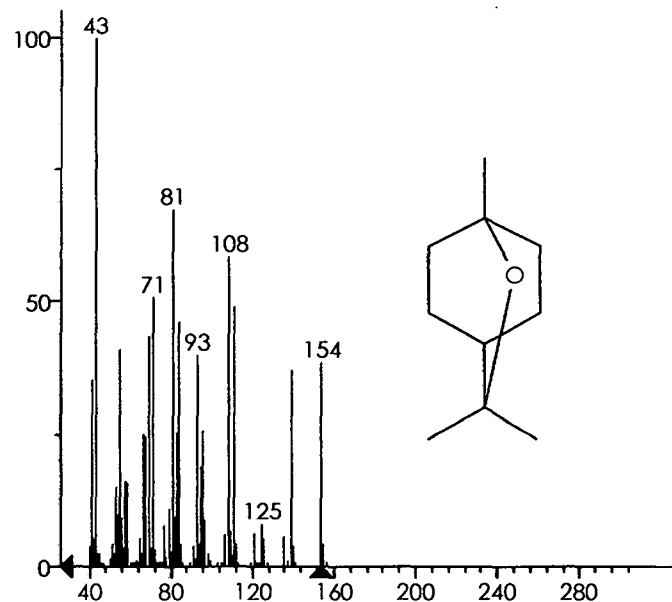
Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center, 1998.

10 largest peaks:

43 999	81 672	108 580	71 504	111 486
84 458	69 431	55 407	93 394	154 382

Synonyms:

1. Cineole
2. 2-Oxabicyclo[2.2.2]octane, 1,3,3-trimethyl-
3. p-Menthane, 1,8-epoxy-
4. p-Cineole
5. Cajeputol
6. Cucalyptol
7. Eucapur
8. Terpan
9. Zedoary oil
10. Zineol
11. 1,3,3-Trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octane
12. 1,8-Cineole
13. 1,8-Epoxy-p-menthane
14. 2-Oxa-1,3,3-trimethylbicyclo[2.2.2]octane
15. CINEOL
16. Eucalyptole
17. Limonene oxide
18. NCI-C56575
19. 1,8-Cineol
20. 1,8-Oxido-p-menthane
21. Eukalyptol



(replib) Eucalyptol

Name: Scan 770 (5.343 min): ACEITEDEMUNA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 200 DB: Text File

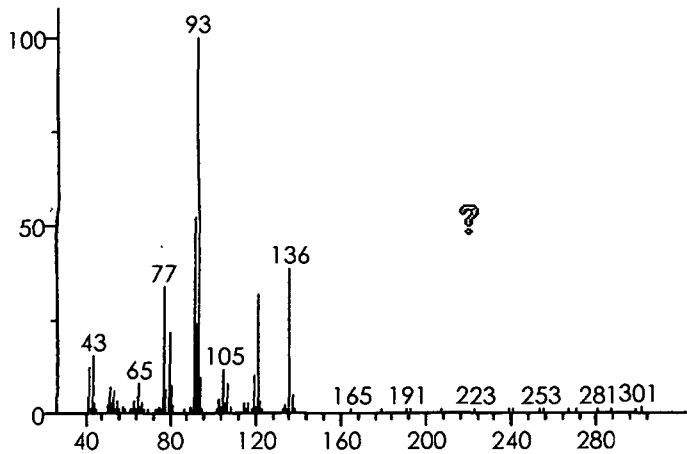
Comment: MunaT

10 largest peaks:

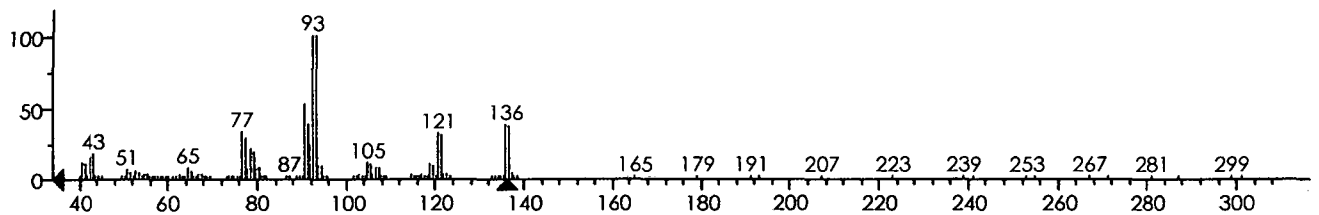
93 999 | 91 518 | 136 379 | 77 330 | 121 314 |
92 234 | 79 213 | 43 148 | 41 118 | 105 112 |

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 770 (5.343 min): ACEITEDEMUNA.D\data.ms



▲ Scan 770 (5.343 min): ACEITEDEMUNA.D | Side by Side MF=969 RMF=988 | ▼ 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-

Name: 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-

Formula: C₁₀H₁₆

MW: 136 CAS#: 99-85-4 NIST#: 239106 ID#: 51634 DB: mainlib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, HODOC, NIH, EINECS

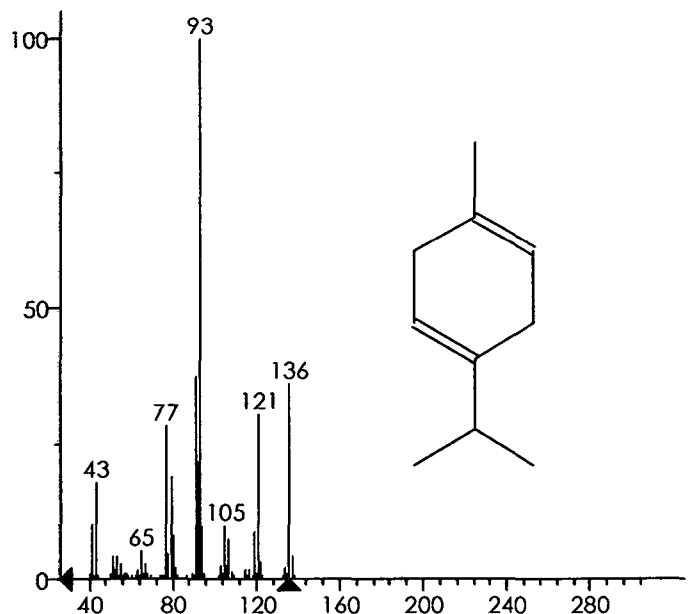
Contributor: Japan AIST/NIMC Database- Spectrum MS-NW-9657

10 largest peaks:

93 999 | 91 372 | 136 358 | 121 303 | 77 281 |
92 214 | 79 185 | 43 175 | 41 99 | 105 97 |

Synonyms:

1. α -Terpinen
2. β -Terpinene
3. p-Mentha-1,4-diene
4. Crithmene
5. Moslene
6. 1-methyl-4-(1-methylethyl)-1,4-cyclohexadiene
7. Terpinene, α
8. 1-Methyl-4-isopropyl-1,4-cyclohexadiene
9. 1-Methyl-4-isopropylcyclohexadiene-1,4
10. 1,4-p-Menthadiene
11. 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-isopropyl-
12. 4-Isopropyl-1-methyl-1,4-cyclohexadiene
13. Gamma terpinene
14. 1-Isopropyl-4-methyl-1,4-cyclohexadiene #



(mainlib) 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-

Name: Scan 869 (5.761 min): ACEITEDEMUNA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 203 DB: Text File

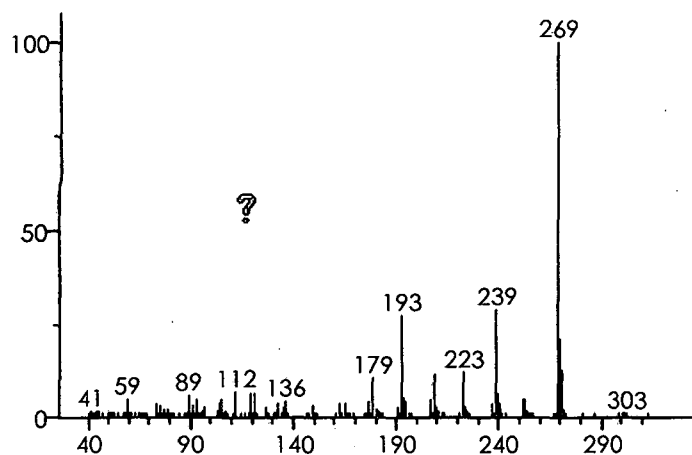
Comment: Munat

10 largest peaks:

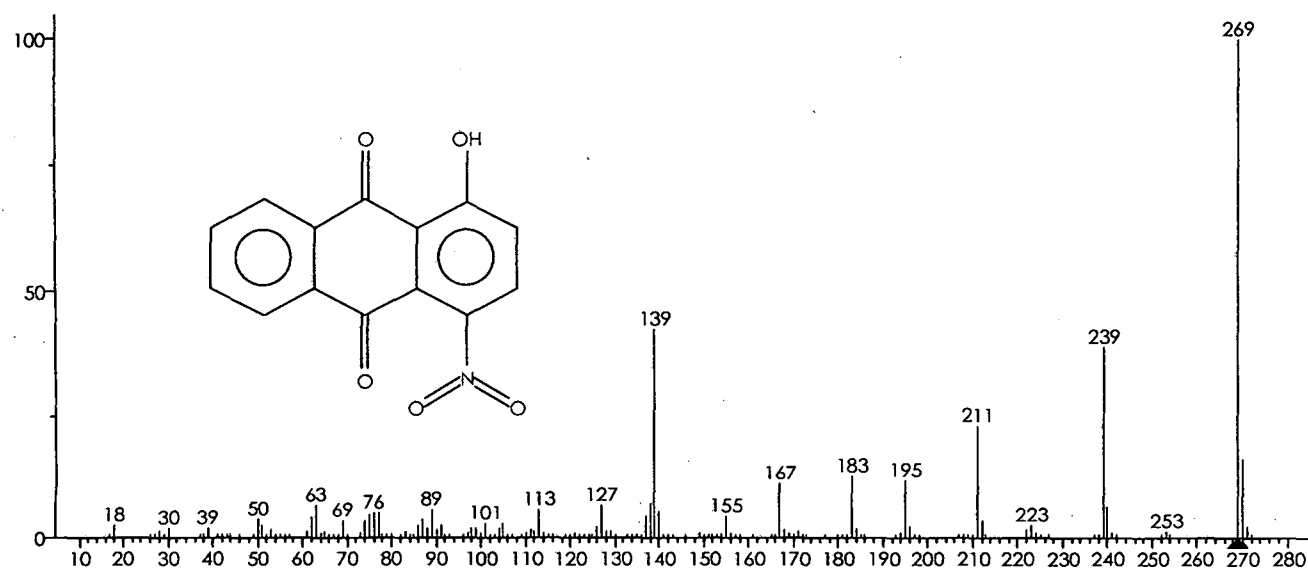
269 999 | 239 283 | 193 268 | 270 209 | 271 122 |
223 118 | 209 114 | 179 103 | 112 64 | 240 62 |

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 869 (5.761 min): ACEITEDEMUNA.D\data.ms



(mainlib) Anthraquinone, 1-hydroxy-4-nitro-

Name: Anthraquinone, 1-hydroxy-4-nitro-

Formula: C₁₄H₇NO₅

MW: 269 CAS#: 81-65-2 NIST#: 237145 ID#: 145175 DB: mainlib

Other DBs: NIH

Contributor: Japan AIST/NIMC Database- Spectrum MS-IW-3661

10 largest peaks:

269 999 | 139 422 | 239 385 | 211 227 | 270 159 |
183 125 | 195 117 | 167 110 | 138 69 | 127 66 |

Synonyms:

1.1-Hydroxy-4-nitroanthraquinone

2,9,10-Anthracenedione, 1-hydroxy-4-nitro-

3.1-Hydroxy-4-nitroanthra-9,10-quinone #

Name: Scan 881 (5.812 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 204 DB: Text File

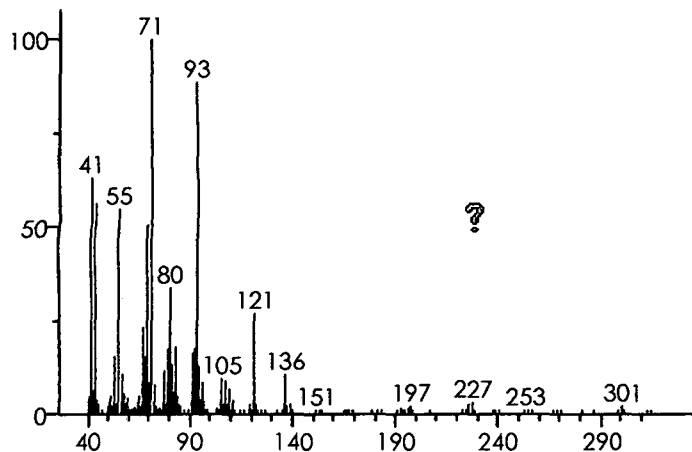
Comment: MunaT

10 largest peaks:

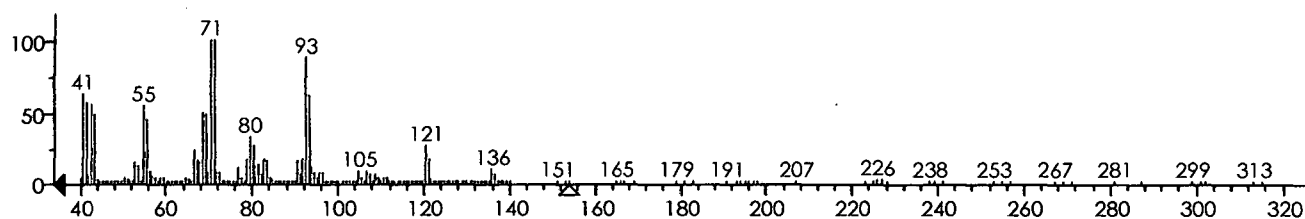
71 999	93 880	41 625	43 558	55 540
69 500	80 331	121 263	67 229	83 174

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 881 (5.812 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms



Scan 881 (5.812 min): ACEITEDEMUÑA.D | Side by Side MF=941 RMF=986 | 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-

Name: 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-

Formula: C₁₀H₁₈O

MW: 154 CAS#: 78-70-6 NIST#: 43962 ID#: 8161 DB: replib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, NIH, EINECS, IRDB

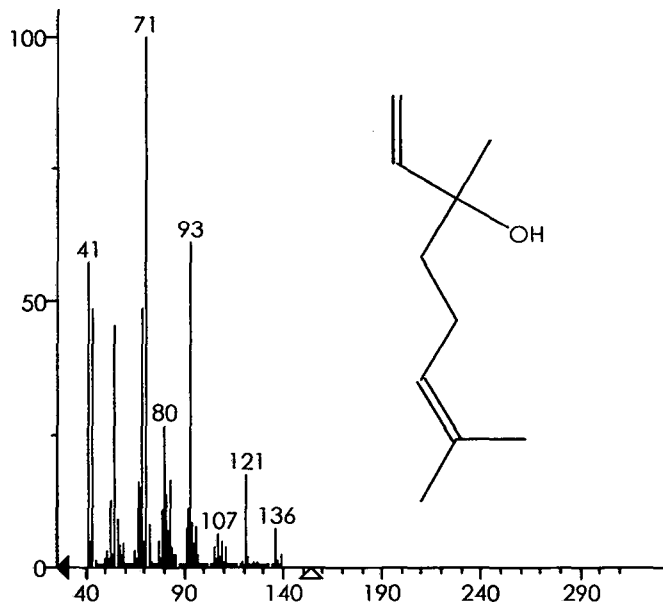
Contributor: G.BRAMMER, UNIVERSITY OF TEXAS

10 largest peaks:

71 999	93 609	41 569	69 482	43 482
55 450	80 262	121 173	83 161	67 159

Synonyms:

1. α-Linalool
2. Linalol
3. Linalool
4. Linalyl alcohol
5. 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol
6. allo-Ocimenol
7. p-Linalool
8. Linolool (d)
9. 2,6-Dimethyl-2,7-octadiene-6-ol
10. 2,6-Dimethylocta-2,7-dien-6-ol
11. 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol
12. 3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-ol
13. Linolool
14. b-Linalool
15. Linanool
16. 3,7-Dimethyl-octa-1,6-dien-3-ol
17. dl-3,7-Dimethyl-3-hydroxy-1,6-octadiene
18. Linalool ex bois de rose oil
19. Linalool ex ho oil
20. Linalool ex orange oil
21. Phantol
22. Linalyl oxide



(replib) 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-

Name: Scan 1077 (6.641 min): ACEITEDEMUNA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 208 DB: Text File

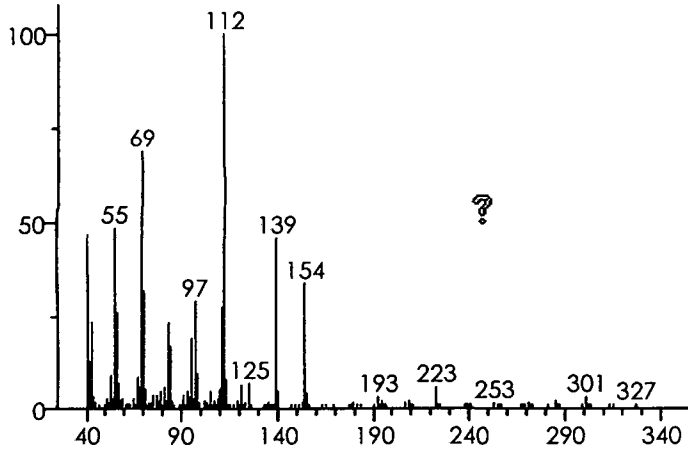
Comment: MunaT

10 largest peaks:

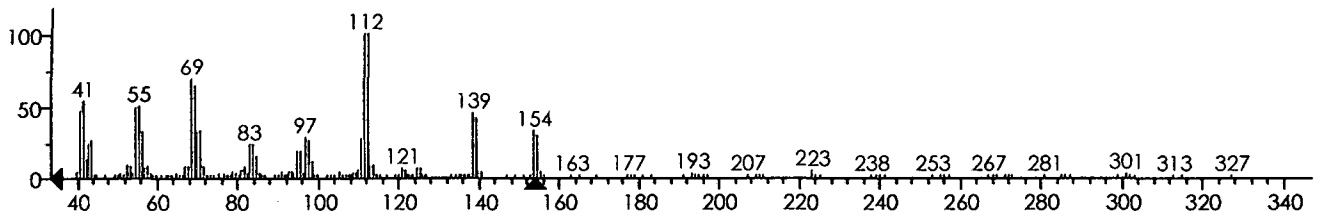
112 999 | 69 683 | 55 477 | 41 463 | 139 452 |
154 330 | 70 312 | 97 284 | 111 268 | 56 256 |

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 1077 (6.641 min): ACEITEDEMUNA.D\data.ms



▲ Scan 1077 (6.641 min): ACEITEDEMUNA.D Side by Side MF=899 RMF=992 ▼ Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-

Name: Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-

Formula: C₁₀H₁₈O

MW: 154 CAS#: 10458-14-7 NIST#: 188210 ID#: 15090 DB: replib

Other DBs: Fine, NIH, EINECS, IRDB

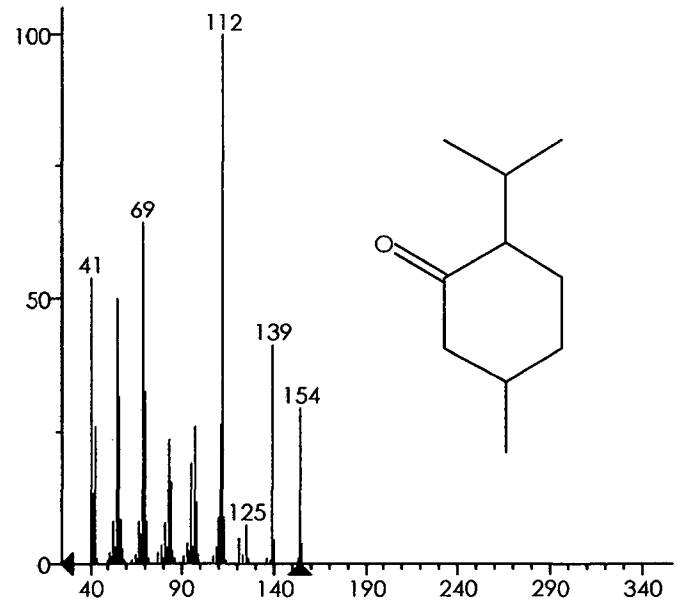
Contributor: Chemical Concepts

10 largest peaks:

112 999 | 69 640 | 41 535 | 55 498 | 139 411 |
70 324 | 56 313 | 154 290 | 111 261 | 97 255 |

Synonyms:

- 1. p-Menthane-3-one
- 2. Menthone
- 3. 2-Isopropyl-5-methylcyclohexanone
- 4. dl-Menthone
- 5. p-Menthaneone
- 6. 5-Methyl-2-(isopropyl)cyclohexanone
- 7. 5-Methyl-2-(1-methylethyl)cyclohexanone
- 8. l-Menthone



(replib) Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-

Name: Scan 1117 (6.810 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 209 DB: Text File

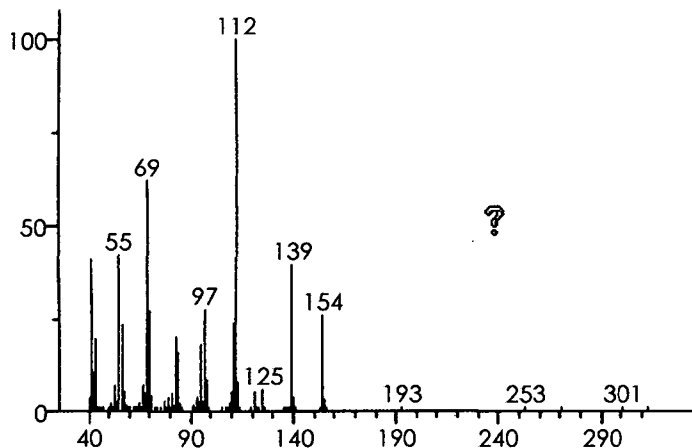
Comment: MunaT

10 largest peaks:

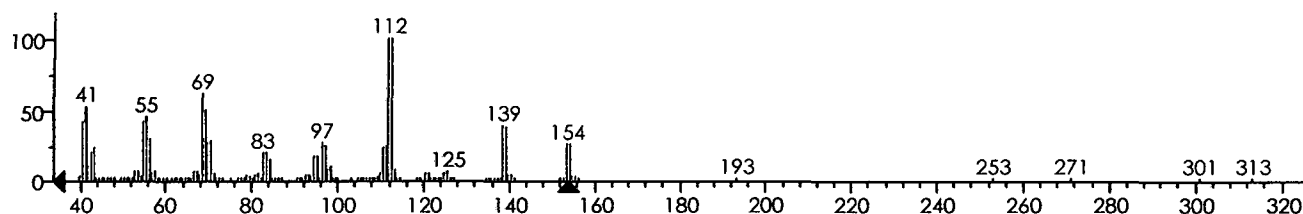
112 999	69 616	55 415	41 405	139 389
97 270	70 265	154 256	111 235	56 230

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 1117 (6.810 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms



▲ Scan 1117 (6.810 min): ACEITEDEMUÑA.D Side by Side MF=993 RMF=994 ▼ Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-

Name: Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (2S-trans)-

Formula: C₁₀H₁₈O

MW: 154 CAS#: 14073-97-3 NIST#: 232361 ID#: 67676 DB: mainlib

Other DBs: TSCA, HODOC, EINECS

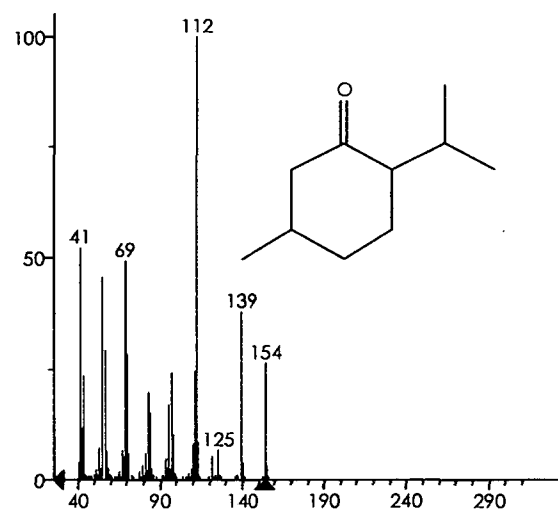
Contributor: Japan AIST/NIMC Database- Spectrum MS-NW-5153

10 largest peaks:

112 999	41 516	69 489	55 450	139 374
56 288	70 280	154 258	111 243	97 239

Synonyms:

1.2-Isopropyl-5-methylcyclohexanone #



(mainlib) Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (2S-1

Name: Scan 1152 (6.958 min): ACEITEDEMUNA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 210 DB: Text File

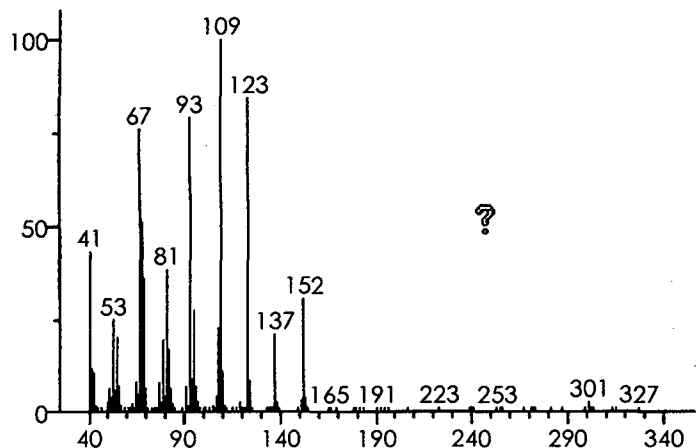
Comment: MunaT

10 largest peaks:

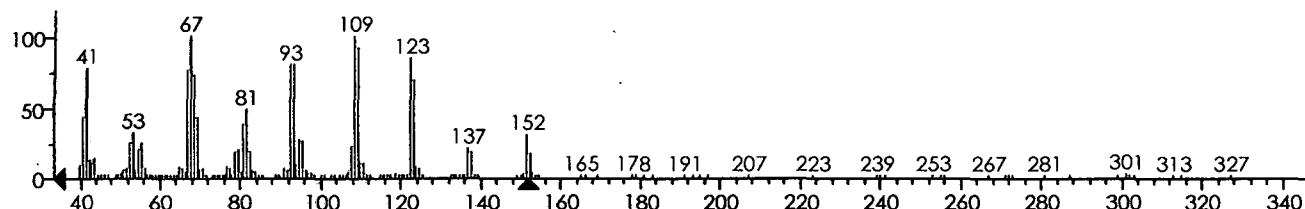
109 999	123 838	93 788	67 759	68 507
41 427	81 377	69 355	152 302	95 270

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 1152 (6.958 min): ACEITEDEMUNA.D\data.ms



▲ Scan 1152 (6.958 min): ACEITEDEMUNA.D Side by Side MF=964 RMF=982 ▼ Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, trans-

Name: Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, trans-

Formula: C₁₀H₁₆O

MW: 152 CAS#: 29606-79-9 NIST#: 156786 ID#: 7307 DB: replib

Other DBs: RTECS, HODOC, EINECS

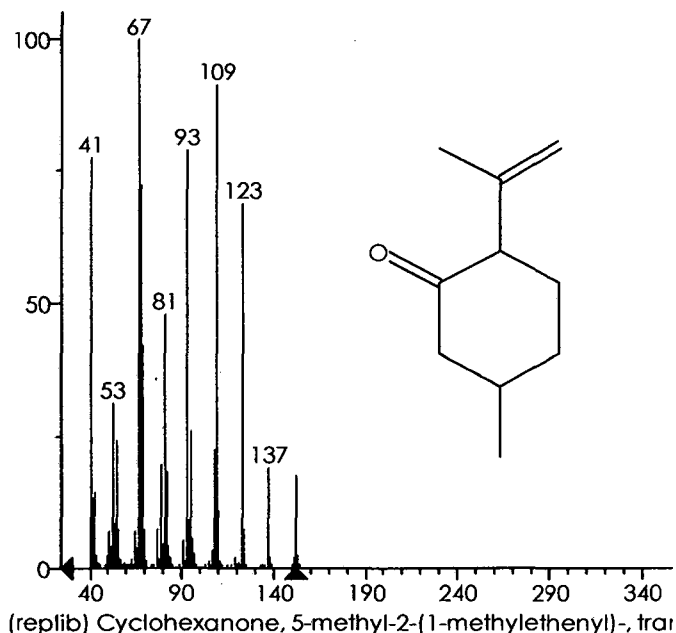
Contributor: Chemical Concepts

10 largest peaks:

67 999	109 910	93 786	41 772	68 720
123 686	39 495	81 477	69 418	27 372

Synonyms:

1. p-Menth-8-en-3-one, trans-
2. trans-Isopulegone
3. Isopulegon
4. Isopulegone
5. 2-Isopropenyl-5-methylcyclohexanone #



Name: Scan 1408 (8.041 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 211 DB: Text File

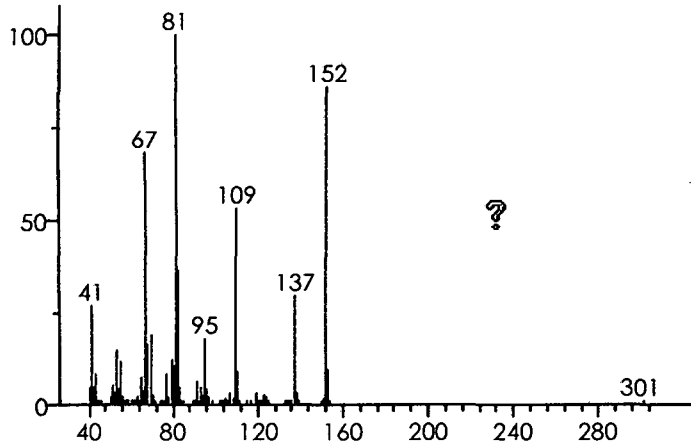
Comment: MunaT

10 largest peaks:

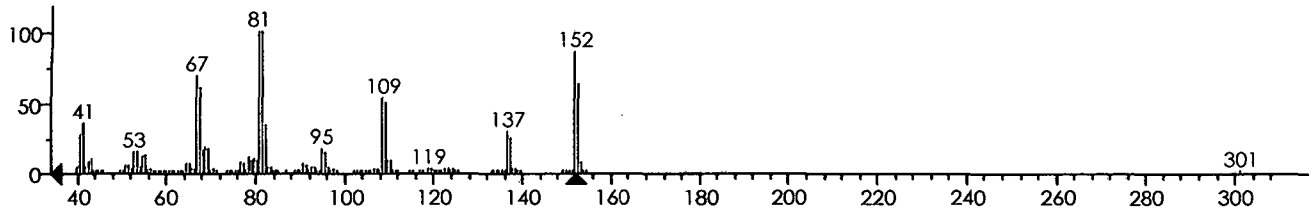
81 999 | 152 855 | 67 680 | 109 524 | 82 357 |
137 291 | 41 264 | 69 185 | 95 178 | 68 159 |

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 1408 (8.041 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms



▲ Scan 1408 (8.041 min): ACEITEDEMUÑA.D | Side by Side MF=989 RMF=990 | ▼ Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethylidene)-

Name: Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethylidene)-

Formula: C₁₀H₁₆O

MW: 152 CAS#: 15932-80-6 NIST#: 190984 ID#: 10014 DB: replib

Other DBs: TSCA, RTECS, HODOC, EINECS, IRDB

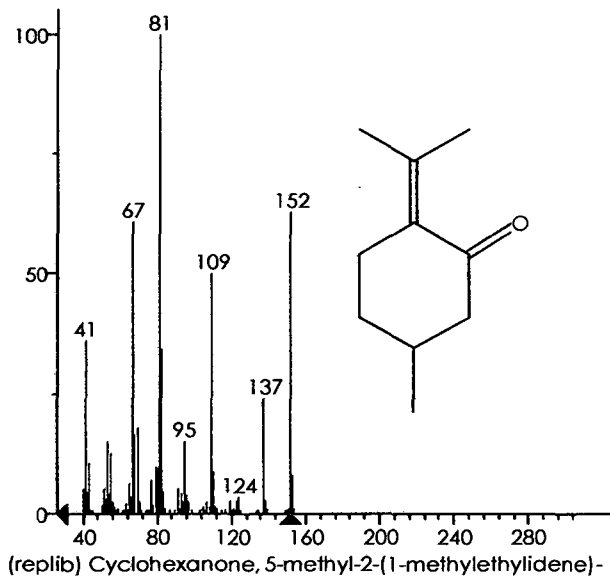
Contributor: Chemical Concepts

10 largest peaks:

81 999 | 152 626 | 67 606 | 109 495 | 41 357 |
82 340 | 39 241 | 137 239 | 69 175 | 68 163 |

Synonyms:

1. p-Menth-4(8)-en-3-one
2. 2-Isopropylidene-5-methylcyclohexanone
3. d-p-Menth-4(8)-en-3-one
4. 4(8)-p-Menthen-3-one
5. **Pulegone**
6. d-Pulegone
7. 5-Methyl-2-(1-methylethylidene)cyclohexanone



Name: Scan 1601 (8.857 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 212 DB: Text File

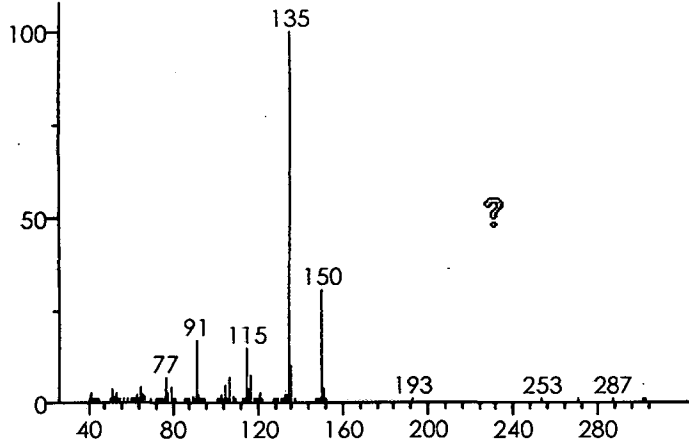
Comment: MunaT

10 largest peaks:

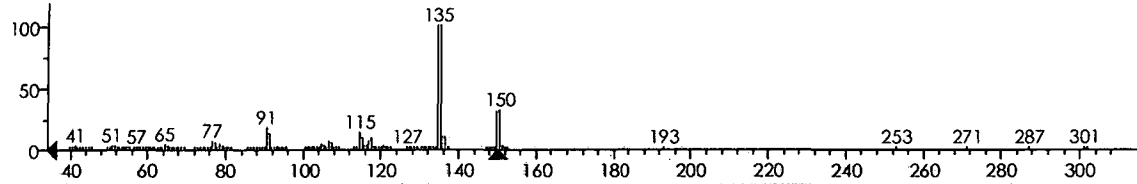
135 999 | 150 303 | 91 167 | 115 142 | 136 99 |
117 69 | 77 67 | 107 63 | 105 45 | 79 41 |

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 1601 (8.857 min): ACEITEDEMUNA.D\data.ms



Scan 1601 (8.857 min): ACEITEDEMUNA.D\data.ms Side by Side MF=985 RMF=989 Thymol

Name: Thymol

Formula: C₁₀H₁₄O

MW: 150 CAS#: 89-83-8 NIST#: 229220 ID#: 18235 DB: replib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, USP, HODOC, NIH, EINECS

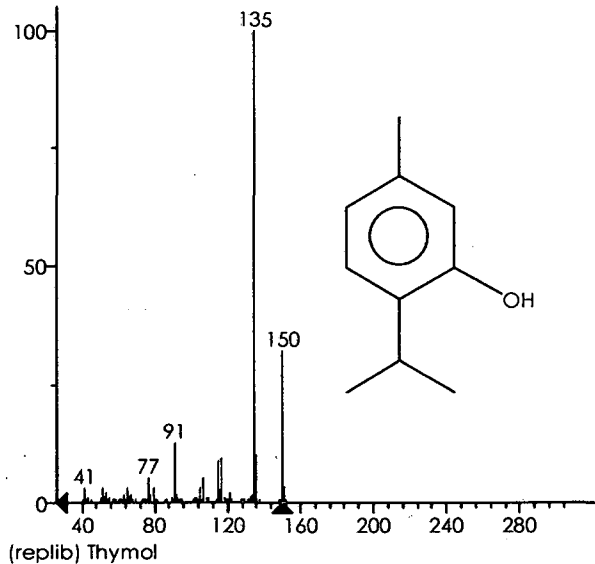
Contributor: Japan AIST/NIMC Database-Spectrum MS-NW-1469

10 largest peaks:

135 999 | 150 320 | 91 125 | 136 99 | 117 94 |
115 85 | 77 49 | 107 49 | 39 48 | 151 34 |

Synonyms:

1. Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-
2. p-Cymen-3-ol
3. Thyme camphor
4. 2-Isopropyl-5-methylphenol
5. 3-Hydroxy-p-cymene
6. 3-Methyl-6-isopropylphenol
7. 5-Methyl-2-isopropylphenol
8. 6-Isopropyl-m-cresol
9. 6-Isopropyl-3-methylphenol
10. m-Cresol, 6-isopropyl-
11. p-Cymene, 3-hydroxy-
12. Isopropyl cresol
13. Phenol, 2-isopropyl-5-methyl-
14. Thymic acid
15. 1-Hydroxy-5-methyl-2-isopropylbenzene
16. 1-Methyl-3-hydroxy-4-isopropylbenzene
17. 3-p-Cymenol
18. 3-Hydroxy-1-methyl-4-isopropylbenzene
19. 5-Methyl-2-isopropyl-1-phenol
20. 5-Methyl-2-(1-methylethyl)phenol
21. Isopropyl-m-cresol
22. m-Thymol



Name: Scan 1880 (10.037 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 213 DB: Text File

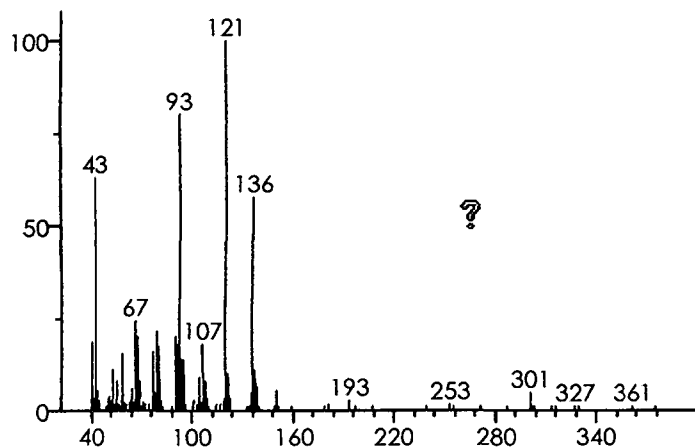
Comment: MunaT

10 largest peaks:

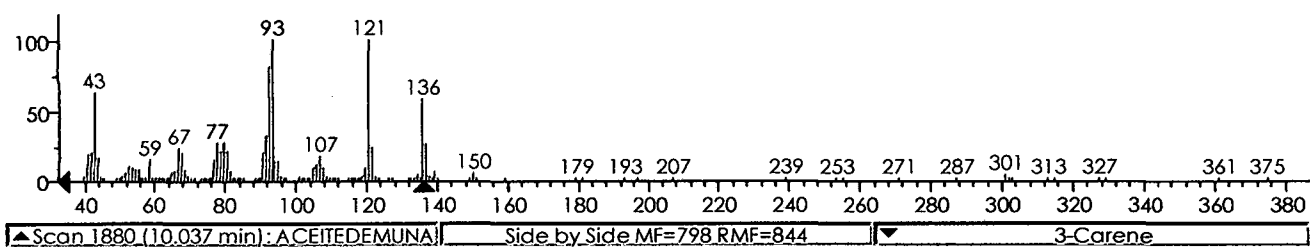
121 999	93 800	43 626	136 573	67 236
79 213	91 196	68 195	41 181	107 174

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 1880 (10.037 min): ACEITEDEMUNA.D\data.r



Name: (+)-4-Carene

Formula: C₁₀H₁₆

MW: 136 CAS#: 29050-33-7 NIST#: 109273 ID#: 51867 DB: mainlib

Other DBs: None

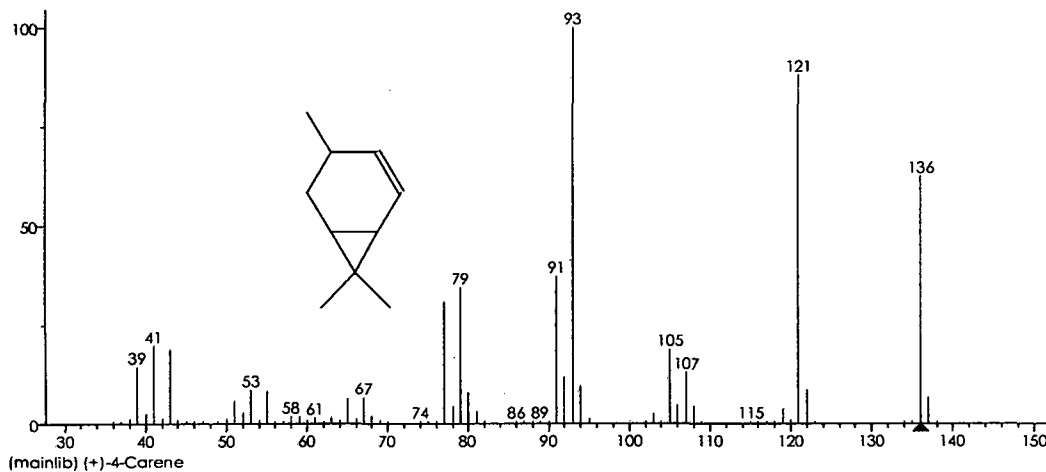
Contributor: Philip Morris R&D

10 largest peaks:

93 999	121 879	136 622	91 371	79 342
77 306	41 196	105 187	43 185	39 140

Synonyms:

1,4,7,7-Trimethylbicyclo[4.1.0]hept-2-ene #



(mainlib) (+)-4-Carene

Name: Scan 2309 (11.851 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 214 DB: Text File

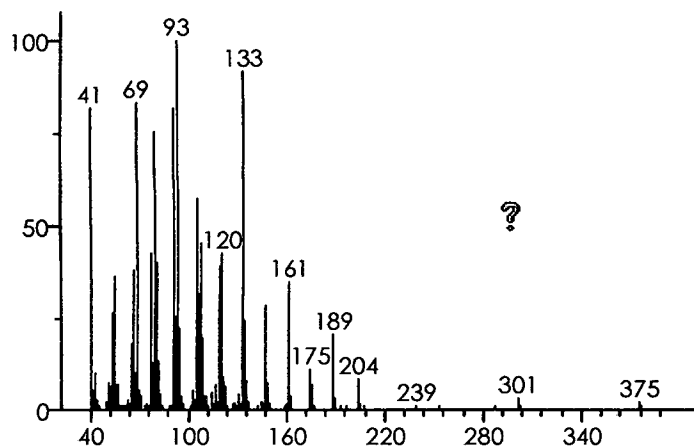
Comment: MunaT

10 largest peaks:

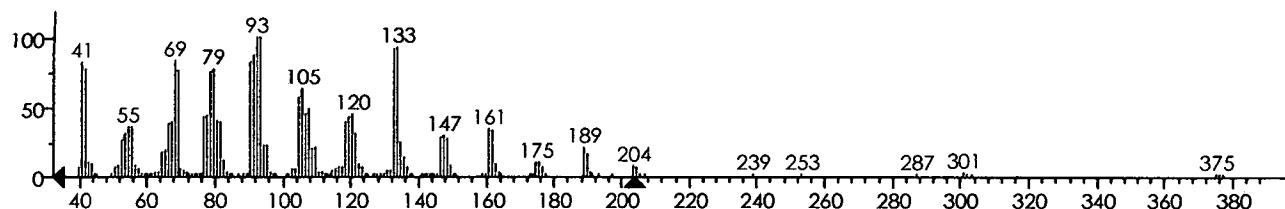
93 999 | 133 913 | 69 832 | 91 814 | 41 814 |
79 750 | 105 568 | 107 446 | 120 422 | 77 419 |

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 2309 (11.851 min): ACEITEDEMUNA.D\data.r



Scan 2309 (11.851 min): ACEITEDEMUNA | Side by Side MF=987 RMF=996 | Caryophyllene

Name: Caryophyllene

Formula: C₁₅H₂₄

MW: 204 CAS#: 87-44-5 NIST#: 291486 ID#: 51899 DB: mainlib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, HODOC, NIH, EINECS

Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center, 1998.

10 largest peaks:

93 999 | 133 921 | 91 858 | 41 769 | 79 763 |
69 754 | 105 623 | 107 483 | 120 447 | 77 439 |

Synonyms:

1. Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]-

2. Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, (E)-(1R,9S)-(-)-

3. α-Caryophyllen

4. α-Caryophyllene

5. trans-Caryophyllene

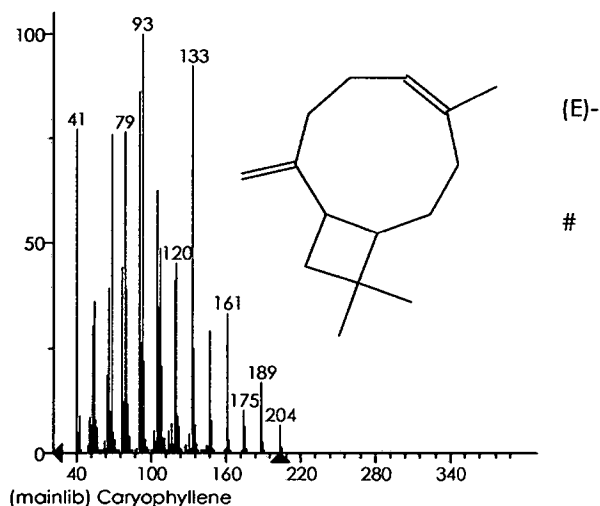
6. L-Caryophyllene

7. Bicyclo(7.2.0)undec-4-ene, 8-methylene-4,11,11-trimethyl-, (1R,9S)-(-)-

8. Caryophyllene, à + àmixt.

9. 8-Methylene-4,11,11-(trimethyl)bicyclo(7.2.0)undec-4-ene

10. 4,11,11-Trimethyl-8-methylenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene



Name: Scan 2777 (13.830 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 215 DB: Text File

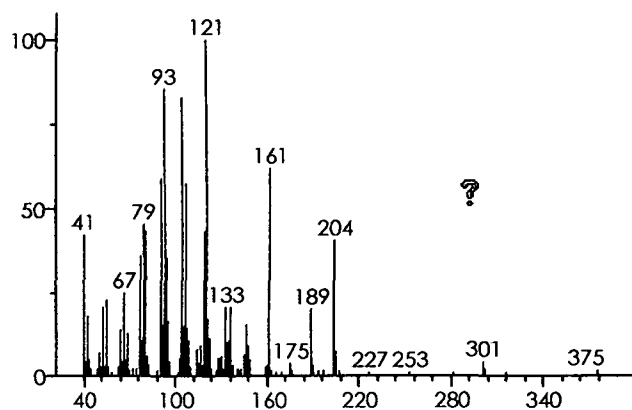
Comment: MunaT

10 largest peaks:

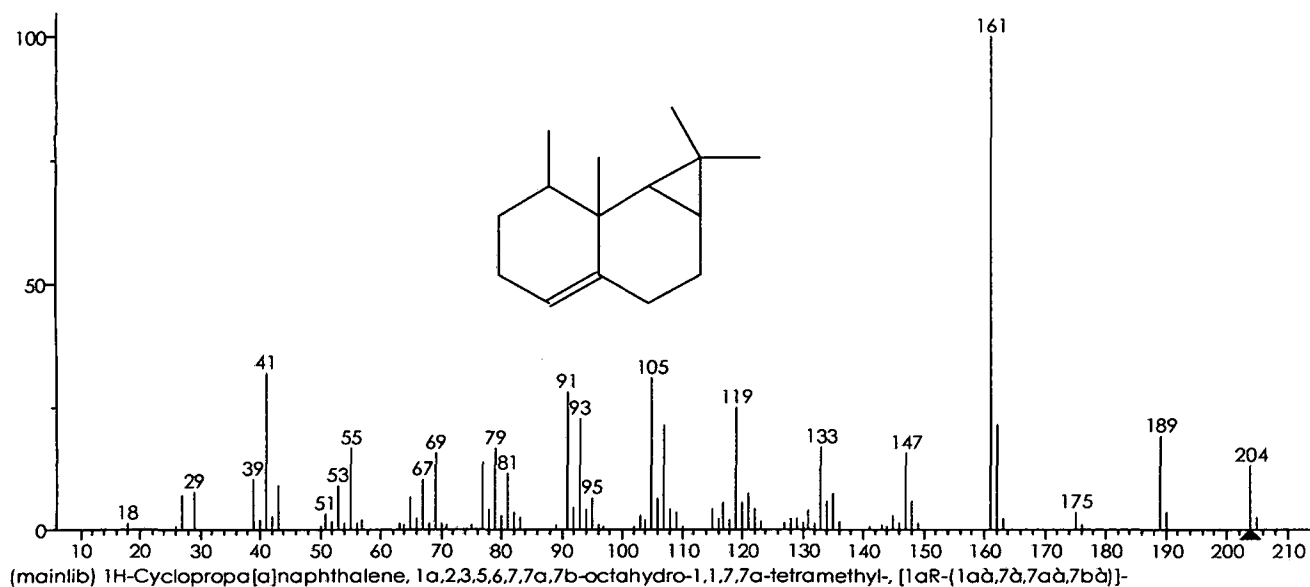
121 999	93 850	105 826	161 613	91 582
107 568	79 449	81 428	119 428	41 417

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 2777 (13.830 min): ACEITEDEMUNA.D\data.m



Name: 1H-Cyclopropa[a]naphthalene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-tetramethyl-, [1aR-(1a,7a,7b)]-

Formula: C₁₅H₂₄

MW: 204 CAS#: 17334-55-3 NIST#: 9242 ID#: 103056 DB: mainlib

Other DBs: Fine, EINECS

10 largest peaks:

161 999	41 317	105 305	91 279	119 246
93 224	162 212	107 212	189 188	133 166

Synonyms:

- 1.1H-Cyclopropa[a]naphthalene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-tetramethyl-, (1aR,7R,7aR,7bS)-(+)-
- 2.α-Gurjunene
- 3.ël(10)-Aristolene
- 4.Calarene
- 5.1(10)-Aristolene, (+)-
- 6.(+)-Calarene
- 7.Aristol-1(10)-ene #

Name: Scan 2882 (14.270 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 216 DB: Text File

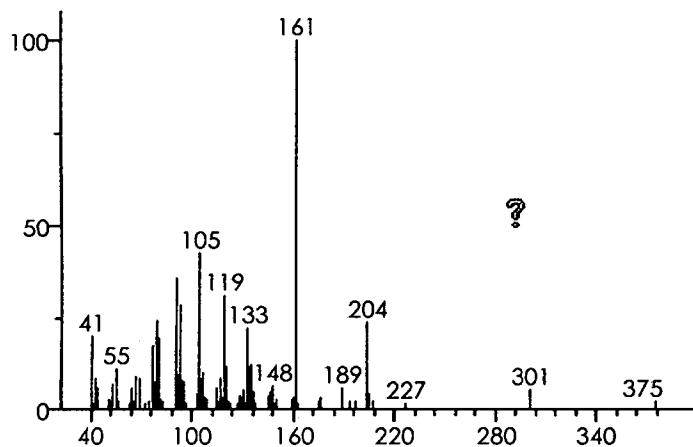
Comment: MunaT

10 largest peaks:

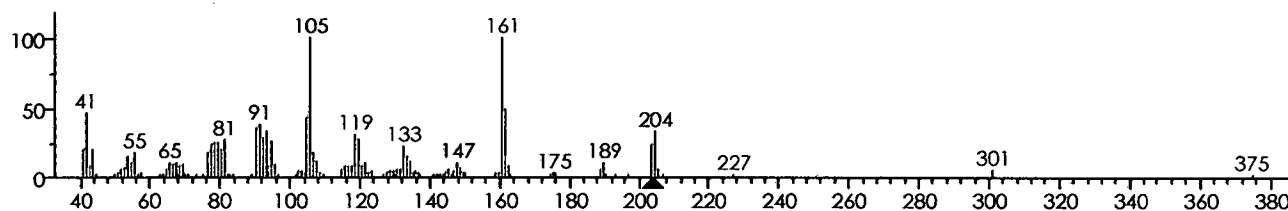
161 999 | 105 424 | 91 352 | 119 307 | 93 282 |
79 240 | 204 231 | 133 216 | 41 194 | 81 193 |

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 2882 (14.274 min): ACEITEDEMUNA.D\data.m



▲ Scan 2882 (14.274 min): ACEITEDEMUNA | Side by Side MF=869 RMF=907 | ▼ Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-

Name: Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1à,4aà,8aà)-

Formula: C₁₅H₂₄

MW: 204 CAS#: 31983-22-9 NIST#: 141065 ID#: 14009 DB: replib

Other DBs: None

Contributor: Mark Whitten, Florida Museum of Natural History, U. of Florida

10 largest peaks:

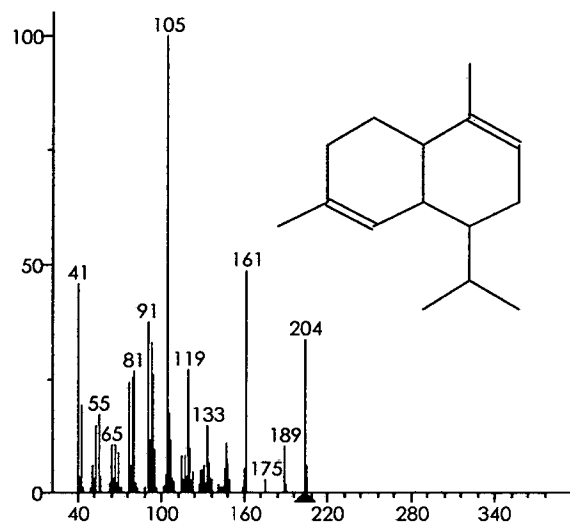
105 999 | 161 481 | 41 456 | 91 371 | 204 333 |
93 325 | 119 266 | 81 262 | 94 256 | 79 250 |

Synonyms:

1.1.Xi.,6.xi.,7.xi.-Cadina-4,9-diene

2.à-Murolene

3.1-Isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,4a,5,6,8a-hexahydronaphthalene #



(replib) Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl

Name: Scan 2934 (14.489 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 217 DB: Text File

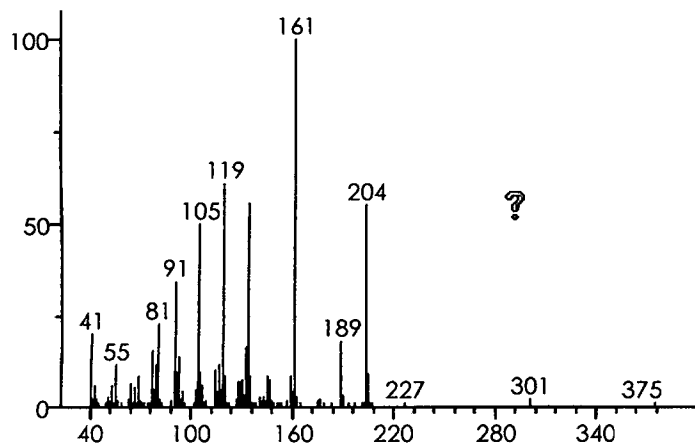
Comment: MunaT

10 largest peaks:

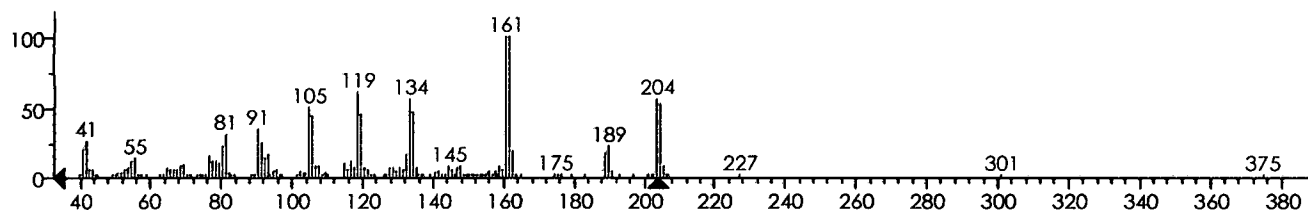
161 999 | 119 607 | 134 554 | 204 548 | 105 496 |
91 339 | 81 221 | 162 204 | 41 198 | 189 174 |

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 2934 (14.494 min): ACEITEDEMUNA.D\data.r



▲ Scan 2934 (14.494 min): ACEITEDEMUNA | Side by Side MF=956 RMF=969 | ▼ Naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-

Name: Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-

Formula: C₁₅H₂₄

MW: 204 CAS#: 483-76-1 NIST#: 293022 ID#: 20921 DB: replib

Other DBs: HODOC

Contributor: Flavors and Fragrances (Eds.B.Lawrence ET AL.),1986

10 largest peaks:

161 999 | 119 899 | 105 762 | 41 754 | 91 709 |
134 617 | 204 399 | 81 370 | 77 352 | 93 324 |

Synonyms:

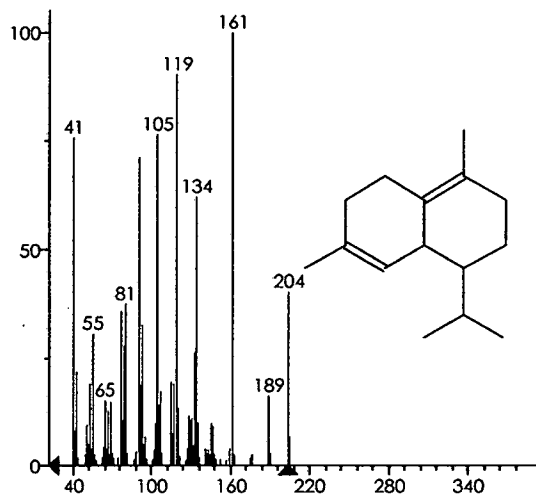
1. Cadina-1(10),4-diene

2. ð-Cadinene, (+)-

3. (+)-ð-Cadinene

4. ð-Cadinene

5. 1-Isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,3,5,6,8a-hexahydronaphthalene #



(replib) Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-

Name: Scan 5465 (25.196 min): ACEITEDEMUÑA.D\data.ms

MW: N/A ID#: 218 DB: Text File

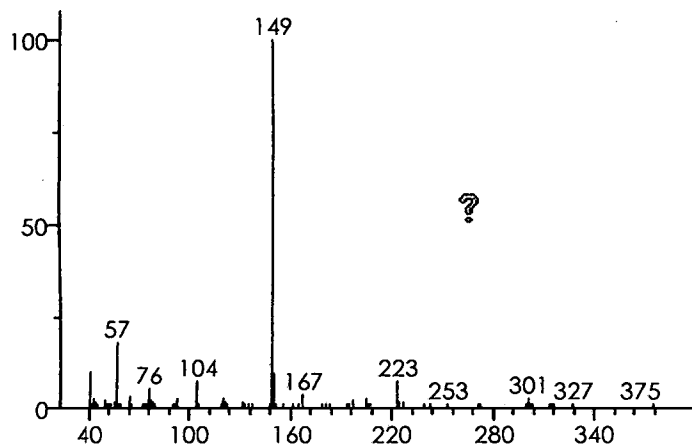
Comment: MunaT

10 largest peaks:

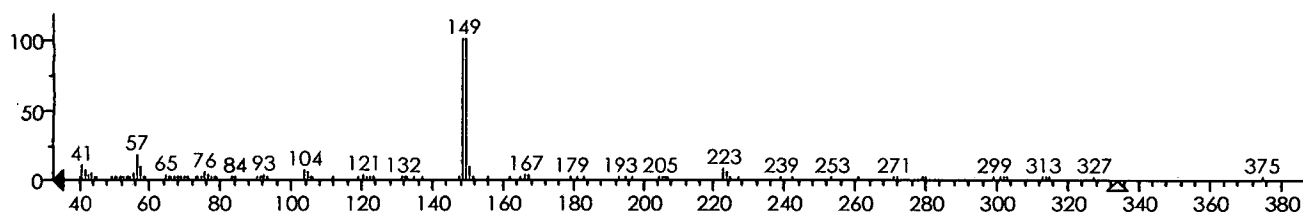
149	999	57	177	41	96	150	92	223	73
104	69	76	51	56	43	167	35	65	27

Synonyms:

no synonyms.



(Text File) Scan 5465 (25.196 min): ACEITEDEMUNA.D\data.m



Scan 5465 (25.196 min): ACEITEDEMUNA.D\data.m Side by Side MF=832 RMF=917 Phthalic acid, isobutyl octyl ester

Name: Phthalic acid, isobutyl octyl ester

Formula: C₂₀H₃₀O₄

MW: 334 NIST#: 309045 ID#: 96105 DB: mainlib

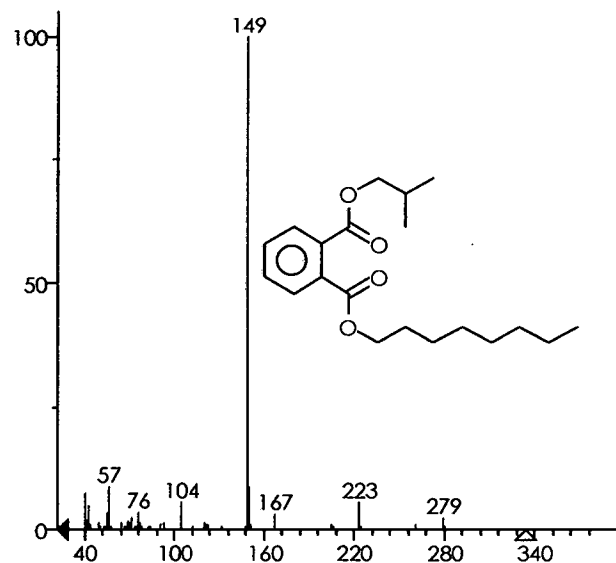
Contributor: Zaikin V.G., Institute of Petrochemical Synthesis RAS

10 largest peaks:

149	999	150	85	57	84	41	71	104	54
223	53	43	47	76	34	55	34	56	33

Synonyms:

no synonyms.



(mainlib) Phthalic acid, isobutyl octyl ester

ANEXO N° 04

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

TÍTULO DEL ESTUDIO

ACTIVIDAD ANTIMICOTICA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LA Muña *Minthostachys acris* Schmidt Leb. (Lamiaceae) SOBRE *Sporothrix schenckii*

RESUMEN: EL investigador Srta. María Milagros Dueñas Mendoza está efectuando investigaciones para estudiar la actividad antimicótica in vitro del aceite esencial de Muña sobre cepas de pacientes con esporotricosis, A Ud. se le pedirá revisar esta hoja informativa y firmar un informe de consentimiento para participar en el estudio.

OBJETIVO:

METODOLOGÍA EMPLEADA: El estudio se basa en utilizar:

- (i) Parte de sus datos demográficos y epidemiológicos (como edad, sexo, parámetros clínicos de su enfermedad, vía de transmisión)
- (ii) Se tomarán muestras de tejido subcutáneo; como pus sanguinolenta de las lesiones, a través de un aspirado.

Entre las pruebas, se aislara el hongo causante de la lesión como es *el Sporothrix schenckii*.

BENEFICIOS ESPERADOS PARA UD. Y LA SOCIEDAD: El conocimiento de la actividad antimicótica del aceite esencial de muña sobre *Sporothrix schenckii*, podrá buscar alternativas terapéuticas para el paciente con menas reacciones adversas, y a largo plazo una relación costo-beneficio.

PARTICIPACIÓN Y RETIRADA VOLUNTARIA: La participación en este estudio es absolutamente voluntaria. Ud. puede rechazar, sin que ello represente ninguna alteración de la relación con su médico, ni se produzca ningún tipo de perjuicio en su tratamiento

CONFIDENCIALIDAD DE DATOS: Toda la información sobre Ud. se mantendrá tan confidencial como sea posible. Su nombre no se utilizará en ningún informe de este estudio. Se utilizará un código, y no su nombre, para identificar sus muestras. Sus datos estarán protegidos por la **Ley General de Salud (Ley N° 26842)** de protección de datos de carácter personal, la cual en el Título Segundo de su Capítulo I, Artículo 28 literalmente menciona: **“La investigación experimental con personas debe ceñirse a la legislación especial sobre la materia y a los postulados éticos en la Declaración de Helsinki y sucesivas declaraciones que actualicen los referidos postulados”**. Mediante el **Reglamento de Ensayos Clínicos en el Perú**.

INVESTIGADOR RESPONSABLE, DUDAS Y PREGUNTAS: El investigador responsable del estudio es el investigador Srta. María Milagros Dueñas Mendoza. Este estudio se le ha explicado a Ud. detalladamente, pero si Ud. desea recabar algún dato adicional, o tiene dudas o preguntas, puede contactar con citado investigador en la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (Av. De la Cultura S/N) o en el teléfono celular 98489 6194 o al fijo 84-248320.

ALTERNATIVAS: Ud. tiene como alternativa no participar en el estudio y continuar con el cuidado médico que recibe, sin ningún tipo de cambios.

COSTES: La participación en el estudio no representará ningún coste económico para Ud. Serán gratuitas.

COMPENSACIÓN ECONÓMICA: Ud. no obtendrá ningún beneficio económico por la participación en este estudio, ni por la cesión y análisis de sus muestras.

CONSENTIMIENTO: Se le proporciona una copia de esta hoja explicativa y del informe de consentimiento para sus archivos.

ANEXO N° 05

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE

Título del estudio: "ACTIVIDAD ANTIMICOTICA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LA Muña *Minthostachys acris* Schmidt Leb. (Lamiaceae) SOBRE EL *Sporothrix schenckii*"

Yo, _____

En caso de menores de edad nombre y N° DNI del padre, madre o apoderado.

Identificado con DNI N° _____

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con
Bach. En Biología María Milagros Dueñas Mendoza
Blgo. Max Carlos Ramírez Soto.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1° Cuando quiera.

2° Sin tener que dar explicaciones.

3° Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

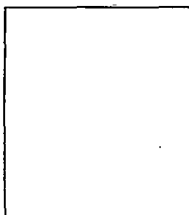
Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha

Firma del paciente

Fecha

Firma del investigador de Campo



Huella Digital



MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

PACIENTE	HERRERA ROMERO, MARINA	FECHA DE NACIMIENTO	01/01/1944
ESTABLECIMIENTO	LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL APURIMAC		
MÉDICO	JUSTO DARWIN PEZO OCHOA		
DOC REFERENCIA	137DLRSPDIRESA2012		
ENFERMEDAD	MICOSIS	FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA	23/07/2012
LABORATORIO	MICOLOGIA	FECHA DE RECEPCION LAB REG	
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCION EN INS	25/07/2012
CODIGO DE MUESTRA	072223512		

PRUEBAS

CULTIVO Fecha: 01/08/2012

Sporothrix schenckii

Interpretación:

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:
Dra Susana Zurita Macalupu
CMP - 20100

Fecha: 06/08/2012 Hora: 9:33 p.m.

Capac Yupanqui 1400 Telefono 4719920 Jesus Maria Lima 11





MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

PACIENTE	PEÑA PALOMINO, CRISTIAN	FECHA DE NACIMIENTO	01/01/2001
ESTABLECIMIENTO	LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL APURIMAC		
MÉDICO	JUSTO DARWIN PEZO OCHOA		
DOC REFERENCIA	137DLRSPDIRESA2012		
ENFERMEDAD	MICOSIS	FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA	23/07/2012
LABORATORIO	MICOLOGIA	FECHA DE RECEPCION LAB REG	
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCION EN INS	25/07/2012
CODIGO DE MUESTRA	072223612		

PRUEBAS

CULTIVO Fecha: 01/08/2012

Sporothrix schenckii

Interpretación:

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:
Dra Susana Zurita Macalupu
CMP - 20100

Fecha: 06/08/2012 Hora: 9:33 p.m.

Capac Yupanqui 1400 Telefono 4719920 Jesus María Lima 11





MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

PACIENTE	VARGAS RAMOS, GERMUNY	FECHA DE NACIMIENTO	01/01/1998
ESTABLECIMIENTO	LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL APURIMAC		
MÉDICO	JUSTO DARWIN PEZO OCHOA		
DOC REFERENCIA	137DLRSPDIRESA2012		
ENFERMEDAD	MICOSIS	FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA	07/07/2012
LABORATORIO	MICOLOGIA	FECHA DE RECEPCION LAB REG	
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCION EN INS	25/07/2012
CODIGO DE MUESTRA	072223712		

PRUEBAS

CULTIVO Fecha: 01/08/2012

Sporothrix schenckii

Interpretación:

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:
Dra Susana Zurita Macalupu
CMP - 20100

Fecha: 06/08/2012 Hora: 9:33 p.m.

Capac Yupanqui 1400 Telefono 4719920 Jesus Maria Lima 11





MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

PACIENTE	VARGAS ESPINOZA, VIVIANA	FECHA DE NACIMIENTO	01/01/1998
ESTABLECIMIENTO	LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL APURIMAC		
MÉDICO	JUSTO DARWIN PEZO OCHOA		
DOC REFERENCIA	137DLRSPDIRESA2012		
ENFERMEDAD	MICOSIS	FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA	23/07/2012
LABORATORIO	MICOLOGIA	FECHA DE RECEPCION LAB REG	
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCION EN INS	25/07/2012
CODIGO DE MUESTRA	072223812		

PRUEBAS

CULTIVO Fecha: 01/08/2012

Sporothrix schenckii

Interpretación:

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:
Dra Susana Zurita Macalupu
CMP - 20100

Fecha: 06/08/2012 Hora: 9:33 p.m.

Capac Yupanqui 1400 Telefono 4719920 Jesus Maria Lima 11





MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

PACIENTE	PALMA ROMAN, EUSEBIO	FECHA DE NACIMIENTO	01/01/1940
ESTABLECIMIENTO	LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL APURIMAC		
MÉDICO	JUSTO DARWIN PEZO OCHOA		
DOC REFERENCIA	137DLRSPDIRESA2012		
ENFERMEDAD	MICOSIS	FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA	23/07/2012
LABORATORIO	MICOLOGIA	FECHA DE RECEPCION LAB REG	
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCION EN INS	25/07/2012
CODIGO DE MUESTRA	072223912		

PRUEBAS

CULTIVO Fecha: 01/08/2012

 Sporothrix schenckii

Interpretación:

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:
Dra Susana Zurita Macalupu
CMP - 20100

Fecha: 06/08/2012 Hora: 9:33 p.m.



MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

PACIENTE	ALEJO HUAMANI, JULIANA	FECHA DE NACIMIENTO	01/01/1940
ESTABLECIMIENTO	LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL APURIMAC		
MÉDICO	JUSTO DARWIN PEZO OCHOA		
DOC REFERENCIA	137DLRSPDIRESA2012		
ENFERMEDAD	MICOSIS	FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA	23/07/2012
LABORATORIO	MICOLOGIA	FECHA DE RECEPCION LAB REG	
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCION EN INS	25/07/2012
CODIGO DE MUESTRA	072224012		

PRUEBAS

CULTIVO	Fecha: 01/08/2012
	Sporothrix schenckii

Interpretación:

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:
Dra Susana Zurita Macalupu
CMP - 20100

Fecha: 06/08/2012 Hora: 9:33 p.m.

Capac Yupanqui 1400 Telefono 4719920 Jesus Maria Lima 11



MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

PACIENTE	GUILLEN VARGAS, LUISA	FECHA DE NACIMIENTO	01/01/1972
ESTABLECIMIENTO	LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL APURIMAC		
MÉDICO	JUSTO DARWIN PEZO OCHOA		
DOC REFERENCIA	137DLRSPDIRESA2012		
ENFERMEDAD	MICOSIS	FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA	17/07/2012
LABORATORIO	MICOLOGIA	FECHA DE RECEPCION LAB REG	
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCION EN INS	25/07/2012
CODIGO DE MUESTRA	072224112		

PRUEBAS

CULTIVO	Fecha: 01/08/2012
	Sporothrix schenckii

Interpretación:

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:
Dra Susana Zurita Macalupu
CMP - 20100

Fecha: 06/08/2012 Hora: 9:33 p.m.

Capac Yupanqui 1400 Telefono 4719920 Jesus Maria Lima 11

