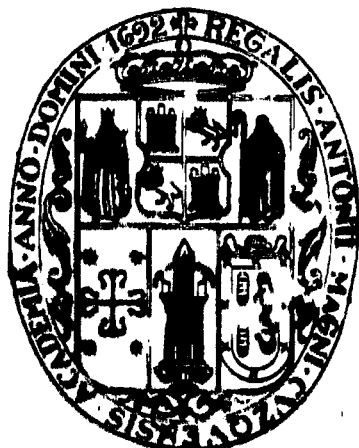


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO
ABAD DEL CUSCO**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS,
MATEMÁTICAS, FARMACIA E INFORMÁTICA**

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO ANTIMICOTICO Y
EVALUACIÓN DE LA DERMATOTOXICIDAD DEL
EXTRACTO HEXANICO DE *Ophryosporus peruvianus* Y
ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limón* EN FORMA DE JABON
LIQUIDO FRENTE A DERMATOFITOSIS EN PACIENTES
QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL"**

**TESIS PARA OPTAR AL TITULO PROFESIONAL DE
QUIMICO FARMACEUTICO.**

PRESENTADO POR LOS BACHILLERES

- HUGO CACERES INOCENCIO
- KARINA YENNY QUISPE BACA

ASESORA: M. Cs. CARLA DEL CARPIO JIMENEZ

**COASESORES: M. Cs YANET MENDOZA MUÑOZ
Mtg. CARLOS SERRANO FLOREZ**

AUSPICIADO POR EL CONSEJO DE INVESTIGACION DE LA UNSAAC

**CUSCO - PERÚ
2011**

INDICE

RESUMEN

ABSTRACT

ABREVIATURAS

Introducción 1

CAPITULO I

ASPECTOS GENERALES

1.1 Planteamiento del problema 3

1.2 Formulación del Problema 5

1.3 Objetivos 6

 1.3.1 Objetivos Generales 6

 1.3.2 Objetivos Específicos 6

1.4 Justificación e Importancia 7

1.5 Limitaciones 8

1.6 Hipótesis 8

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes 9

 2.1.1 Estado de la cuestión 9

 2.1.2 Antecedente etnobotánico de la especie vegetal *Ophryosporus*
 peruvianus (Cjafra . cjafra) 10

 2.1.3 Antecedente etnobotánico de la especie vegetal *Citrus limon* (limón) 11

 2.1.4 Antecedentes fitoquímicos de la especie vegetal *Ophryosporus*
 peruvianus (Cjafra - cjafra) 11

 2.1.5 Antecedentes fitoquímicos de la especie vegetal *Citrus limon* (limón) 15

2.1.6 Antecedentes farmacológicos: de la especie vegetal <i>Ophryosporus peruvianus</i> (Cjafra - cjafra).	16
2.1.7 Antecedentes farmacológicos de la especie vegetal <i>Citrus limon</i> (limón).	17
2.2 Bases Teórico Científicos:	18
2.2.1 Aspectos botánicos de la especie vegetal <i>Ophryosporus peruvianus</i>	18
2.2.1.1 Clasificación taxonómica	18
2.2.1.2 Sinonimia de nombres comunes de la planta	18
2.2.1.3 Descripción botánica	18
A. Características botánicas y morfología del género	18
B. Características botánicas y morfología de la especie	19
2.2.1.4 Distribución geográfica	19
2.2.2 Aspectos botánicos de la especie vegetal <i>Citrus limon</i> (limón)	19
2.2.2.1 Clasificación taxonómica	19
2.2.2.2 Sinonimia de nombres comunes de la planta	20
2.2.2.3 Historia del limón	20
A. Características botánicas y clasificación de la especie	20
2.2.2.4 Distribución geográfica	21
A. Composición Química del género <i>Citrus</i>	21
B. Descripción Farmacognóstica Del Genero <i>Citrus</i>	
<i>Limon</i> (Limon)	22
2.2.3 Dermatofitosis	23
2.2.3.1 Definición	23
2.2.3.2 Epidemiología	23
2.2.3.3 Etiopatogenia	24
2.2.3.4 Cuadro clínico	26
A. Tinea pedis (tiña del pie, pie de atleta)	27
B. Tinea unguium (tiña de las uñas, onicomycosis)	27
C. Tinea corporis (tiña del cuerpo)	27
D. Tinea capitis (tiña de la cabeza)	28

2.2.3.5 Pruebas diagnosticas de laboratorio	28
A. Muestra	28
B. Examen microscópico	29
C. Cultivo.....	29
2.2.3.6 Tratamiento	30
A. Prevención.....	30
B. Preparados antifúngicos por vía tópica	30
➤ Fármaco patrón - Clotrimazol	30
C. Mecanismo de acción	31
D. Propiedades farmacodinamias	31
➤ Grupo farmacoterapéutico	31
➤ Efectos farmacodinámicos	31
➤ Propiedades farmacocinéticas	32
➤ Dato preclínicos sobre seguridad	32
➤ Efectos adversos	33
A. Precauciones	33
B. Contraindicaciones	33
➤ Antimicóticos por vía general	33
2.2.4 Descripción de la especie micóticas	34
2.2.4.1 <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (robin) Blanchard 1896.....	34
A. <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>Interdigitale</i>	34
➤ Descripción micótica	34
➤ Posición taxonómica	36
2.2.4.2 <i>Trichophyton rubrum</i>	36
A. Descripción micótica.....	36
B. Posición taxonómica.....	37
2.2.5 Determinación del efecto antimicótico	38
2.2.6 Definición de términos básicos	38

CAPITULO III
MATERIALES Y METODOS

3.1 Materiales biológicos.....	40
3.1.1 Muestras vegetales	40
3.1.2 Muestra microbiana.....	40
3.2 Materiales de laboratorio	40
3.2.1 Materiales y equipos de laboratorio	40
3.2.1.1 Materiales de campo.....	40
3.2.1.2 Materiales de laboratorio	41
3.2.2 Solventes y Reactivos.....	41
3.2.3 Medios de Cultivo	42
3.2.4 Material Biológico	42
3.2.5 Material Farmacológico	42
3.2.6 Otros Materiales	42
3.2.7 Recursos e Infraestructura.....	42
3.3 Metodología.....	43
3.3.1 Etapas de la Investigación	43
3.3.2 Diseño de la investigación	43
3.3.2.1 Primera Etapa	43
A. Formulación del jabón líquido	43
3.3.2.2 Segunda Etapa.....	44
A. Pruebas antimicóticas	44
3.3.2.3 Tercera etapa	45
A. Pruebas de dermatotoxicidad.....	45
B. Codificación del diseño de investigación	45
➤ Prueba de irritación primaria de la piel	46
➤ Prueba de sensibilización cutánea.....	46
➤ Pruebas de fototoxicidad y fotoalergicidad	47
3.3.2.4 Cuarta etapa.....	47
A. Pruebas antimicóticas en pacientes	47

3.4	Identificación, definición y operacionalización de las variables	48
3.4.1	Variables implicadas	48
3.4.1.1	Variables independientes	48
3.4.1.2	Variables dependientes	50
3.4.2	Variables no implicadas	55
3.4.2.1	Variables intervinientes.....	55
A.	Características fisicoquímicas	55
B.	Control Microbiológico	56
C.	Ensayo de estabilidad física específicas	59
D.	De la muestra vegetal.....	59
E.	De las personas voluntarias	60
3.4.2.2	Variables subjetivas	60
3.5	Criterios de selección	60
3.5.1	De la planta en estudio	60
3.5.2	De la obtención del extracto etanólico	60
3.5.2.1	Criterios de inclusión	62
3.5.2.2	Criterios de exclusión	62
3.5.3	De los animales de experimentación	63
3.5.3.1	Criterios de inclusión	63
3.5.3.2	Criterios de exclusión	63
3.5.4	De los pacientes voluntarios	63
3.5.4.1	Criterios de inclusión	63
3.5.4.2	Criterios de exclusión	63
3.5.5	Definición y operacionalización de variables	64
3.6	Procedimiento.....	67
3.6.1	Obtención del extracto etanólico de <i>Ophryosporus peruvianus</i>	67
3.6.2	Fraccionamiento de extracto etanólico	68
3.7	Obtención del aceite esencial de <i>Citrus limon</i>	79
3.7.1	Método de destilación por arrastre de vapor de agua	79
3.7.2	Procesos de extracción del aceite esencial de <i>Citrus limon</i>	70

3.8 Pre formulación del jabón antimicótico base	71
3.8.1 Control de calidad de los jabones elaborados	72
3.8.1.1 Análisis físico – químico	72
3.8.1.2 Control microbiológico	73
3.8.2 Ensayos de estabilidad del producto	76
3.8.3 Determinación de la actividad antimicótica en cepas de <i>trichophyton rubrum</i> y <i>trichophyton mentagrophytes</i>	76
3.8.4 Procesamiento microbiológico	76
3.8.5 Ensayos de sensibilidad micotica : por el método de difusión en agar excavado placa (método de hufford).....	78
3.8.6 Pruebas de dermatotóxicas con animales de experimentación y pruebas clínicas en pacientes con dermatofitosis	80
3.8.7 Materiales e instrumentos para la recolección de datos	80
3.9 Segunda parte: estudio clínico en pacientes con dermatofitosis	81
3.9.1 Sujetos de investigación	81
3.9.2 Consideraciones éticas	81
3.9.3 Procedimiento.....	82
3.9.4 Estrategias de recolección de datos	83
3.9.4.1 Técnicas de recolección de datos	83
3.9.4.2 Selección y consentimiento	83
3.9.4.3 Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos	83

CAPITULO IV
RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

4.1 De la obtención del extracto etanólico	85
4.1.1 Determinación del porcentaje de extracción de extracto etanólico de las hojas de <i>Ophryosporus peruvianus</i> (Cjafra – cjafra).....	85
4.1.2 Del análisis fitoquímico cualitativo	86

4.1.2.1	De las pruebas de solubilidad	86
4.1.3	Del analisis fitoquimico cualitativo del extracto etanolico de <i>ophryosporus peruvianus</i>	87
4.2	De la obtención del aceite esencial de <i>citrus limon</i> (limón)	88
4.2.1	Determinación del porcentaje de rendimiento del aceite esencial de <i>citrus limon</i> (limón)	88
4.2.2	Características organolépticas	88
4.2.3	Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de <i>citrus limon</i> (limón)	88
4.2.4	Pruebas de solubilidad de aceite esencial de <i>citrus limon</i> (limón)	89
4.2.5	Resultados de la detección de metabolitos secundarios del aceite esencial de <i>Citrus limón</i> (limón)	89
4.3	Resultados del porcentaje de extracción de las fracciones obtenidas del extracto etanólico	90
4.4	Determinación de la actividad antimicótica	93
4.4.1	Activación de las cepas estándar microbiológicas	93
4.4.2	Características macroscópicas de las cepas estándar	93
4.4.3	Características microscópicas de las cepas estándar	93
4.5	De la actividad antimicótica de <i>trychophyton mentagrophytes</i>	94
4.5.1	De la estandarización de la curva de crecimiento de la cepa	94
4.6	De la determinación de la actividad antimicótico	95
4.6.1	Resultados del ensayo del efecto antimicótico del extracto Etanólico de <i>Ophryosporus peruvianus</i> (Cjafra – cjafra) y del aceite esencial de <i>Citrus limón</i> para <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533 y <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188	95
4.6.2	Resultados del ensayo del efecto antimicótico del extracto hexánico de <i>Ophryosporus</i> (Cjafra – cjafra). Sobre cepas de <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533 y <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188	98

4.7 De la forma farmacéutica	101
4.7.1 Compatibilidad de los excipientes para el jabón líquido antimicótico	101
4.7.2 Compatibilidad de los excipientes para el jabón líquido antimicótico	102
4.7.3 Formulación del jabón líquido antimicótico con aceite esencial de Ophryosporus peruvianus.....	104
4.7.4 Formulación del jabón líquido antimicótico con aceite esencial de Citrus limón.....	106
4.7.5 Formulación definitiva del jabón líquido antimicótico con extracto hexánico de Ophryosporus peruvianus:	108
4.7.6 Elaboración definitiva del jabón líquido antimicótico con aceite esencial de Citrus limon	109
4.7.7 Resultados de la actividad antimicótica de los insumos del jabón líquido base sobre cepas de Trychophyton mentagrophytes ATCC 9533 y Trychophyton rubrum ATCC 28188.....	111
4.7.8 Resultados de los diámetros de los halos de inhibición de la actividad antimicótico del jabón líquido antimicótico con jabón base sobre cepas de Trychophyton mentagrophytes ATCC 9533 y Trychophyton rubrum ATCC 28188	112
4.7.9 Resultados de Los Diámetros de los halos de inhibición de la Actividad Antimicótica del Jabón Líquido Antimicótico con Aceite Esencial Sobre Cepas De Trychophyton Mentagrophytes Atcc.....	113
4.7.10 Del control de calidad y estabilidad de los jabones líquidos antimicóticos elaborados.....	123
4.7.10.1 Resultados del control de calidad de los jabones líquidos Antimicóticos elaborados	123
4.7.10.2 Resultados del control de calidad de los jabones líquidos antimicóticos elaborados	124
4.8 De las pruebas toxicológicas	125
4.8.1 Irritación primaria de la piel con jabón líquido antimicótico del aceite esencial de Citrus limon (limón)	125

4.8.2 Sensibilización cutánea del jabón líquido con el aceite esencial de Citrus limón (limón)	131
4.8.3 Fototoxicidad y fotoalergicidad del jabón líquido con aceite esencial de Citrus limón (limón)	132
CONCLUSIONES	143
SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES	145
BIBLIOGRAFÍA	146
ANEXO FOTOGRAFICO	154
ANEXO 1: AUTORIZACIÓN PARA EJECUTAR TRABAJO DE TESIS	
REF. 7105 DRSC_PROV. No. 0261- 2010-HRC.DE.....	170
ANEXO 2: IDENTIFICACIÓN DE LA PLANTA N° 01 POR EL HERBARIO	
VARGAS – UNSAAC	171
ANEXO 3 : IDENTIFICACIÓN DE LA PLANTA N° 02 POR EL HERBARIO	
VARGAS – UNSAAC	172
ANEXO 4: CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL SEGÚN CIÉ DE MICOSIS	173
ANEXO 5: LA DECLARACION DE HELSINKI DE LA ASOCIACION MEDICA	
MUNDIAL Y EL CODIGO DE NUREMBERG DE 1946	174
ANEXO 6: DIRECCION REGIONAL DE SALUD INFORMACION SOBRE	
DERMATOFITOSIS: AREA DE EPIDEOMIOLOGIA 2007- 2008	182
ANEXO 7: DIRECCION REGIONAL DE SALUD INFORMACION SOBRE	
DERMATOFITOSIS: AREA DE EPIDEOMIOLOGIA 2009- 2010	184
ANEXO 8: CLASIFICACIÓN DE GRADO DE ERITEMA	186
ANEXO 9: FICHA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS DE INSUMOS Y	
CANTIDADES PARA LA BASE DEL JABON LÍQUIDO	187
ANEXO 10: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA MEDICIÓN DE LOS	
HALOS DE INHIBICIÓN DEL EXTRACTO HEXÁNICO DE	
Ophryosporus peruvianus	188
ANEXO 11: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA MEDICIÓN	
DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL	
DE Citrus limón (limón).....	189

ANEXO 12: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE Citrus limón (limón).....	190
ANEXO 13: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE Citrus limón (limón).....	191
ANEXO 14: FICHA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA PRUEBA DE IRRITACIÓN PRIMARIA DE LA PIEL.....	192
ANEXO 15: FICHA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA PRUEBA DE SENSIBILIZACIÓN CUTÁNEA	193
ANEXO 16: FICHA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA PRUEBA DE FOTOSENSIBILIZACIÓN, FOTOTOXICIDAD CUTÁNEA	194
ANEXO 17: FICHA DE EVALUACION PARA PACIENTES DEL HOSPITAL REGIONAL DEL CUSCO	195
ANEXO 18: CARTA DE CONSENTIMIENTO DE LOS PACIENTES VOLUNTARIOS PARA SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO.....	196
ANEXO 19: CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL JABON LIQUIDO AL 0.2 % DEL ACEITE ESENCIAL DE Citrus limón	197
ANEXO 20: CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL JABON LIQUIDO AL 0.11 % DEL EXTRACTO HEXANICO DE Ophryosporus peruvianus	198
ANEXO 21: CERTIFICADOS DE ANÁLISIS DE LOS SOLVENTES QUÍMICOS UTILIZADOS	199
ANEXO 22: INSTITUTO NACIONAL DE SALUD / CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS / COORDINACION DE BIOTERIO/ .CERTIFICADO SANITARIO N° 264-2010.....	204

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 01: ALGUNAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA INFECCIÓN POR DERMATOFITOS.....	26
CUADRO 02: DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	64
CUADRO 03: CONDICIONES DE TEMPERATURA, HUMEDAD Y LUZ PARA EVALUAR LA ESTABILIDAD	76
CUADRO 04: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Ophryosporus peruvianus</i> (Cjafra - cjafra)	86
CUADRO 05: RESULTADOS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CULTIVATIVO.....	87
CUADRO 06: PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DE ACEITE ESENCIAL DE <i>Citrus</i> <i>limon (limón)</i>	89
CUADRO 07: PRIMER PROCEDIMIENTO: 23. G DE EXTRACTO ETANÓLICO SEMISECO.....	90
CUADRO 08: SEGUNDO PROCEDIMIENTO: 17.35 G DE EXTRACTO DICLOROMETANÓLICO.....	90
CUADRO 09: TERCER PROCEDIMIENTO: 35. G DE EXTRACTO ETANÓLICO SEMISECO.....	92
CUADRO 10: CUARTO PROCEDIMIENTO: 28.5 G DE EXTRACTO DICLOROMETANÓLICO.....	92
CUADRO 11: DE LA ESTANDARIZACIÓN DE LA CURVA DE CRECIMIENTO DE LAS CEPA <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533 y <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188.....	94
CUADRO 12: ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA	96

CUADRO 13: RESULTADOS DEL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICO DEL EXTRACTO HEXÁNICO DE <i>Ophryosporus peruvianus</i> Cjafra - cjafra SOBRE CEPAS DE <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533 y <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188	98
CUADRO 14: DIÁMETROS DE HALOS DE INHIBICIÓN DEL <i>Ophryosporus peruvianus</i> Y DE <i>Citrus limón</i>	100
CUADRO 15: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE COMPATIBILIDAD E INCOMPATIBILIDAD DE EXCIPIENTES USADOS PARA LA FORMULACIÓN DEL JABON LIQUIDO ANTIMICÓTICO A BASE DE EXTRACTO HEXANICO DE <i>Ophryosporus peruvianus</i> (Cjafra - cjafra) ...	101
CUADRO 16: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE COMPATIBILIDAD E INCOMPATIBILIDAD DE EXCIPIENTES USADOS PARA LA FORMULACIÓN DEL JABON LIQUIDO ANTIMICÓTICO A BASE DE EXTRACTO HEXANICO DE <i>Citrus limón</i>	102
CUADRO 17: FORMULACION DEL JABON LÍQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL DE <i>Ophryosporus peruvianus</i> (Cjafra- cjafra)	104
CUADRO 18: FORMULACION DEL JABON LÍQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL DE <i>Citrus limón</i> (limón).....	106
CUADRO 19: FORMULACION DEFINITIVA DEL JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO CON EXTRACTO HEXANICO DE <i>Ophryosporus peruvianus</i>	108
CUADRO 20: ELABORACIÓN DEFINITIVA DEL JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO CON ACEITE ESENCIAL DE <i>Citrus limon</i> (limón) ..	109
CUADRO 21: RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DE LOS INSUMOS DEL JABON LIQUIDO BASE SOBRE CEPAS DE <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533 Y <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188.....	111

CUADRO 22: RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON EXTRACTO HEXANICO SOBRE CEPAS DE <i>Trychophyton entagrophytes</i> ATCC 9533	112
CUADRO 23: RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL SOBRE CEPAS DE <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC.....	113
CUADRO 24: RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL SOBRE CEPAS DE <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC.....	114
CUADRO 25: RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL SOBRE CEPAS DE <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC.....	115
CUADRO 26: RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON EXTRACTO HEXANICO SOBRE CEPAS DE <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188	118
CUADRO 27: RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL SOBRE CEPAS DE <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188.....	119
CUADRO 28: RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON EXTRACTO HEXANICO SOBRE CEPAS DE <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188	120

CUADRO 29: RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL SOBRE CEPAS DE <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188	120
CUADRO 30: RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LOS JABONES LÍQUIDOS ANTIMICÓTICOS ELABORADOS	123
CUADRO 31: RESULTADOS DE LA ESTABILIDAD DE LOS JABONES LÍQUIDOS ANTIMICÓTICOS ELABORADOS	124
CUADRO 32: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN RATONES <i>Mus musculus</i> CEPA Balb/c /CNPB SIN ABRACION.....	125
CUADRO 33: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN RATONES <i>Mus musculus</i> CEPA Balb/c /CNPB CON ABRACION	126
CUADRO 34: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN RATONES <i>Mus musculus</i> CEPA Balb/c /CNPB SIN ABRACION.....	127
CUADRO 35: GRADO DE ERITEMA	129
CUADRO 36: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SENSIBILIZACION CUTANEA DEL JABON LIQUIDO CON ACITE ESENCIAL DE Citrus limón EN RATONES <i>Mus musculus</i> CEPA Balb/c /CNPB	131
CUADRO 37: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE FOTOTOXICIDAD Y FOTOALERGICIDAD DEL JABON LIQUIDO CON ACEITE ESENCIAL DE Citrus limón EN RATONES <i>Mus musculus</i> CEPA Balb/c /CNPB.....	132
CUADRO 38: RESULTADOS DE JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO EN PACIENTES CON DERMATOFITOSIS QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL DEL CUSCO	135

CUADRO 39: CONDICIÓN DEL PACIENTE DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO DE EXTRACTO HEXÁNICO DE <i>Ophryosporus peruvianus</i> (Cjafra - cjafra) al 0.11%.....	136
CUADRO 40: TRATAMIENTO CON JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO CON ACEITE ESENCIAL DE CITRUS LIMÓN AL 0.2%.....	138
CUADRO 42: TRATAMIENTO CON CLOTRIMAZOL AL 1% CREMA	140

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 01: PRIMER PROCEDIMIENTO: 23.G DEL EXTRACTO ETANÓLICO SEMISECO	91
GRÁFICO 02: SEGUNDO PROCEDIMIENTO: 17.35 DE EXTRACTO DICLOROMETANÓLICO.....	91
GRÁFICO 05: COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIMICÓTICO ENTRE EL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Ophryosporus peruvianus</i> (Cjafra - cjafra) Y EL ACEITE ESENCIAL DE <i>Citrus limón</i> – DIÁMETROS DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm) PARA <i>trychophyton</i> <i>mentagrophytes</i> ATCC 9533	97
GRÁFICO 06: DIÁMETROS DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm) PARA <i>trychophyton rubrum</i> ATCC 28188	97
GRÁFICO 07: FORMULACIÓN DEL JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO DE <i>Ophryosporus peruvianus</i>	105
GRÁFICO 08: FORMULACIÓN DEL JABÓN LÍQUIDO ANTIMICÓTICO DE ACEITE ESENCIAL DE <i>Citrus limon</i> (limón).....	107
GRÁFICO 09: DIÁMETROS DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm) EN CEPAS DE <i>Trychophyton mentagrophytes</i> CON JABÓN LIQUIDO DE EXTRACTO HEXÁNICO	116
GRÁFICO 10 DIÁMETROS DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm) EN CEPAS DE <i>Trychophyton mentagrophytes</i> CON JABON LIQUIDO DE ACEITE ESENCIAL.....	116

GRÁFICO 11: DIÁMETROS DEL HALO DE INHIBICIÓN EN (mm) EN CEPAS DE <i>trychophyton rubrum</i> CON EXTRACTO HEXÁNICO	121
GRÁFICO 12: DIÁMETROS DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm) EN CEPAS DE <i>Trychophyton rubrum</i> CON ACEITE ESENCIAL	122
GRÁFICO 13: PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION CON ABRACION	128
GRÁFICO 14: PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION SIN ABRACION	128
GRÁFICO 15: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION CON ABRACION ...	130
GRÁFICO 16: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION CON ABRACION.....	130
GRÁFICO 17: GRADO DE ERITEMA.....	133
GRÁFICO 18: GRADO DE EDEMA	134
GRÁFICO 19: CONDICIÓN DEL PACIENTE DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON JABÓN LÍQUIDO ANTIMICÓTICO DE EXTRACTO HEXANICO DE <i>Ophryosporus peruvianus</i> (Qafra - qafra) al 0.11%	136
GRÁFICO 20: CONDICIÓN DEL PACIENTE DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON JABÓN LÍQUIDO ANTIMICÓTICO DEL ACEITE ESENCIAL DEL <i>Citrus limon</i> al 0.2%	139
GRÁFICO 21: CONDICIÓN DEL PACIENTE DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON JABÓN LÍQUIDO ANTIMICÓTICO DEL CLOTRIMAZOL AL 1% CREMA	141

DEDICATORIA

*A mi señor, Jesús, quien me dio la fe,
la fortaleza la salud y la esperanza
para terminar este trabajo.*

*Con la mejor gratitud a mis PADRES, las personas que
más han influido en mi vida, a mi Papá Efraín Cáceres,
por su espíritu generoso, alegre, valiente y aventurero,
por su ejemplo de vida, pero sobre todo por su amor y
apoyo incondicional. A mi Mamá Norberta Inocencio
de Cáceres, por su fortaleza, generosidad, infinita
paciencia y amor. Gracias por enseñarme desde
pequeño a luchar para alcanzar mis metas. Mi triunfo
es de ustedes.*

*A mis HERMANOS menores, Zeida,
Rhony, Elizabeth, María Julia y
Jair Jeremy por su cariño, apoyo
incondicional, confianza y respaldo,
ahora más que nunca, gracias.*

*A MI ABUELITA Alejandrina (Mamá aleja), por las
bendiciones que a través de sus oraciones en quechua
recibo de Dios.*

*A MIS SOBRINOS Leonel y Anabel,
por las risas, los sueños y la esperanza.*

*A Lourdes Elena, por su cariño y sus palabras de ánimo
envueltas en una sonrisa.*

*A mis incondicionales AMIGOS Herbel,
Richar, Luis y amigas Alida y Silvia
por el apoyo y el aliento constante
para culminar este trabajo.*

HUGO CACERES INOCENCIO

DEDICATORIA

A mi señor Jesús, que por intermedio de él puedo llegar a Dios nuestro señor, quienes me dan la fortaleza de seguir adelante.

A la memoria de mi Papá Edgar, quien fue mi inspiración para culminar la ilusión de verme profesional.

A la memoria de mis Hermanos: Alain, Juan Carlos, Edgar Jesús, por ellos mi fuerza para seguir adelante.

A la memoria de mi amado esposo quién fue mi apoyo moral y espiritual, por ese amor incondicional que me supiste dar, gracias por estar a mi lado siempre, por tu alma generosa y noble, por ser bueno y amoroso NUNCA TE OLVIDARE.

A mi Mami Luzmila, por su generosidad infinita, por su fortaleza en todo momento, por su apoyo incondicional, por su gran paciencia y amor. Gracias mamita por estar siempre conmigo, en todo momento gracias por tu confianza y respaldo.

A mi hermana Maryetta, gracias por todo tu apoyo, confianza, gracias por estar a mi lado siempre, gracias por el aliento constante.

Gracias Santos, mi hermano, por tus palabras de ánimo y tu apoyo.

Gracias a mis dos tesoros, Johaquin y Esthefano que han sido mi motor y mi fuerza para seguir adelante.

A mi tía Bertha, gracias por tus palabras de ánimo constante.

Gracias a todos mis incondicionales familiares y amigos, por su aliento constante para culminar este trabajo. A todos ustedes muchas gracias.

KARINA YENNY QUISPE BACA

RESUMEN

El presente trabajo tiene por finalidad comparar la actividad antimicótica "in Vitro" e "in Vivo" del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) y del aceite esencial de *Citrus limón*(limón) y a partir de ello elaborar la forma farmacéutica de jabón líquido. El extracto hexánico se ha obtenido por fraccionamiento del extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus* y el aceite esencial de *Citrus limón* (limón) se ha obtenido por el método de destilación por arrastre de vapor de agua de las cáscaras del fruto maduro del limón dulce. El extracto hexánico como el aceite esencial se han sometido a pruebas microbiológicas determinandose su actividad antimicótica contra *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 así como *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 mediante el método de agar en placa escavado, los diámetros de inhibición de la prueba en agar en placa escavado para *Trichophyton mentagrophytes* fue en promedio de 18 mm a una dosis de 10 mg/ml del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* y para *Trihophyton rubrum* fue de 22mm de halo de inhibición a un volumen de 50 micro litros para el aceite esencial de *Citrus limón*.

Se realizaron las pruebas de irritación primaria de piel, sensibilización cutánea, fototoxicidad y fotoalergicidad en ratones albinos especie *Mus musculus* balbc/CNPB. Donde se observó:

- El aceite esencial de *Citrus limon* y el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* en su forma de jabón liquido son irritantes débiles para la piel
- El aceite esencial de *Citrus limon* y el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* en su forma de jabón liquido son Sensibilizante débiles para la piel
- El aceite esencial de *Citrus limon* y el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* en su forma de jabón liquido son agentes fototóxico débil y aparentemente no fotoalergénico para la piel

Se realizó la elaboración de la forma farmacéutica donde se probó diferentes formulaciones y se eligió aquel que presentaba mejor compatibilidades y mejores características con el extractos y con el aceite esencial, se prepararon jabones líquidos a diferentes concentraciones y la formulación elegida fue el jabón líquido a 210 mg de extracto y de 200µL de aceite esencial

Se llegó a las siguientes conclusiones:

- 1-. El extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* presento efecto antimicótico sobre las dos especies en comparación con el fármaco patrón (clotrimazol).

- 2-. El aceite esencial tiene un mayor efecto antimicótico frente a las dos especies.
- 3-. El extracto hexánico como el aceite esencial incorporado al jabón líquido presentan actividad antimicótica en ambas especies de hongos patógenos.
- 4.- El jabón líquido con aceite esencial de *Citrus limón* y el jabón líquido con extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* mejoraron la condición de los pacientes con dermatofitosis

Palabras clave: Aceite esencial de *Citrus limón* Efecto antimicótico actividad antimicótica dermatotoxicidad, fototoxicidad, fotoalergicidad.

ABSTRACT

The present work has as a finality to prove the antifungal activity in vitro, and in Vivo the extractors hexane they *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) and they *Citrus limo* (limon), and from them to determinate the pharmaceutical form and the adequate dose by doing a dermatotoxicity study from the pharmaceutical form. The essential oil of extracte hexane has been obtained as a fraction they extract etanólico they *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) and The essential oil has been obtained through the steam distillation method of the fruit dulset maduro parts of the plant. The extracte hexane and essential oil This was submitted to a phytochemical analysis microbiology. Through the agar diffusion in excavation plate, it was determined the antifungal activity against strains of *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 and *Trichophyton rubrum* ATCC 28188. The diameters of the test agar diffusion in excavation plate was of 18mm to a volume of 50ul of essential oil of *Citrus limon* (limon), determining the minimum inhibitory concentration that was of 10mg/mL, the standard concentration for the oil that was of 50 µL obtaining inhibition halos of 18 mm and 22mm for *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 and *Trichophyton rubrum* ATCC 28188

It was performed the primary skin irritation, cutaneous sensitization, photoallergy and phototoxic in albino mice strain Balbc/CNPB. Where it was found:

- The essential oil is a weak irritant for the skin.
- The essential oil is a weak sensitizing for the skin.
- The essential oil is a weak phototoxic agent and apparently not photoallergenic for the skin

It was realized the elaboration of the pharmaceutical form and it has been tested different kinds of bases, where it has been chosen the base that showed the best homogeneity and the best characteristics: the chosen base was the jabon liquid, it was formulated and prepared jabon at different concentrations and the chosen formula was the jabon at 20 0 µL of essential oil of *Citrus limon* (limon)

Finally it was done the test of primary skin irritation, cutaneous sensitization, photoallergy and phototoxic. Where it was found that The jabon liquid at 2% from the essential oil of Citrus limon (limon) is a weak irritant for the skin.

It was reached the following conclusion:

- 1.- The extracte hexane the *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) effect present antimicotic in two species micotics the *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 and *Trichophyton rubrum* ATCC 28188
2. - The essential oil of *Citrus limon* (limon) showed antifungal effect over the both strains, in comparison with the standard drug the essential oil has a major antifungal effect, it was concluded that the sample is a weak dermatotoxic substance as equal as the elaborated pharmaceutical form.
3. - the extracte hexane and essential oil of *Citrus limon* (limon) incorporeret all jabon liquid present activity antimicotic in the *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 and *Trichophyton rubrum* ATCC 28188
- 4.- the jabon liquid wits essential oil of *Citrus limon* (limon) and extracte hexane the *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) major the condition they pasient.

Key Words: Essential oil of *ACitrus limon* (limon) Antifungal Effect, Dermato Toxicity, edema, erythema, phototoxic, photoallergic.

ABREVIATURAS

msnm:	metros sobre el nivel del mar
RMN:	Resonancia magnética nuclear
DE₅₀:	Dosis efectiva media
CCF:	Cromatografía en capa fina
UV:	Ultra violeta
CMI:	Concentración mínima inhibitoria
DRAE:	Diccionario de la Real Academia Española
QP:	Químicamente Puro
DMSO:	Dimetilsulfoxido
pH:	Potencial de hidrogeno
EDTA:	Etilendiaminotetraacético
mm:	milímetros
UFC:	Unidades formadoras de colonia
RH:	Recuento de hongos
RL:	Recuento de levaduras
RMAMV:	Recuentos de microorganismos aerobios mesófilos viables
µL:	microlitros
µg:	microgramos
A:	Absorbancia
CMI:	Concentración mínima inhibitoria
BHI:	Brain Heart Infusion
DE₅₀:	Dosis efectiva media
OGA:	Oxitetraciclina glucosa agar
fco:	frasco
top:	tópico
susp:	suspensión

env: envase

INCI: Nomenclatura Internacional Cosmético Ingrediente

DOP: Diagrama Operacional de Procesos

INTRODUCCIÓN

En el mercado farmacéutico hay un continuo interés en descubrir nuevos compuestos antimicóticos debido a que hay un aumento en la incidencia de dermatofitosis y la preocupación por descubrir fármacos más seguros y eficaces para esta enfermedad, es creciente.⁽⁵⁷⁾

El empleo de las plantas con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde hace mucho tiempo. Esto hizo que se profundice en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y se amplíe la experiencia en el empleo de los productos que de ellas se extraen.

En el Perú, como en otros países en vías de desarrollo, las plantas medicinales representan, todavía, una herramienta terapéutica importante en la medicina tradicional y la flora peruana ofrece grandes posibilidades para el descubrimiento de nuevos compuestos con actividad antimicrobiana, es así, que *Ophryosporus peruvianus* es una especie vegetal que ha demostrado tener acción contra *Trichophyton mentagrophytes*, hongo causante de dermatofitosis, estudios realizados demuestran que los metabolitos implicados en dicha acción se encuentran en el extracto etanólico de las partes aéreas (tallos, y hojas) de la planta. ⁽⁵⁹⁾.

A la especie *Citrus limon* "Limón" se le atribuye también la propiedad antimicótica, realizando la revisión bibliográfica, se encontró que existen referencias de su uso a nivel tradicional, existiendo reportes de investigaciones sobre su composición Fitoquímica ⁽⁹⁾.

En el 2007, Huancachoque, Betsy, en su trabajo "**Actividad antimicótica in vitro del zumo de *Citrus limon* (limón) frente a *Trichophyton rubrum***", reportó una concentración mínima inhibitoria de 200mg/50µL frente a cepas estándar de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

Esta investigación plantea la posibilidad de otorgarle una forma adecuada al extracto y al aceite esencial de las especies vegetales en estudio que permitió comparar su efectividad in vivo en pacientes con diagnóstico de dermatofitosis que acuden al Hospital Regional del Cusco.

La resistencia de los hongos a los fármacos antimicrobianos, la toxicidad de ellos y muchas veces su elevado costo, han producido una intensa búsqueda de moléculas nuevas, obtenidas por síntesis o bien desde fuentes naturales. Una de ellas es la investigación en plantas, la cual se realiza en muchas latitudes con resultados muy promisorios pues se han encontrado, por ejemplo, efectos antimicóticos en muchos extractos vegetales utilizando diversos solventes o en los aceites esenciales. ⁽¹⁾

CAPITULO I

ASPECTOS GENERALES

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La dermatofitosis es uno de los problemas sanitarios más frecuentes en la actualidad, ya que afecta a gran parte de la población. Su incidencia es grande tanto en los países sub desarrollados como en los desarrollados, entre personas de ambos sexos y de cualquier edad aunque se ha demostrado que su presencia se incrementa a medida que aumenta la edad de los pacientes. La piel humana aloja en condiciones normales, una flora microbiana muy diversa (bacterias y hongos). La mayoría de estos seres microscópicos le resultan útiles; no obstante en determinadas condiciones pueden proliferar rápida o incontroladamente y acabar causando infecciones. Se conocen como dermatofitosis las enfermedades de la piel de origen infeccioso cuyo agente causal es un hongo. Históricamente también se conocía como micosis superficiales, pues se consideraba que estas infecciones no iban más allá de las capas superficiales de la piel o del pelo. Actualmente se ha visto que con frecuencia pueden evocar una respuesta significativa en el paciente e incluso ser invasivas, lo que ha llevado a reconsiderar este término. ⁽⁵⁴⁾

La dermatofitosis es el segundo grupo principal de enfermedades micóticas. Este es un grupo de microorganismos íntimamente relacionados con la capacidad de utilizar la queratina y establecer cierto tipo de equilibrio con el huésped. Los dermatofitos son en cierto sentido, saprofitos especializados, ya que al no invadir los tejidos vivos utilizan solo los apéndices cornificados muertos del huésped como cabello, piel, uñas, pelaje y plumas. La dermatofitosis puede considerarse como la colonización por parte de dichos microorganismos, de las estructura cornificadas. La enfermedad clínica causada por los dermatofitos es, en su mayor parte, una reacción toxica y alérgica, por parte del huésped a la presencia de los microorganismos y de sus subproductos. ⁽⁵⁴⁾

Una de las infecciones que se presenta con mayor frecuencia en la población es la conocida como pie de atleta (tiña de los pies) que suele aparecer durante los meses cálidos. Y es causada habitualmente por *Trichophyton*, hongo que puede crecer en los espacios interdigitales calientes y húmedos de los pies lo que hace que la población haga consulta y constituya una gran demanda de medicamentos que muchas veces por el alto costo o por no tener resultados satisfactorios debido a la forma de presentación de éste o a la larga duración del tratamiento, la población se inclina más al uso de la medicina tradicional que describe un número apreciable de especies medicinales útiles para el tratamiento de este tipo de lesión. ⁽⁴⁶⁾

A la especie de *Citrus limon* "limon" se le atribuye la propiedad antimicótica, es así que se realizó la revisión bibliográfica, encontrándose tan solo los usos que se le da con esta propiedad a nivel tradicional, existiendo además solo algunos reportes de investigaciones sobre su composición Fitoquímica ⁽⁹⁾

Sin embargo no se han realizado estudios avanzados al respecto. La aplicación farmacéutica requiere saber si, a partir del extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) y del aceite esencial del *Citrus limon* "limon", es posible encontrar componentes activos para poder utilizarlos en las formulaciones farmacéuticas.

El número de pacientes con diagnóstico de micosis en los Hospitales en los últimos años se ha incrementado y el uso incorrecto, no efectivo y económicamente ineficiente de los medicamentos antimicóticos es un problema en la mayor parte de la población. Por este motivo y tomando en cuenta estos aspectos comparamos la variación del efecto antimicótico en *Trichophyton mentagrophytes* durante el proceso de fraccionamiento del extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) y del efecto antimicótico en *Trichophyton rubrum* durante el proceso de aislamiento del aceite esencial de *Citrus limon* (Limón). Por este motivo nos planteamos el siguiente problema.

1.2. FORMULACION DEL PROBLEMA.

¿Presentan en su forma de jabón líquido, el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) y el aceite esencial de *Citrus limon* (limón) el mismo efecto antimicótico frente al género *Trichophyton* causantes de micosis?

¿Presentan en su forma de jabón líquido, el mismo grado de Dermatotoxicidad, el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) y el aceite esencial de *Citrus limon* (limón)?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

1. Comparar el efecto antimicótico del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) y del aceite esencial de *Citrus limon* (limón) frente a *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*, en forma de jabón líquido y evaluar el efecto frente al fármaco patrón (Clotrimazol crema al 1%), en pacientes que acuden al Hospital Regional del Cusco
2. Evaluar el grado de Dermatotoxicidad del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra) y del aceite esencial de *Citrus limon* (limón), en forma de jabón líquido, en animales de experimentación.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Obtener el extracto hexánico de las partes aéreas secas de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra).
2. Obtener por arrastre de vapor aceite esencial de la corteza de los frutos frescos de *Citrus limon* (limón).
3. Realizar preformulaciones diferentes para lograr una formulación adecuada
4. Elaborar un jabón líquido usando el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra-cjafra) y determinar su concentración mínima inhibitoria.
5. Elaborar un jabón líquido usando el aceite esencial de los frutos frescos de *Citrus limon* (limon) y determinar su concentración mínima inhibitoria.
6. Realizar el control de calidad de los jabones líquidos antimicóticos elaborados.
7. Evaluar la dermatotoxicidad del extracto hexánico y del aceite esencial en los jabones líquidos a través del ensayo de irritación primaria, sensibilización cutánea y fotosensibilización en ratones albinos.
8. Evaluar el efecto antimicótico de los jabones líquidos de las dos especies vegetales en pacientes del Hospital Regional del Cusco

1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.

EN EL CONOCIMIENTO:

La especie vegetal *Ophryosporus peruvianus* (Cjafar – cjafra), planta muy utilizada en la medicina tradicional del Departamento de Ancash ha demostrado tener efecto antimicótico frente a *Trichophyton mentagrophytes* en tanto que *Citrus limon* ha demostrado tener efecto antimicótico frente a *Trichophyton rubrum*, por lo que sería necesario otorgarles una forma de administración que permita su evaluación en pacientes voluntarios con diagnóstico de Dermatofitosis que acuden al Hospital Regional del Cusco.

La dermatofitosis afecta la calidad de vida del paciente, causándole prurito, molestias y dolor en las áreas infectadas, en especial en la onicomicosis, que puede también afectar el comportamiento y la vida social de los pacientes, llevándolos a perder su autoestima.

EN LA APLICABILIDAD:

El presente trabajo tiene por finalidad, brindar una alternativa al tratamiento de las infecciones dérmicas producidas por *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*, que se presenten en nuestra Región. Por tanto el presente estudio permitirá mejorar las condiciones sanitarias e higiénicas disminuyendo el riesgo de contagios por hongos. Por lo tanto de comprobarse un buen efecto antimicótico de estas especies vegetales en forma de jabón líquido, se tendría una buena alternativa de tratamiento para esta enfermedad.

EN PRIORIDAD

El Departamento del Cusco presenta gran diversidad de plantas medicinales, motivo por el cual es de suma necesidad realizar un estudio comparativo de estas dos especies vegetales ya que pueda que varíen en presencia y concentración de metabolitos, de un Departamento a otro.

Dar a conocer a la población en general los beneficios del uso de la forma farmacéutica a base de aceite esencial de *Citrus limon* (limon) y de extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra-cjafra) a fin de que estas ofrezcan a los pacientes tratamiento antimicótico.

1.5. LIMITACIONES

- La poca información sobre trabajos clínicos realizados anteriormente con estas plantas, hace que no haya posibilidad de comparación del efecto antimicótico.
- Control y fiscalización de solventes e insumos químicos por parte del DINANDRO (Dirección Nacional de Narcóticos y Drogas)
- La poca colaboración del personal médico y personal asistencial del Hospital Regional del Cusco.

1.6. HIPOTESIS

- A. En la forma de jabón líquido, el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra), presenta mayor efecto antimicótico frente al género *Trichophyton* en comparación al aceite esencial de *Citrus limon* (limón).
- B. El extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) y el aceite esencial de *Citrus limon* (Limón) no presentan el mismo grado de dermatotoxicidad.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. ESTADO DE LA CUESTION

Las Onicomycosis son uno de los motivos de consulta dermatológica más frecuentes. La prevalencia mundial va en aumento y varía de 2.7% en el Reino Unido a 10% en los Estados Unidos.

Las uñas de los pies se afectan en 80% de los casos y *Trichophyton rubrum*, es el agente más frecuente (87% de los casos en México), seguido por *Trichophyton mentagrophytes*.⁽⁵⁸⁾

En países como México, las dermatofitosis ocupan 5% de la consulta dermatológica y en Finlandia, 8,4%⁽⁷⁾, en Venezuela, al igual que el resto del mundo, las micosis superficiales son uno de los principales motivos de consulta dermatológica, constituyendo un verdadero problema de salud pública por su alta morbilidad, aunque no ocasionan la muerte, pueden ser responsables de epidemias en escuelas, industrias, asilos, entre otros, siendo las dermatofitosis las más reportadas, seguidas por la pitiriasis versicolor y la candidiasis superficial, las cuales afectan al ser humano desde el nacimiento hasta la vejez.⁽³⁶⁾

A nivel de Perú, en la ciudad de Lima la patología dermatológica representa un 5 - 10% de los motivos de consulta en atención primaria. Por ello, es imprescindible que el médico general pueda manejar los problemas cutáneos más corrientes, incluyendo las infecciones superficiales por hongos, incluyendo las dermatomycosis y las onicomycosis. Estas patologías son delatadas frecuentemente por la historia clínica y la presencia de lesiones típicas, pero la confirmación suele requerir de estudios clínicos adecuados, como el examen de preparaciones en fresco con KOH, el cultivo micológico o incluso la realización de

biopsias. Pese a que las micosis superficiales son aún las más comunes, la frecuencia de las micosis profundas muestra una fuerte tendencia creciente, por el aumento del número de pacientes con inmunosupresión, no solo asociada con SIDA, sino también con los pacientes con cáncer (cuya sobrevivencia es mayor), así como con el aumento de trasplantes de órganos, cirugías complejas en general, implantación de dispositivos y/o administración crónica de esteroides o antibióticos de amplio espectro. ⁽³⁶⁾

En nuestra ciudad del Cusco, la Dirección Regional de Salud informa sobre Dermatofitosis en los años 2007, 2008, 2009 y 2010 en los que hubo un descenso en los casos por micosis, siendo la tiña del cuerpo (tiña corporis) la de mayor prevalencia con 40.87 % en todos los grupos etarios. Seguida de la tiña pedis con un 30.97 %, la tiña de la barba y del cuero cabelludo con 7.14 %, la tiña de las uñas con 6.43 %, y la tiña de la mano con 2.31 %, de un total de 2816 pacientes diagnosticados por dermatofitosis en el último año. (DIRESA - CUSCO 2010) ANEXO N° 08

2.1.2. ANTECEDENTES ETNOBOTANICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra).

- En Argentina, la parte aérea de *Ophryosporus charua*, son usadas en medicina tradicional como antisifilítico y para la erradicación de larvas de insectos ⁽²⁰⁾
- Las parte aéreas de *Ophryosporus peruvianus* son utilizadas en medicina tradicional en el departamento de Ancash, se le atribuye el efecto terapéutico de antiséptico; se emplea para la curación de heridas, llagas y lesiones de la piel. ⁽⁵⁹⁾

En el Cusco, los pobladores de la provincia de Urubamba usan las partes aéreas de esta especie vegetal para bañar a sus hijos menores, para la cura del mal de miedo, afecciones de la piel y otros.

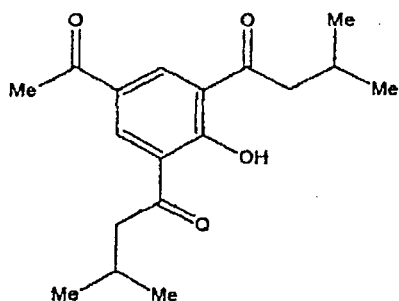
2.1.3. ANTECEDENTES ETNOBOTANICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Citrus limon* (limón).

- Diversos trabajos han demostrado que algunos componentes de los aceites esenciales de diversas especies cítricas presentan propiedades insecticidas y antifúngicas. ⁽³²⁾
- La presencia de aceites esenciales entre los componentes químicos de las flores de cítricos, las diferentes concentraciones de los mismos en las distintas especies; las observaciones realizadas por Agostini *et al.* Sobre la diferencia de susceptibilidad de las distintas especies cítricas a la caída prematura de los frutos, en el área de Montecarlo, Misiones; y las propiedades fungicidas y/o insecticidas de algunos de estos componentes, permiten suponer que, en algunas de las especies cítricas, estos componentes florales presentan acción inhibitoria sobre el *Colletotrichum acutatum*, agente causal de la caída prematura de los frutos. ⁽³⁾
- En el libro “Las frutas en la Medicina Tradicional” (1998) menciona que el zumo de limón con agua aplicado en lavados hace desaparecer el sudor de los pies, manos y sobacos, contra la caspa no hay nada mejor que lavarse con el zumo de limón ligeramente asado. ⁽⁹⁾

2.1.4. ANTECEDENTES FITOQUÍMICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra).

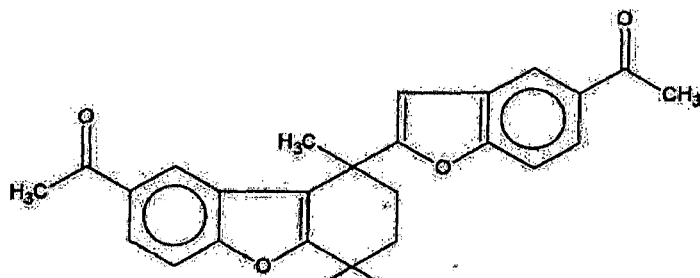
- Bohlmann y colaboradores (1984) aislaron el compuesto 3,5-bis-Isovaleril-p-hidroxiacetofenona, por fraccionamiento sistemático a partir del extracto triclorometanólico de las partes aéreas de *Ophryosporus peruvianus*, la estructura fue determinada espectroscópicamente.

Fig.01 3,5- bis-isovaleril- p-hidroxiacetofenona



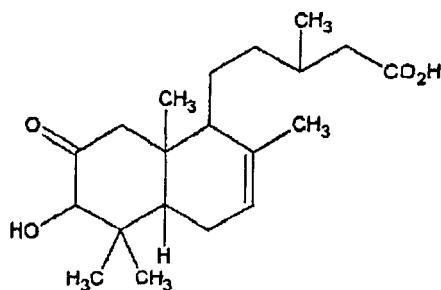
- En la especie *Ophryosporus charua*, reportan la presencia de 5 nuevos derivados del benzofurano y 2 derivados del prenilado p-hidroxiacetofenona. El aceite esencial contiene acetato de lavandulilo, lavandulol y dehidrotremetona, como principales constituyentes. Las estructuras fueron determinadas por espectroscopia de RMN. ⁽²⁰⁾

Fig.02 Derivado del benzofurano



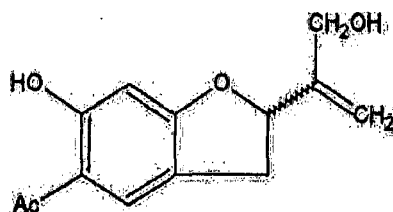
Asimismo, indican haber aislado, de las partes aéreas de la planta, 2 nuevos diterpenos y 4 conocidos flavonoides. Los diterpenos fueron caracterizados como ácido 2-oxo-3a-hidroxi -ent-labd-7-en-15-oico y ácido 2-oxo-ent-haliman-I (10) ,7-dien-15-oico. Los flavonoides fueron identificados como apigenin-7,4'-dimetileter, circimaritina, salvigenina y 7-o-metileriodictiol. Las estructuras fueron establecidas por análisis espectral de RMN.

Fig. 03 Acido2-oxo-3 α -hidroxi-ent-labd-7-en-15-oico



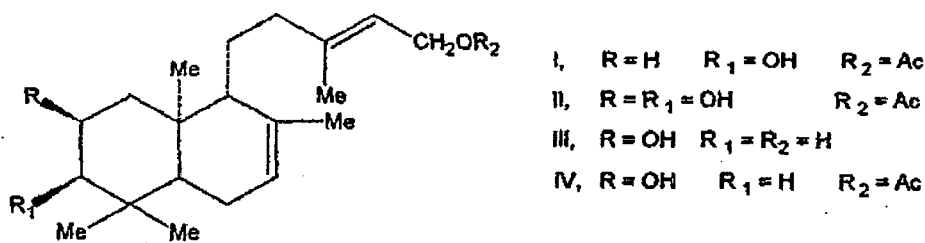
- Sigstad y colaboradores (1996) trabajando sobre las partes aéreas de *Ophryosporus lorentzii*, obtuvieron: 3 nuevas cromonas, una conocida cromona, un nuevo premiado benzofurano el 5-acetil-trans-2-(hidroxiisopropil)-3-hidroxi-7-senecioilbenzofurano, 3 conocidos benzofuranos, la germacradienolida mollisorin A, Z-8-hidroxilanalol, el lignano mediaresinol, vomifoliol, isoscopoletin y el 3-indolaldehido. Las estructuras fueron elucidadas por espectroscopia de RMN.
- En la especie *Ophryosporus triangularis* Alarcón y colaboradores (1993) aislaron nuevas cromonas y benzofuranos, las estructuras fueron determinadas por métodos espectroscópicos.
- Sigstad y colaboradores (1993) indican haber aislado de las partes aéreas de *Ophryosporus macrodon* 8 nuevos diprenilados derivados de p- hidroxi acetofenona.

Fig. 04 Derivado de p-hidroxiacetofenona



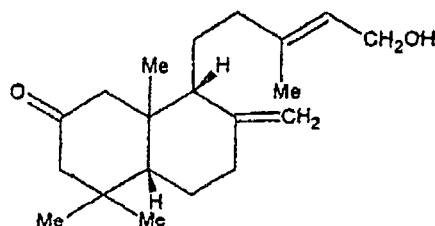
- Los estudios fitoquímicos de *Ophryosporus piquerioides* corresponden a Sigstad y colaboradores (1992) quienes obtuvieron, de las partes aéreas de la planta, 2 nuevos estereoisómeros 3,4-dihidroxi-2,2-dimetil-6,7-dimetoxicromanos, además de 3 conocidas eudesmanolidas, 1 β ,5 α -dihidroxi-10(14) eudesmano, un conocido benzofurano, escopoletin y siringaresinol.
- En la especie *Ophryosporus floribundus*, Zdero y colaboradores (1990) lograron aislar, de las partes aéreas de la planta, además de conocidos compuestos, 17 nuevos diterpenos, incluyendo 8 seco-ent-labdano, con un muy raro esqueleto carbonado. Las estructuras fueron elucidadas por espectroscopia de RMN.
- Ferracini y colaboradores (1989) de las partes aéreas de *Ophryosporus heptanthus*, aislaron un conocido y 3 nuevos diterpenoides tipo labdano (I-IV), 4 conocidas tremetonas y derivados de cromona y 2 conocidos flavonoides. Sus estructuras fueron establecidas por métodos espectroscópicos.

Fig. 05 Diterpenoides tipo labdano

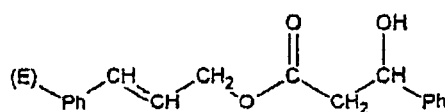


- Bohlmann y colaboradores (1984) aislaron por primera vez de las partes aéreas de la especie *Ophryosporus chilca*, el compuesto 2-oxo-labda-8(17),13-dien-15-ol (I) y un cinamoil ester (II).

Fig. 06 2-oxo-labda- 8(17) ,13-dien-15-ol



2-oxo-labda-8(17),13-dien-15-ol



Cinamoil ester

- Bohlmann y colaboradores (1979) informaron el aislamiento de 4- $\text{RC}_6\text{H}_4\text{O}_2\text{CCMe}$: CHMe ($\text{R}=\text{MeCH}:\text{CH}$, I, 2-epoxipropil), junto con Me (C.tplbond.C) $5\text{CH}:\text{CH}_2$, tremetones, triterpenos y un derivado de umbeliferona, de la especie *Ophryosporus angustifolius*, informaron el aislamiento de las estructuras fueron determinadas por RMN H^1 .
- De Fenik y colaboradores (1978) identificaron al acetato de lavandulilo como el constituyente mayoritario del aceite esencial de *Ophryosporus charua*.

2.1.5. ANTECEDENTES FITOQUÍMICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Citrus limon* (limón).

- Alcover Díaz, Francisco Javier, en la tesis intitulada, Estudio in vitro del efecto de tres aceites esenciales, sobre los principales agentes domésticos de naturaleza alergénica de origen acarológico y fúngico realizado en la Universidad del País Vasco, en la Facultad de Farmacia de Vitoria(UPV-EHU) en el año 2005 resume que : Los ácaros del polvo *Dermatophagoides pteronyssinus* y *Dermatophagoides farinae*, junto con

los hongos de las especies *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum* y *Openicillim notatum*, son los principales agentes biológicos relacionados con el desencadenamiento o/y agravamiento de enfermedades alérgicas en el entorno doméstico habitual de individuos genéticamente susceptibles. Dado el importante problema médico, así como la manifiesta alteración en la calidad de vida de los individuos atópicos que estos agentes provocan, se pone de manifiesto la necesidad de un sistema que, idealmente y con un solo compuesto elimine, en los ambientes cerrados toda la carga alérgica de los agentes mencionados, y no sea tóxico para el hombre y animales domésticos. Con estas consideraciones, los objetivos del presente trabajo han sido: Estudiar el efecto acaricida y fungicida de tres aceites esenciales: Árbol de Té, Limón y Perejil. Seleccionar un único compuesto, o en segundo término una combinación para su utilización como agente doméstico acaricida-fungicida.

2.1.6. ANTECEDENTES FARMACOLÓGICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra).

- **Rojas R. y col. “Actividad antimicrobiana de plantas medicinales peruanas seleccionadas” Journal of Ethnopharmacology, 2003.**
Reportaron que el extracto etanólico de las partes aéreas de *Ophryosporus peruvianus* presenta actividad antimicótica, inhibiendo el crecimiento "in vitro" de *Trichophyton mentagrophytes*, dicha actividad fue evaluada por medio del ensayo de difusión en Agar-excavado placa. El extracto etanólico fue obtenido por proceso de percolación. Los resultados obtenidos en esta investigación fueron: Un porcentaje de extracción de 4,3 % y un promedio de diámetros de halos de inhibición de 16 mm, a la concentración de 25 mg/mL.
- **Katy A, Silvia A. Coavoy, Sánchez, Ricardo, en el estudio: “Efecto antimicótico en *Trichophyton mentagrophytes* durante el proceso de fraccionamiento del extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus*. (2006)”**,

determinaron el efecto antimicótico del extracto de la especie en estudio a una concentración efectiva de 10 mg/mL frente a cepas estándar de *Trichophyton mentagrophytes* var. *Interdigitale*, el extracto hexánico presentó mayores diámetros de halos de inhibición con un valor promedio de 20.17mm

2.1.7. ANTECEDENTES FARMACOLÓGICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Citrus limon* (limón).

- En el Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental (1999), indica que en el estudio “ protección personal con repelente natural contra *Lutzomya youngi*, vector de la Leishmaniosis cutánea urbana en Venezuela “, hace uso del aceite esencial del *Citrus limon* “ limon” como repelente en concentraciones bajas disuelto en acetona e indica la extraordinaria facilidad de extraerlo por el método de arrastre por corriente de vapor ,obteniendo mayor rendimiento en las hojas que fueron colectadas por la mañana respecto a las que fueron recolectadas por la noche. La dosis efectiva media (DE₅₀) para el aceite esencial fue de 7.46 µg /cm² de piel ⁽¹³⁾
- La Real Farmacopea Española (2005) indica que el aceite esencial de “*Citrus limon* “limon es antiséptico, carminativo y diurético, actividad reforzada por la presencia de flavonoides (citroflavonoides) que, a demás, ejercen una actividad vitamínica: vasoprotectora (reduce la permeabilidad capilar y aumenta la resistencia). ⁽⁴²⁾

Huancachoque, Betsy; Del Carpio, Jiménez C. En el estudio intitulado “**Actividad antimicótica in vitro del zumo de *Citrus limon* (limón) frente a *Trichophyton rubrum* (2007)**”, determinaron la actividad antimicótica del zumo de la especie en estudio a una concentración mínima inhibitoria de 200mg/50µL frente a cepas estándar de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

2.2. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS.

2.2.1. ASPECTOS BOTÁNICOS DE LA ESPECIE *Ophryosporus peruvianus*

2.2.1.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reyno : Vegetal

División : Magnoliophyta (= Angiospermae)

Subclase : Asteridae

Orden : Asterales

Familia : Asteraceae

Género : *Ophryosporus*

Especie : *Ophryosporus peruviana* (J.G. Gmelin) King & H. Robin.

Nombre científico : *Ophryosporus peruvianus*

Nombre vulgar : Cjafra – cjafra , Qhafra – qhafra, Qafra – qafra, Sheklla

Sinonimias : *Flaveria peruviana* J.G. Gmel, *Piquería artemisioides* Kunth,
Piquería peruviana (J.G. Gmel) B.L. Rob.

2.2.1.2. SINONIMIAS DE NOMBRES COMUNES DE LA PLANTA.

- Sheklla, Cushpishkai, Chichicasha, Chichis, Japia-japia, Kulpishka, Qhafra-qhafra, Quiuña-quiuña ⁽⁵⁹⁾

VER ANEXO N° 02

2.2.1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.

A. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y MORFOLÓGICAS DEL GÉNERO.

Hierbas a arbustos; tallo estriado, pubérulo. Hojas opuestas o raramente alternas, pecíolos cortos, lámina muy pequeña a grande; nervación trinervada, con puntuaciones glandulares o sin ellas. Inflorescencia corimbosa o tirsoide, cabezuelas subsésiles; involucro con 4-8 brácteas eximbricadas en 1-2 series desiguales; receptáculo ligeramente convexo, glabro. Flores 3-12 por cabezuela; corola blanca,

estrechamente infundibuliforme o campanulada, lobulada; apéndice de la antera obsoleto divididos en 2 lóbulos diminutos; base del estilo no agrandada, glabra; ramas del estilo con prominentes ápices hinchados. Aquenios prismáticos, 5-costatos, con minúsculos pelos glandulares o setas; carpopodio distinto, en forma de tapón, con borde superior saliente; vilano de cerdas escabrosas a plumosas ⁽⁴¹⁾.

B. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y MORFOLÓGICAS DE LA ESPECIE.

Arbusto de 1 m de alto; tallo terete glabro. Hojas aparentemente en fascículos por el poco desarrollo de las ramas laterales con corto pecíolo: lámina elíptico cordado de 1,5-2 cm de largo por 7-8 mm de ancho, ambas superficies glabras, margen serrado dentado, ápice agudo, base atenuada. Capitulescencia espiciforme, laxas. Capítulos pedunculados; involucro cilíndrico de 2-3 mm de alto; filarias de 2-3 series, lineal, escariosa; flores hermafroditas de 7-8 corolas triangulares blancas de 2-3 mm de alto. Aquenios de 1-1,5 mm de largo, prismáticos, negros; papus ausente ⁽¹⁰⁾

2.2.1.4. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

Los andes de Ecuador y Perú entre los 0 - 3500 msnm¹⁰. Crecen en zonas secas entre rocas, pedregales y cactáceas.

2.2.2. ASPECTOS BOTÁNICOS DE LA ESPECIE *Citrus limon* (limón)

2.2.2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.

Reyno	: Vegetal
División	: Magnoliophyta (= Magnoliid complex).
Clase	: Magnoliopsida (= Eudicotiledóneas).
SubClase	: Rosidae.
Orden	: Sapindales.
Familia	: Rutaceae.
Género	: <i>Citrus</i> .
Especie	: <i>Citrus limon</i> (L) Burman .f.

Ver Anexo N° 03

2.2.2.2. SINONIMIA DE NOMBRES COMUNES DE LA PLANTA

"Limón con pezón", "limonero", "limón dulce". Lima limón, limón real.

2.2.2.3 HISTORIA DEL LIMON

El limón, es nativo de Birmania Septentrional y China Meridional, fue cultivado comercialmente en primer lugar en Italia y Sicilia a donde fue llevado desde Palestina durante el siglo XIII. Durante mucho tiempo Italia fue el único centro donde se cultivó el limón. También se cultivó con éxito en terrenos semiáridos en España, Estados Unidos y Palestina. En California las variedades tipo son Eureka, Lisboa y Villafranca.

A. CARACTERISTICAS BOTANICAS Y CLASIFICACION DE LA ESPECIE

Árbol perennifolio cítrico de 3-5 m de altura de la familia de las rutáceas. Presenta hojas dentadas, lanceoladas o elípticas, acabadas en punta, presenta bordes festoneados. Flores con pétalos blancos interiormente y con los extremos rosados, presenta una base con espina, lustrosa, peciolada y se multiplica por semillas o injertos de escudetes. ⁽²⁵⁾

El fruto es un hesperidio de hasta 5 cm, de corteza gruesa y de un color amarillo fuerte cuando está bien maduro. ⁽³⁷⁾

El fruto de limón es de color amarillento – verdoso de forma oval y elipsoide, la superficie aureolar se prolonga en forma de pezón puntiagudo de superficie ligeramente rugosa. El pericarpio es una capa parenquimatosa rica en cloroplastos y que contiene numerosos sacos de aceites esenciales, carotenos y xantofila que son pigmentos responsables de la coloración del fruto.

En lo que concierne a la clasificación de la especie, cabe mencionar que únicamente dos especies del género citrus producen limones que son *Citrus limon* (L) o limón autentico y *Citrus aurantifolia* (Christm Swingle) o lima ácida.

La especie citrus aurantifolia es conocido en nuestro medio como limón sutil y la especie *Citrus limón* (L) es denominada limón real que en otros países es la principal especie en abundancia.

El limón sutil, conocido en otros países como lima acida o limón mejicano, se cultiva en el continente Americano en gran escala comercial y constituye la fruta cítrica de mayor importancia económica en las regiones tropicales. ⁽⁶²⁾

2.2.2.4 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Esta especie crece y florece todo el año especialmente en climas cálidos de la costa, la sierra y la selva, por su época de maduración las variedades se las clasifican en temprana (Otoño), intermedias (principio de invierno) y tardías (principio de primavera) ⁽²⁵⁾

En el departamento del Cusco, se produce limones en los principales valles tales como: la Convención, Quillabamba, Quincemil, Kosñipata y Urubamba en cantidades pequeñas que justifica realizar el presente trabajo de investigación, sin embargo el clima es uno de los factores determinantes para el crecimiento de la planta es así que el fruto de limón desarrolla con gran facilidad entre los 800 - 1200 msnm, aunque también se obtienen buenas cosechas en los lugares de altura considerable comprendidas entre los 1800-3000 msnm y en ambientes de los 22-26 °C se obtienen limones de considerable calidad ⁽⁶²⁾

A. COMPOSICION QUIMICA DEL GENERO CITRUS

Estructura molecular del isopreno, la unidad química de los terpenoides, compuesto principal de los aceites esenciales. Están formados principalmente por terpenoides volátiles, formados por unidades de isopreno unidas en estructuras de 10 carbonos (monoterpenoides) y 15 carbonos (sesquiterpenoides). Las sustancias responsables del olor suelen poseer en su estructura química grupos funcionales característicos: aldehídos, cetonas, ésteres, etc

Los principales componentes son: Flavonoides: hesperidósido, limocitrina en el pericarpio de los limones españoles. Ácidos: Ascórbico (Vitamina C), cítrico; caféico (fruto), aceites esenciales: rico en isopulegol, alfabergamoteno, alfa pineno, alfa terpineno, alfa tujeno, beta bisolobeno, betabergamoteno,

betafelandreno, citral, limoneno, y sabineno, (en el fruto, fundamentalmente de los limones de California), cafeína, (hojas), pectina, minerales potasio y calcio. ⁽⁴⁴⁾

En la corteza del fruto abunda la esencia de limon aproximadamente se puede sacar 3 gr. De esencia por cada kilogramo de limones, la cual se compone del 90% de d- limoneno con felandreno, citral y otras sustancias en menor proporción. ⁽²⁸⁾

Del pericarpio de *Citrus limon*, se puede obtener hasta 2.5% de aceite esencial de composición compleja: (+) – limoneno la pulpa del fruto contiene abundante pectina, azúcares, flavonoides. Así mismo el aceite esencial de limon debe contener no menos de 2.2% m/m de compuestos carboxílicos, calculados como citral ⁽²³⁾

B. DESCRIPCION FARMACOGNOSTICA DEL GENERO *Citrus limon*

(Limon)

Varios agentes reveladores, por ejemplo el limoneno se reconocen en las placas de CCF por que no absorben la luz UV 254 nm, adiciona bromo, no forma un derivado 2, 4 -dinitrofenilhidrazona y produce color pardo con el acido sulfúrico

El espectro UV de los monoterpenos y sesquiterpenos permite el reconocimiento de grupos funcionales y grupos cromóforos. Por ejemplo el limoneno presenta un máximo de absorción en 262 nm (E=6400).

Gracias a los desarrollos de la RMN se cuenta con bases de datos de los espectros, especialmente de RMN-¹³C para los monoterpenos y sesquiterpenos mas distribuidos. A continuación se presentan los desplazamientos químicos de los carbonos de varios monoterpenos como son: geraniol, linalool, mirceno, cis-citral, trans- citral, mentano, mentol, a terpineol, a-pineno, β-pineno, limoneno, carvona, cineol, alcanfor, a-terpineno y pulegona; y varios sesquiterpenos como: Farnesol, β-bisaboleno, trans-retinal, 9-cisretinal y 11-cis-retinal

Estructura molecular del isopreno, la unidad química de los terpenoides, compuesto principal de los aceites esenciales. Están formados principalmente por terpenoides volátiles, formados por unidades de isopreno unidas en estructuras de 10 carbonos (monoterpenoides) y 15 carbonos (sesquiterpenoides). Las sustancias responsables del olor suelen poseer en su estructura química grupos funcionales característicos: aldehídos, cetonas, ésteres, etc. ⁽¹¹⁾

2.2.3. DERMATOFITOSIS.

2.2.3.1. DEFINICIÓN.

Dermatofitosis son la formación de colonias de hongos dermatofíticos en los tejidos queratinizados: uñas, pelo y estrato córneo de la piel. La enfermedad, cuando se presenta, a causa de la formación de colonias, es consecuencia de la reacción del huésped a los productos metabólicos del hongo, más que a la invasión del tejido vivo por el microorganismo. La intensidad de la enfermedad depende de la cepa o de las especies del dermatofito y de la sensibilidad del huésped al hongo en particular, así como de la idiosincrasia de cada huésped. La dermatofitosis incluye varias entidades clínicas diferentes, según el sitio anatómico y el agente etiológico que se trata. Al presentarse la patología se manifiesta en el huésped una respuesta eccematoide, seguida de manifestaciones alérgicas e inflamatorias. El tipo y gravedad de estas lesiones están en relación con el estado inmune del huésped, así como la cepa y las especies del microorganismo causante de la infección ⁽⁵⁴⁾

2.2.3.2. EPIDEMIOLOGÍA.

Son micosis cosmopolitas que predominan en zonas tropicales. Se consideran como las más frecuentes de las enfermedades por hongos. Afecta a sujetos de cualquier edad, raza o sexo, así como de cualquier medio socioeconómico u ocupación.

En la ciudad del Cusco la Dirección Regional de salud informa sobre Dermatofitosis en los años de 2007, 2008 2009 y 2010 que hubo un descenso en los casos por dermatofitosis en la población en la cual la tiña del cuerpo (tiña corporis) tiene mayor prevalencia con un 40.87 % en todo grupo de edades. Seguido por tiña pedis con un 30.97 %. De un tota general de 2816 pacientes diagnosticados por dermatofitosis

FUENTE DIRESA CUSCO -2010 (ANEXO N° 06)

Las características predominantes de la dermatofitosis son

- Tinea capitis: Predomina en áreas rurales o suburbanas, es más frecuente en campesinos y en personas de medio socioeconómico bajo. Es casi exclusiva de (98%); a veces afecta mujeres después de la pubertad o alrededor de la menopausia.
- Tinea corporis: Se observa en todas las latitudes, altitudes y climas. Se presenta en cualquier sexo y edad. En niños predomina *Microsporum canis* y *Trichophyton tonsurans*, y en adultos, *Trichophyton rubrum*.
- Tinea cruris y Tinea pedis: Predominan en varones adultos. Es más frecuente en áreas urbanas, así como en deportistas, militares, nadadores y personas que por su ocupación usan zapatos cerrados, botas o tenis.
- Tinea unguium (Onicomycosis): Son las onicopatías más frecuentes; 54% depende de dermatofitos; constituyen un 10% de las dermatofitosis. Entre las enfermedades de la piel, ocupan cifras de 2 a 13%. Predominan de los 20 a 40 años de edad (48%); en niños se observan en 8 por ciento. Son factores predisponentes: Humedad, calor, tratamientos con glucocorticoides, diabetes y uso de calzado cerrado o de material sintético. Se relaciona con mala higiene y la costumbre de no secarse adecuadamente ⁽⁷⁾

2.2.3.3. ETIOPATOGENIA.

Los microorganismos causales se llaman dermatofitos, hongos queratinofilos que limitan su presencia a estructuras que contienen queratina: pelos, uñas y capa córnea ⁽⁷⁾

En la actualidad se han reconocido y se aceptan 41 especies de dermatofitos. Muchas de éstas sólo se han encontrado en el suelo y hasta ahora no se ha informado que ocasionen alguna enfermedad en el hombre o en animales. Con respecto a la enfermedad en el hombre, la mayor parte de las infecciones en todo el mundo son causadas por 11 especies ⁽⁵⁴⁾

Las dermatofitosis pueden contagiarse a partir de tres focos: lo más frecuente, de otra persona (por lo general, a través de los fómites y con menor frecuencia por contacto directo de una piel con otra); de animales, como perros y gatos, y, menos a menudo, del suelo ⁽²⁷⁾

Cuando se produce una infección fúngica superficial, es necesario que el dermatofito entre previamente en contacto con la piel. Tras este contacto, para que a su vez se inocule el microorganismo, han de influir factores pre disponentes tales como traumatismos o un aumento de la hidratación y de la maceración cutánea. Esto, acompañado de un incremento de la temperatura y sudoración, favorecen la incubación del hongo dermatofíticos, que crecerá en el estrato córneo sin producir signos de infección. La infección se establece en el momento en que la velocidad de crecimiento del hongo supera la actividad en la regeneración de la piel. Si se diera el caso contrario, el hongo sería eliminado en poco tiempo ⁽²⁵⁾

La infección se explica de la siguiente manera: cuando una espora se deposita en la superficie de la piel, se reproduce en la capa córnea; inicialmente origina una pápula y luego una lesión anular por la extensión radiada de los filamentos, también ocurre parasitación de los vellos y de este modo actúan como reservorios. En la piel cabelluda el hongo se reproduce en la capa córnea y (a nivel del orificio folicular) penetra e invade la vaina del pelo; se extiende hacia la profundidad sin sobrepasar la zona queratogena; al mismo tiempo se extiende hacia la parte distal del pelo y lo transforma en un pelo grueso y frágil que se rompe con facilidad (pelo tiñoso). En uñas, el dermatofito penetra por la queratina blanda del hiponiquio, por el borde lateral de la uña, o por la lúnula, y afecta al eponiquio. Después afecta el lecho y en la uña misma se extiende por una red de túneles excavados en la queratina dura sin invadir la matriz. El hongo penetra en los comeocitos o sólo los separa mecánicamente ⁽⁷⁾

2.2.3.4. CUADRO CLÍNICO.

Las infecciones por dermatofitos se denominan erróneamente tiña o *Tinea* debido a las lesiones circulares prominentes. Las formas clínicas dependen del sitio afectado. Una sola especie es capaz de causar más de un tipo de infección clínica. Por el contrario, una sola forma clínica, como la tiña del cuerpo, puede ser causada por más de una especie de dermatofito. Los agentes más comunes vinculados con formas clínicas particulares se presentan en el siguiente cuadro ⁽¹⁵⁾

Cuadro N° 01

Enfermedad de la piel	Localización de las lesiones	Aspecto clínico	Hongos causantes más frecuentes
Tinea corporis (circinada)	Piel lisa lampiña	Placas circulares con bordes vesiculados, eritematosas, crecientes y descamación central. Pruriginosa,	<i>Microsporum canis</i> , <i>Trichophyton</i> <i>Mentagrophytes</i>
Tinea pedis (pie de atleta)	Espacios interdigitales de los pies en personas que usan zapatos	Aguda: prurito, vesículas Eritematosas. Crónica: prurito, descamación, Fisuras.	<i>Trichophyton rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> .
Tinea cruris (comezón de jinete)	Ingle	Lesión eritematosa descamante en áreas intertriginosas. pruriginosa	<i>T. rubrum</i> <i>T. mentagrophytes</i> , <i>E. floccosum</i> .
Tinea capitis	Pelo de la piel cabelluda. Endotrix: hongos dentro del pelo. Ectotrix: hongos en la Superficie del pelo.	Placas de alopecia areata con cabellos de tallos cortos o cabellos rotos en los folículos pilosos. Querión raro. Pelos fluorescentes por infección con <i>Microsporum</i> .	<i>M. canis</i> , <i>Trichophyton</i> <i>Tonsurans</i> .
Tinea barbae	Pelo de la barba	Lesión eritematosa, edematosa.	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i>
Tinea unguium (onicomicosis)	Uña	Uñas distalmente engrosadas o quebradizas; alteraciones del color, deslustradas. Habitualmente acompañada de <i>Tinea peáis</i> .	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>E. floccosum</i> .

Algunas características clínicas de la infección por dermatofitos

Fuente: Brooks. G.: Microbiología médica, 19ª Edición. Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V., México, D.F., México.2005)

A. Tinea pedis (tiña del pie, pie de atleta).

La Tinea pedis es la más prevalente de todas las dermatofitosis. Se presenta como una infección crónica en los pliegues interdigitales del pie. Otras variedades son los tipos vesiculares, ulceroso y en mocasín, con hiperqueratosis de la planta del pie. Inicialmente hay prurito entre los dedos de los pies y presencia de pequeñas vesículas que se rompen, la cual son las principales manifestaciones.
(15)

B. Tinea unguium (tiña de las uñas, onicomicosis).

La infección de las uñas puede ser subsecuente a una Tinea pedis prolongada. Con la invasión por hifas las uñas se vuelven amarillas, quebradizas, engrosadas y friables. Pueden estar afectadas una o más uñas de los pies ⁽¹⁵⁾

C. Tinea corporis (tiña del cuerpo), Tinea cruris (tiña de la ingle), y Tinea manus (tiña de las manos).

La dermatofitosis de la piel lampiña comúnmente da lugar a lesiones tiñosas anulares, con un centro escamoso sin pelo, rodeado por un borde rojizo creciente que puede ser seco o vesiculoso. El dermatofito sólo crece en el tejido muerto queratinizado, pero los metabolitos, las enzimas y los antígenos del hongo se difunden a través de las capas viables de la epidermis para causar eritema, formación de vesículas y prurito. Las infecciones con dermatofitos geófilos y zoófitos producen más irritación y más inflamación que las antropófilas. Conforme las hifas envejecen forman con frecuencia cadenas de artroconidios. Las lesiones se expanden en dirección centrífuga y es en la periferia donde más probablemente se obtenga material para diagnóstico, por el crecimiento activo de las hifas. La penetración en el estrato córneo recién formado de las superficies gruesas plantar y palmar explica la infección persistente en esos sitios. Cuando la infección se presenta en la región inguinal se le denomina Tinea cruris o (comezón del jinete). La mayor parte de estas infecciones afecta a los varones, y se presentan como lesiones secas y pruriginosas que con frecuencia se inician sobre el escroto y se propagan a la ingle. La Tinea manus se refiere a las lesiones de las

manos o de los dedos. Las lesiones escamosas y secas pueden afectar una o ambas manos, así como uno, dos o más dedos ⁽¹⁵⁾

D. Tinea capitis (tina de la cabeza) y Tinea barbae (tina de la barba).

Tinea capitis es la dermatofitosis o tina de la piel de la barba y los cabellos. La infección se inicia con invasión de hifas sobre la piel cabelluda con propagación subsecuente hacia la pared queratinizada del folículo piloso. La infección del pelo tiene lugar justo arriba de la raíz. Las hifas crecen hacia abajo sobre la porción no viable del cabello a la misma tasa con la que el cabello crece hacia arriba.

La infección produce placas circulares de color gris oscuro de alopecia, descamación y prurito. Conforme el pelo crece por fuera del folículo, las hifas de las especies *Microsporum* producen una cadena de esporas que forma una vaina alrededor del pelo (ectotrix). Estas esporas imparten una fluorescencia verdosa o plateada cuando se examinan los cabellos bajo luz de Wood (365 nm). Por el contrario, el *T. tonsurans*, principal causa de la tina de la cabeza de puntos negros, produce esporas dentro del pelo (endotrix). Estos cabellos no fluorescen; están debilitados y típicamente se rompen con facilidad en la abertura folicular. En los niños antes de la pubertad, la tina de la cabeza epidémica habitualmente es autolimitada. La tina de la barba afecta la región del mentón. En especial cuando es causada por un dermatofito zoófito se puede inducir reacción inflamatoria intensa que recuerda mucho la infección piógena ⁽¹⁵⁾

2.2.3.5. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO.

A. MUESTRA

Las muestras consisten en escamas de la piel, restos queratináceos de las uñas, y cabellos quebrados extraídos de las áreas afectadas. Los cabellos infectados por *Microsporum* presentan fluorescencia de color verdoso bajo la luz de Wood en un cuarto oscuro. ⁽²⁷⁾

B. EXAMEN MICROSCOPICO

Las muestras se colocan sobre un portaobjetos en una gota de hidróxido de potasio de 10 a 20%, con o sin blanco calcofluor que es un colorante inespecífico de la pared de las células fúngicas cuando se observa con microscopio de fluorescencia.

Se cubre con un cubreobjetos y en seguida se examina la muestra y una vez más después de 20 minutos.

Cualquiera que sea la especie infectante se observan hifas o cadenas ramificadas de artroconidios (artrosporas) en piel o uñas. En los cabellos la mayor parte de las especies forman vainas densas de esporas alrededor del pelo (ectotrix); el *T. tonsurans* y el *T. violaceum* se distinguen porque producen artroconidios dentro del pelo (endotrix).
(15)

C. CULTIVO

El cultivo es necesario para identificar las especies de dermatofitos. Las muestras recogidas de lesiones de la piel, pelos y uñas se inoculan sobre Agar inhibidor de moho o Agar de Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol para suprimir el crecimiento de mohos y bacterias, se incuba 1 a 3 semanas a temperatura ambiente, y se examinan además cultivos en portaobjetos (microcultivo) sí es necesario. Las especies se identifican con base en la morfología de las colonias (tasa de crecimiento, textura de la superficie y cualquier pigmentación), la morfología microscópica (macronidios, micronidios) y, en algunos casos, los requerimientos nutrimentales. (64)

Medio Agar - Urea (Prueba de la ureasa). Interesante para diferenciar el *T. mentagrophytes* de *T. rubrum* ya que el primero produce ureasa (colorea de rojo/rosa el medio) y el segundo no la produce.

2.2.3.6. TRATAMIENTO.

A. PREVENCIÓN.

Después del baño, aplicar polvo con miconazol o tolnaftato en las áreas más propensas a las micosis ⁽²⁷⁾

B. PREPARADOS ANTIFÚNGICOS POR VÍA TÓPICA.

Estos preparados pueden ser eficaces en el tratamiento de las dermatofitosis de la piel, pero no en las de pelos o uñas. Los preparados se aplican dos veces al día en el área afectada, de preferencia durante 4 semanas, incluida por lo menos una después de la curación. Se aplican, al menos, 3 cm más allá del margen de la lesión.

Clotrimazol, Miconazol, Ketoconazol, Econazol, Oxiconizol, Sulconizol: Naftifina, Terbinafina, Ciclopirox olamina. ⁽²⁷⁾

➤ FÁRMACO PATRÓN - CLOTRIMAZOL

Antimicótico de amplio espectro, activo frente a levaduras, dermatofitos y otros hongos filamentosos así como también frente a determinadas bacterias grampositivas y gramnegativas ⁽⁵²⁾

Esta indicado en el tratamiento de la dermatofitosis de la piel así como también en la pitiriasis versicolor y en la candidiasis cutáneas o vaginales. Su forma de presentación suele ser en forma de crema al 1%. El clotrimazol es un agente antifúngico imidazólico que se utiliza en el tratamiento de infecciones producidas por varias especies de dermatofitos patógenos, hongos y malassezia furfur algunas de las infecciones en las que el clotrimazol es eficaz son la tiña (dermatofitosis) y las candidiasis oral y vaginal. Debido a su pequeña penetración a través de la piel, el clotrimazol en esta ésta indicado en el tratamiento de las micosis. Subcutánea.

C. MECANISMO DE ACCION

Al igual que en otros antifúngicos azólicos, el clotrimazol actúa alterando la membrana de los hongos sensibles. El clotrimazol inhibe la síntesis de ergosterol al interactuar con la 14 alfa metilasa, una enzima del citocromo P450 que es necesaria para transformar el lanosterol a ergosterol, un componente esencial de la membrana. El mecanismo de acción del clotrimazol es pues, diferente del de la anfotericina B que se une al ergosterol después de que este a sido sintetizado. La ausencia del lanosterol en la membrana aumenta la permeabilidad de la célula ocasionando la pérdida de los componentes esenciales de la misma como el potasio y fosfatos que se escapan a través de las fisuras de la membrana. Adicionalmente se ha propuesto otro mecanismo de acción para el clotrimazol, incluyendo la inhibición de la respiración endógena o la interacción de los fosfolípidos de la membrana lo que impide la transformación de los hongos a micelos.

El Clotrimazol, ha presentado inhibir el transporte de los iones cloruro y potasio a través de las membranas celulares, lo que explicaría que experimentalmente inhiba el crecimiento de algunos tumores en animales. Este mecanismo también podría explicar que el Clotrimazol impida la deshidratación de los hematíes en los pacientes con anemia falciforme.

D. PROPIEDADES FARMACODINÁMICAS

➤ GRUPO FARMACOTERAPÉUTICO

El Clotrimazol es un antifúngico de amplio espectro derivado del grupo imidazol.

➤ EFECTOS FARMACODINÁMICOS

El Clotrimazol es un compuesto antifúngico de amplio espectro con actividad *in Vitro* e *in vivo*, frente a dermatofitos, levaduras y mohos.

En condiciones de estudio adecuadas, los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para estos tipos de hongos están entre 0,062 y 4 (-8) $\mu\text{g/ml}$ de substrato. El modo de acción del Clotrimazol es principalmente fungistático. La actividad *in Vitro* se limita a los elementos fúngicos proliferativo; las esporas fúngicas sólo son ligeramente sensibles.

Además de su acción antifúngica también actúa sobre *Trichomonas vaginalis*, microorganismos Gram-positivos (*Streptocococi* / *Staphylocococi*), y microorganismos Gram-negativos (*Bacteroides* / *Gardnerella vaginalis*).

El Clotrimazol *in vitro* inhibe la multiplicación de Corynebacterias y cocos Gram-positivos - con la excepción de Enterococos - a concentraciones de 0,5 - 10 $\mu\text{g/ml}$ de substrato y ejerce una acción tricomonocida a 100 $\mu\text{g/ml}$.

La situación de las resistencias al Clotrimazol es buena: las variantes de resistencia primaria de las especies fúngicas sensibles son poco frecuentes.

Hasta el momento, el desarrollo de resistencia secundaria en cepas sensibles sólo se ha observado en casos muy aislados bajo condiciones terapéuticas.

➤ PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS

Las investigaciones farmacocinéticas tras la aplicación dérmica han demostrado que sólo se absorbe una pequeña cantidad de Clotrimazol (< 2% de la dosis). Las concentraciones séricas resultantes están siempre por debajo del límite de detección (< 10 ng/ml) y no provocan efectos sistémicos o reacciones adversas apreciables.

➤ DATOS PRECLÍNICOS SOBRE SEGURIDAD

Los estudios toxicológicos efectuados en diferentes animales con aplicación local demostraron buena tolerancia local. No se observaron efectos teratogénicos o embriotóxicos. El Clotrimazol no influyó en la fertilidad ni mostró propiedades mutagénicas.

➤ EFECTOS ADVERSOS

EFECTOS QUE NECESITAN ATENCIÓN INMEDIATA.

Hipersensibilidad (erupción de la piel, urticaria, ampollas, ardor, prurito, peladura, enrojecimiento, sudoración u otros signos de irritación cutánea no presentes antes de la terapia)

A. PRECAUCIONES

El tratamiento debe de ser suspendido en el caso de irritación o erupción cutánea

- Evitar el contacto con los ojos
- Lavar y secar minuciosamente la zona a tratar
- No utilizar vendajes oclusivos, favorecen el desarrollo de levaduras y la consiguiente irritación cutánea.

B. CONTRAINDICACIONES

Hipersensibilidad al Clotrimazol o a otros derivados azólicos

Embarazo y lactancia

Categoría de riesgo en el embarazo: A compatible con la lactancia

E. ANTIMICÓTICOS POR VÍA GENERAL.

En infecciones de la piel queratinizada, se emplean si las lesiones son extensas o no responden a los preparados tópicos. Por lo general, son necesarios en el tratamiento de la tina del cuero cabelludo y de las uñas. También pueden ser necesarios en las tinas inflamatorias y en la tina hiperqueratósica del pie de tipo "en mocasín".

Terbinafina. Antimicótico más eficaz en la dermatofitosis bucal; poco eficaz frente a otros hongos.

Itraconazol. Autorizado en los Estados Unidos para el tratamiento de la onicomycosis.

Fluconazol. Triazol.

Ketoconazol. No está autorizado en los Estados Unidos para el tratamiento de las dermatofitosis por ser hepatotóxico.

Griseofulvina. En infecciones por *T. rubrum* y *T. tonsurans* pueden responder mal. Deben tomarse con comidas grasas para facilitar la absorción. ⁽²⁷⁾

2.2.4. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE MICÓTICA.

2.2.4.1. *Trichophyton mentagrophytes* (Robín) Blanchard 1896.

Trichophyton mentagrophytes es el dermatofito más común del hombre y los animales. Su morfología es tan variable que se cuenta con una larga lista de binomios formados a partir del color de la colonia, morfología, conidiación, y asociación con el huésped.

Trichophyton mentagrophytes es universal, y se han encontrado formas antropófilas y zoófilas. Si se obtiene del suelo, está en relación con la caspa animal como la que se encuentra en las madrigueras de los roedores. No se le considera geófilo. En general es ectotrix, conidiado pequeño, no presenta fluorescencia en el pelo infectado. Algunas cepas (var. tipo quinckeanum) pueden producir infecciones endotrix y presentan fluorescencia oscura. Todas las cepas producen órganos perforantes del pelo. Los cobayos se infectan con facilidad por medio de cepas granulares (var. *mentagrophytes*), pero en menor grado con el tipo veloso (var. *Interdigitale*) ⁽⁵⁴⁾

A. *Trichophyton mentagrophytes* var. *Interdigitale*

➤ Descripción micótica

La variedad *Interdigitale* es un hongo antropófilo, aislado de tinea pedis ligera u oculta. Takashio considera que *T. mentagrophytes* var. *Interdigitale* debe conservarse como una especie distinta.

Anverso de la colonia. Crece como un talo plano, veloso con bordes blancos, y un área central color crema. En Agar patata-glucosa, se observa una colonia estrellada con micelio esparcido y numerosos conidios.

Reverso de la colonia. La pigmentación es variable; incolora, pardo amarillenta, pardo rojiza, parda o rojo vinosa, oscura. Es ureasa positiva.

Morfología microscópica. La característica más consistente es la producción de microconidios globosos en racimos, parecidos a uvas, la forma de los conidios es en masa y se parecen a los de *T. rubrum*. Los macroconidios son de paredes delgadas, lisas y de forma variable. Sus tamaños varían de 4 a 8 x 20 a 50 μm y tienen tres a cinco o más células. En general su forma es de cigarro con base de unión estrecha y el extremo de la célula de estos conidios puede tener un filamento terminal o un apéndice en "cola de rata". La vista microscópica de *T. mentagrophytes* var. *Interdigitale*, ofrece en forma típica microconidios en masa, algunos macroconidios y varias células hifales en espiral, todas ellas en racimos sobre las hifas vegetativas. También se observan estructuras parecidas a las hifas peridiales, hifas con aspecto de astas de venado, artoconidios, cuerpos nodulares, micelio en raqueta y clamidoconidios). Muestra una pigmentación amarilla a naranja oscura, los cuerpos nodulares son numerosos y presentan pocos microconidios. Esta variedad no se desarrolla en pH 4 ⁽⁵⁴⁾

La primera propuesta taxonómica para la clasificación de los dermatofitos fue realizada por **Emmons** en 1934; los clasifico en tres géneros:

- A) *Microsporum*
- B) *Trichophyton*
- C) *Epidermophyton*

Figura N° 07

Trichophyton mentagrophytes

- LEYENDA
- ❖ Microconidios
 - ❖ Hifas
 - ❖ Artoconidios
 - ❖ Micelio
 - ❖ Clamidoconidios



Fuente: www.facmed.unam.mx

➤ **Posición taxonómica**

Phylum	: <i>Ascomiceta</i>
Clase	: <i>Euccomycetes</i>
Orden	: <i>Onygenales</i>
Familia	: <i>Arthrodermataceae</i>
Género	: <i>Trichophyton</i>
Especie	: <i>Trichophyton mentagrophytes</i>
Sinónimos	: <i>T. mentagrophytes. var interdigitales</i>

2.2.4.2. *Trichophyton rubrum*

A. Descripción micótica

Hongo filamentoso con microconidios periforme (de 3-5.5 x 2 -3.5 mm), sensible sobre las hifas formando racimos.

Macroconidios muy escasos (de 44-55x 6-7.5 Mm), con varios tabiques, de formas irregulares, de pared fina y lisa, al final de la hifa. Abundan las clamidiosporas intercalares, presencia de hifas en raqueta y ausencia de filamentos espirales.

Crece rápido, en la mayoría de los medios de cultivo comunes. Suele formar dos tipos de colonias: una rojizas en anverso y reverso y las otras blancas con el reverso de color rojizo (pigmento rojo frecuente) ⁽⁵⁶⁾

Crecimiento rápido, aspecto finamente veloso, que va tomando un aspecto aterciopelado. La superficie presenta surcos radiales poco profundos. Los bordes suelen ser netos y las prolongaciones radiales le dan aspecto desflecado. Cuando las colonias son blancas presentan mayor micelio aéreo que les da un aspecto algodonoso. El reverso se tiñe del pigmento rojo que se difunde hasta los bordes formando una franja roja que rodea la masa blanca central.

Figura N° 08

Trichophyton rubrum

LEYENDA

- ❖ Microconidios
- ❖ Hifas
- ❖ Artoconidios
- ❖ Micelio
- ❖ Clamidoconidios



Fuente: www.esacademic.com

B. Posición taxonómica

Phylum	: Ascomiceta
Clase	: Euccomycetes
Orden	: Onygenales
Familia	: Arthrodermataceae
Género	: <i>Trichophyton</i>
Especie	: <i>Trichophyton rubrum</i>
Sinónimos	: <i>Trichophyton megninii</i>
	: <i>Trichophyton purpureum</i>
	: <i>Trichophyton vinosum</i>

2.2.5. DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIMICÓTICO.

Uno de los procedimientos utilizados para estudiar la acción antimicrobiana es el método de difusión en Agar-excavado placa (método de Hufford).

Se prepara el medio de cultivo con el medio adecuado, se mezcla asépticamente el Agar (45 °C) con la suspensión de microorganismos de prueba y se vierte en placas petri estériles. Una vez solidificado el medio, se realizan perforaciones, usando un cortador estéril, donde se coloca el agente antimicrobiano. Durante la incubación, el agente antimicrobiano difunde desde los hoyos a cierta distancia de los mismos, la cual es la zona de inhibición, pasando este punto se presenta el crecimiento microbiano. Para la lectura, se mide el diámetro (milímetros) de la zona de inhibición del crecimiento microbiano.

El diámetro es proporcional a la cantidad del agente antimicrobiano colocada en el hoyo y a la efectividad general de este. ⁽⁵⁹⁾

2.2.6. DEFINICION DE TERMINOS BASICOS

- A. ACEITE ESENCIAL.-** Una clase de aceite volátil generalmente aromático extraído a partir de plantas para su uso en alimentos, perfumes y medicinas aromatizadas. Algunos se vienen usando en terapéutica durante miles de años. 2000
- B. ANTIMICOTICO.-** Producto, agente o fármaco utilizado en el tratamiento de las infecciones por hongos.
- C. CEPA.-** Población de microorganismos homogéneos que poseen un conjunto de características definidas, conjunto de descendientes originarios de un antepasado común y que conservan las características de éste.
- D. DERMATOXICIDAD.-** Sea toxicidad en la piel
- E. EXTRACTO HEXANICO.-** Sustancia muy concentrado que se obtiene de otra por distintos procedimientos, en este caso con hexano.
- F. HIPERQUERATOSIS.-** Sobre crecimiento de la capa cornea de la piel.

- G. MICOSIS.-** Cualquier enfermedad causada por hongos o levaduras en alguna parte del organismo.
- H. ONICOMICOSIS.-** Cualquier infección micóticas de las uñas.
- I. PITIRIASIS.-** Pediculosis del pubis, infestación del pubis con piojos o ladillas.
- J. QUERATINA.** Proteína rica en azufre, que constituye la parte fundamental de las capas más externas de la epidermis de los vertebrados y de sus derivados, como plumas, pelos, cuernos, uñas, pezuñas, etc., a la que deben su resistencia y su dureza.
- K. TIÑA.-** Grupo de enfermedades cutáneas micóticas causadas por dermatofitos de varias clases, caracterizadas por prurito, descamación y, a veces, lesiones dolorosas. La tiña es un término general que se refiere a infecciones de diversas causas, que se observan en diferentes localizaciones; el tipo específico generalmente viene designado por un sufijo.

FUENTE: Todos los términos incluidos en este glosario se extrajeron de:
Ref. Diccionario de la Real Academia Española (DRAE)
Fuente WWW. Rae.es

CAPITULO III

MATERIALES Y METODOS

3.1. MATERIALES BIOLÓGICOS

3.1.1. MUESTRAS VEGETALES

- Partes aéreas (hojas y tallos) de la especie de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra), colectadas durante los meses de Febrero - Abril, en las localidades de Uychu y Yucay distritos de Urubamba, Departamento del Cusco, a 2885-2890 msnm.
- *Citrus limon* (limón) la parte empleada será la cáscara o epicarpio fresco del fruto que se obtendrá de la Provincia de Urubamba y Quillabamba del Departamento del Cusco a 2890 msnm.

3.1.2. MUESTRA MICROBIANA

- Cepas de *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533
- Cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188

3.2. MATERIALES DE LABORATORIO

3.2.1. MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO

3.2.1.1. MATERIALES DE CAMPO

- Una bolsa grande adecuada para la recolección
- Tijera podadora.
- Guantes de látex
- Cámara fotográfica
- Cuaderno de campo

3.2.1.2. MATERIALES DE LABORATORIO

- Material básico de vidrio
- Piezas de metal: soporte, espátula, etc.
- Papel filtro
- Algodón
- Asa de siembra
- Gradillas
- Mechero
- Recipientes de plástico de 5 -10 litros de capacidad
- Botellas de vidrio de color oscuro de 4 - 5 litros de capacidad

EQUIPOS

- Equipo de destilación por arrastre de vapor (Volumen de 3 litros)
- Autoclave BOSCH Grande
- Incubadora FANEN Modelo 002 CB
- Estufa MEMBRERT Temp Max 200 °C Temp. Min 20°C
- Espectrofotómetro CLINICON Mannein GMBC ABS Min 223 ABS Max 623
- Balanza analítica H.W. KESSEL S.A Cap. Max 200 g. Cap. min 10mg
- Refrigeradora Mabe Pequeña
- Baño maría H.W. KESSEL S.A
- Micropipetas Cap. Max 100µL Cap Min 10 µL
- Balanza Digital SARTORIOS Cap Max. 100 g Cap min 1g
- Rota vapor con control de presión BUCHI temp Max 160°C - Min 20°C

3.2.2. SOLVENTES Y REACTIVOS

- n- Hexano 98.5% Q.p
- Etanol de 96° Q.p
- Metanol 99.9% Q.p
- Diclorometano 99.9% Q.p
- Dimetilsulfóxido (DMSO) 99.9 +% Q.p
- Agua destilada

3.2.3. MEDIOS DE CULTIVO

- Agar dextrosa Sabouraud. (Difco).
- Agar Sabouraud. (MERCK)
- Agar Muller Hilton(MERCK)
- Infusión Cerebro Corazón Hígado (BHI) (MERCK)
- Agar oxitetraciclina glucosa agar (OGA) (MERCK)
- Caldo Mac Conkey(MERCK)
- Agar Cetrimide (MERCK)

3.2.4. MATERIAL BIOLÓGICO

- Ratones *Mus musculus* CEPA Balb /CNPB

3.2.5. MATERIAL FARMACOLÓGICO

- Fluconazol 25mg/100ml
- Clotrimazol 1%

3.2.6. OTROS MATERIALES

- Material Farmacológico
- Material de escritorio
- Cortador estéril.
- Envases de plástico de 250 ml de capacidad.
- Gorras
- Guantes de látex
- Mascarillas.

3.2.7. RECURSOS E INFRAESTRUCTURA

- Laboratorios de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica Pabellón N-204, N-205
- Laboratorio de Fitoquímica de la Carrera Profesional de Química Pabellón B- 203
- Laboratorio de Microbiología Medica de la Facultad de Medicina Humana Pabellón ME - 402
- Área de Farmacotecnia del Hospital Regional del Cusco 1^{er} piso

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. ETAPAS DE LA INVESTIGACIÓN

El tipo de estudio es **cuasi-experimental** correlacional de corte transversal, puesto a que se analizó la evolución de la especie *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* in vitro e in vivo y orientado a demostrar la actividad antimicótica de los jabones líquidos del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) y el aceite esencial de *Citrus limon* (limón). Frente al patrón clotrimazol.1% en crema.

3.3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACION

El presente estudio se dividió en 4 etapas:

3.3.2.1. PRIMERA ETAPA:

A. FORMULACION DEL JABON LÍQUIDO.

Formular y elaborar el jabón líquido usando el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) y el aceite esencial *Citrus limon* (limón). Estudio se orientó a lograr la mejor composición mediante 12 pre formulaciones diferentes.

Diseño. Cuasi- experimental con post- prueba únicamente.

G ₁	EX ₁	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	JL ₁
G ₂	EX ₂	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	JL ₂
G ₃	EX ₃	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	JL ₃
G ₄	EX ₄	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	JL ₄
G ₅	EX ₅	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	JL ₅
G ₆	EX ₆	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	JL ₆
G ₇	EX ₇	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	JL ₇
G ₈	EX ₈	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	JL ₈
G ₉	EX ₉	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	JL ₉
G ₁₀	EX ₁₀	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	JL ₁₀
G ₁₁	EX ₁₁	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	JL ₁₁
G ₁₂	EX ₁₂	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	JL ₁₂

Donde:

G: Estará formado por la cantidad de extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (O.p) y aceite esencial de *Citrus limon* (limón) respectivamente para elaborar el jabón líquido.

Ex.: Está formado por la cantidad del extracto del (O.p) y de aceite esencial de(C.l)

X: Formado por la aplicación de los insumos a diferentes concentraciones.

X₁: Agua

X₇: Metil parabeno

X₂: Lauril éter Sulfato de Sodio

X₈: Etilendiaminotetraacetico EDTA

X₃: Coco amida propilbetaina

X₉: Principio activo

X₄: Solvente orgánico

X₁₀: Etanol 96°

X₅: Dietanolamida

X₁₁: Ácido cítrico

X₆: Glicerina

X₁₂: Tween - 80

JL: Formulación más adecuada del jabón líquido que consistirá en evaluar el: pH, Densidad, Solubilidad, Aspecto, Olor, Color, Sabor, Consistencia. Ver Anexo N° 09

3.3.2.2. SEGUNDA ETAPA:

A. PRUEBAS ANTIMICOTICAS

Diseño de la prueba antimicótica con diseño de series cronológicas post prueba y grupo control, se orientó a medir el halo de inhibición.

G₁ J₁... O₁ O₂ O₃

G₂ J₂... O₁ O₂ O₃

O₁, O₂, O₃: Se observarán cada dos días de iniciado el ensayo

En donde:

G₁: Cepas estándar de *Trichophyton mentagrophytes*

G₂: Cepas estándar de *Trichophyton rubrum*

J_n: Formulación de los jabones líquidos

O_n: Medición del halo de inhibición

3.3.2.3. TERCERA ETAPA

A. PRUEBAS DE DERMATOTOXICIDAD

Realizar pruebas de Dermatotoxicidad en ratones albinos.

Diseño. Es un estudio cuasi-experimental con tratamientos múltiples puesto que se analizó el efecto aplicando los diversos tratamientos experimentales del jabón líquido del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* y del aceite esencia de *Citrus limon* en un tiempo determinado.

B. CODIFICACION DEL DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

G: Grupo de sujetos

J: Tratamiento estímulo o condición experimental

O: Una medición a los sujetos de un grupo, evaluando el grado de formación eritema, edema.

➤ PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL

Diseño de varios grupos a los cuales se les asigna los sujetos al azar. A cada grupo se le aplicarán los tratamientos. La secuencia de la aplicación de los tratamientos del jabón líquido del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* y del aceite esencia de *Citrus limon* fue diferente para todos los grupos y se debe administrar tres post pruebas a cada grupo cada seis horas

R	G ₁	J ₁	O ₁	J ₂	O ₂	J ₃	O ₃
R	G ₂	J ₄	O ₄	J ₅	O ₅	J ₆	O ₆
R	G ₃	J ₇	O ₇	J ₈	O ₈	J ₉	O ₉
R	G ₄	J ₁₀	O ₁₀	J ₁₁	O ₁₁	J ₁₂	O ₁₂

O₁, O₂, O₃.

O₄, O₅, O₆.

O₇, O₈, O₉.

O₁₀, O₁₁, O₁₂

Observaciones cada 8 horas durante dos días

En donde:

- G : Grupo de 3 ratones albinos con lomo izquierdo de control
- J : Aplicación de 1 ml de jabón líquido aproximadamente
- O : Control en el cual se observó el grado de formación de Eritema y edema. Ver anexo N°14

➤ **PRUEBA DE SENSIBILIZACION CUTANEA**

Diseño de varios grupos a los cuales se les asigna los sujetos al azar. A cada grupo se le aplicó los tratamientos. La secuencia de la aplicación de los tratamientos del jabón líquido del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* y del aceite esencia de *Citrus limón* fue diferente para todos los grupos y se debe administrar tres post pruebas a cada grupo cada ocho horas

R	G ₁	J ₁	O ₁	J ₂	O ₂	J ₃	O ₃
R	G ₂	J ₄	O ₄	J ₅	O ₅	J ₆	O ₆
R	G ₃	J ₇	O ₇	J ₈	O ₈	J ₉	O ₉
R	G ₄	J ₁₀	O ₁₀	J ₁₁	O ₁₁	J ₁₂	O ₁₂

O₁, O₂, O₃.
O₄, O₅, O₆.
O₇, O₈, O₉.
O₁₀, O₁₁, O₁₂

} Observaciones cada 8 horas durante dos días

En donde:

- G : Grupo de 3 ratones albinos con lomo izquierdo de control
- J : Aplicación de 1 ml de jabón líquido aproximadamente
- O : Control en el cual se observó el grado de sensibilización de la piel del ratón. Ver anexo N°15

➤ **PRUEBAS DE FOTOTOXICIDAD Y FOTOALERGICIDAD**

Diseño de varios grupos a los cuales se les asignó los sujetos al azar. A cada grupo se le aplicó los tratamientos. La secuencia de la aplicación de los tratamientos del jabón líquido del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* y del aceite esencia de *Citrus limon* es diferente para todos los grupos y se administró tres post pruebas a cada grupo cada dos horas en presencia de rayos solares

R	G ₁	---	J ₁	O ₁	J ₂	O ₂	J ₃	O ₃
R	G ₂	---	J ₄	O ₄	J ₅	O ₅	J ₆	O ₆
R	G ₃	---	J ₇	O ₇	J ₈	O ₈	J ₉	O ₉
R	G ₄	---	J ₁₀	O ₁₀	J ₁₁	O ₁₁	J ₁₂	O ₁₂

O₁, O₂, O₃.
O₄, O₅, O₆.
O₇, O₈, O₉.
O₁₀, O₁₁, O₁₂ } Controles después de la aplicación de cada Estímulo a exposición a rayos solares

En donde:

- G : Grupo de 3 ratones albinos con lomo izquierdo de control
- J : Aplicación de 1 ml de jabón líquido aproximadamente
- O : Control en el cual se observó el grado de fototoxicidad y fotoalergicidad
- ☀ : Estimulo bajo exposición a rayos solares
Ver anexo N°16

3.3.2.4. CUARTA ETAPA:

A. PRUEBA ANTIMICOTICAS EN PACIENTES

Evaluar el efecto antimicótico en pacientes diagnosticados con Dermatofitosis en el Consultorio de Dermatología del Hospital Regional del Cusco.

Diseño. Cuasi-experimental con pre prueba y post prueba, grupo control y grupo patrón.

G ₁	X ₁	O ₁
G ₂	X ₂	O ₂
G ₃	--	O ₃

Donde:

G₁, G₂ y G₃ Grupos de 25 pacientes diagnosticados con Dermatofitosis.

X₁: Tratamiento con el jabón líquido elaborado con el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra)

X₂: Tratamiento con el jabón líquido elaborado con el aceite esencial de *Citrus limon* (limón)

--: Tratamiento con fármaco patrón (Clotrimazol 1% crema)

O₁: Medición del efecto antimicótico del jabón líquido elaborado con el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra).

O₂: Medición del efecto antimicótico del jabón líquido elaborado con el aceite esencial de *Citrus limon* (limón)

O₃: Medición del efecto antimicótico del fármaco patrón (Clotrimazol)

3.4. IDENTIFICACION, DEFINICION Y OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

3.4.1. VARIABLES IMPLICADAS

3.4.1.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

A. Concentración del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus*

- Definición conceptual.- Cantidad de extracto hexánico obtenido del fraccionamiento del extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus*

disuelto en tween – 80 para producir la actividad antimicótico.
(Farmacopea Nacional Argentina, 6ª edición).

Definición operacional

- Naturaleza : Cuantitativa
- Forma de medición : Directa
- Escala. Razón
- Instrumento de Medición : Balanza analítica
- Procedimiento de la medición: Se procedió a pesar el extracto hexánico (mg) luego se realizará su dilución con Dimetilsulfóxido (1mL) luego se incorporó con su solvente adecuado en mg/mL.
- Expresión final de la variable: mg / mL

**B. Concentración mg/mL del aceite esencial de la cáscaras de *Citrus limon*.
(limón)**

Definición Conceptual.- Cantidad en mL de aceite esencial de la cáscara de *Citrus limon* producto de la destilación por arrastre de vapor e para producir la actividad antimicótica⁽²³⁾.

- Definición operacional
- Naturaleza : Cuantitativa
- Forma de medición : Directa
- Escala. Razón
- Instrumento de Medición : Bureta graduada 100 mL

Procedimiento de la medición de la variable: Se procedió a medir el aceite esencial de *Citrus limon* (µL) luego se incorporó con su solvente adecuado para producir la actividad antimicótico.

- Expresión final de la variable: mg/mL

C. Jabones líquidos elaborados usando el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra) y el aceite esencial *Citrus limon* (limón).

Definición Conceptual.- Cantidad de extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* en mg/mL incorporados al jabón líquido producto del fraccionamiento del extracto etanólico y aceite esencial obtenido por destilación por arastre de vapor de la cascara de *Citrus limón* para producir la actividad antimicótica

- Definición operacional
- Naturaleza : Cuantitativa
- Forma de medición : Directa
- Escala. Razón
- Instrumento de Medición : Micropipetas graduada 10 µL-100 µL

Procedimiento de la medición de la variable: Se procedió a medir el extracto hexánico diluido en solvente adecuado y aceite esencial de *Citrus limon* (µL) luego se incorporó con su solvente adecuado para producir la actividad antimicótica.

- Expresión final de la variable: mg/mL

3.4.1.2. VARIABLES DEPENDIENTES

A. ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA IN VITRO DE LOS JABONES LÍQUIDOS ELABORADOS CON EL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon* y extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* en cepas de *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*

Definición conceptual: Es la capacidad inherente de una sustancia o extracto de origen natural o sintético con capacidad de inhibir o matar los hongos.⁽⁵⁵⁾

Definición operacional

Naturaleza.	Cuantitativa
Medición	Directa
Escala de medición	De Razón
Instrumento de medición	regla milimetrada
Procedimiento de medición	Se midió el diámetro del halo de inhibición que se forma después de sembrar el jabón líquido en concentraciones determinadas, el cual se comparará con el fármaco patrón (Fluconazol)
Expresión final de la variable	Milímetros (mm)
Indicadores:	Diámetro del halo de inhibición del crecimiento del hongo

B. DERMATOTOXICIDAD EN RATONES ALBINOS MACHOS

➤ IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL

- Definición

Grado de eritema (que es una lesión cutánea caracterizada por enrojecimiento de la piel, limitado o extenso, permanente o pasajero, debido a fenómenos vasculares) y edema (que es la acumulación de líquidos en el espacio tisular intercelular o intersticial y también en las cavidades del organismo) producido por la aplicación directa de una sustancia en la epidermis. ⁽⁴⁵⁾

Definición operacional

Naturaleza	: Cualitativa
Medición	: Directa
Escala	: Ordinal
Unidad de medida	: Grado de eritema y edema

Procedimiento

Irritación primaria de la piel que se evaluó mediante la aplicación del jabón líquido de *Ophryosporus peruvianus* y del aceite esencial de *Citrus limon* sobre la piel y la observación de la formación de edema y eritema, el cual se evaluó de acuerdo a las fichas de evaluación. Ver Anexo N° 14

Expresión final de la variable : No irritante
: Irritante débil
: Irritante moderado
: Irritante grave

➤ SENSIBILIZACION CUTANEA

• Definición

Grado de eritema (que es una lesión cutánea caracterizada por enrojecimiento de la piel, limitado o extenso, permanente o pasajero, debido a fenómenos vasculares) y edema (que es la acumulación de líquido en el espacio tisular intercelular o intersticial y también en las cavidades del organismo) producido por la aplicación directa de una sustancia en la epidermis. ⁽⁴⁵⁾

Definición operacional

Naturaleza : Cualitativa
Medición : Directa
Escala : Ordinal
Unidad de medida : Grado de eritema y edema

Procedimiento

Sensibilización cutánea de la piel que se evaluó mediante la aplicación del jabón líquido sobre la piel y la observación de la formación de edema y eritema, la cual se evaluó de acuerdo a las fichas de evaluación Ver Anexo N° 15

Expresión final de la variable

No Sensibilizante
Sensibilizante débil
Sensibilizante moderado
Sensibilizante grave

➤ **FOTOTOXICIDAD O FOTOALERGICIDAD**

• **Definición**

Grado de eritema (que es una lesión cutánea caracterizada por enrojecimiento de la piel, limitado o extenso, permanente o pasajero, debido a fenómenos vasculares) y edema (que es la acumulación de líquido en el espacio tisular intercelular o intersticial y también en las cavidades del organismo) producido por la aplicación directa de una sustancia en la epidermis y exposición a radiación UV.

Definición operacional

- **Naturaleza** :Cualitativa
- **Medición** :Directa
- **Escala** :Ordinal
- **Unidad de medida** Grado de eritema y edema
- **Procedimiento**

Fototoxicidad o Fotoalergicidad que se evaluó mediante la aplicación del jabón líquido y la observación de la formación de edema y eritema, la cual se evaluó de acuerdo a las fichas de evaluación Ver Anexo N° 16

- **Expresión final de la variable :** No fototóxico
Fototóxico débil
Fototóxico moderado
Fototóxico grave
No fotoalérgico
Fotoalérgico débil
Fotoalérgico moderado
Fotoalérgico grave

C. Efecto antimicótico in vivo de los jabones líquidos elaborados con el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* y con el aceite esencial de *Citrus limón* en pacientes con dermatofitosis

- Definición conceptual : Manifestación de la acción antimicótica del extracto o del aceite cuando se aplican a pacientes con diagnóstico confirmado de dermatofitosis ⁽³⁰⁾
- Definición Operacional
- Naturaleza : Cualitativa
- Forma de medición : Directa
- Escala: Nominal

Instrumento de medición: Evaluación dermatológica realizada por la especialista, para verificar signos de remisión de la enfermedad como:

Disminución de la coloración rojiza de la piel

Disminución de la descamación

Disminución del prurito

- Procedimiento de la medición de la variable: Se hizo la valoración de signos y síntomas de la micosis y su remisión durante un periodo de 5 semanas aproximadamente.

- Expresión final de la variable :
Curado
Mejorado
Sin efecto

3.4.2. VARIABLES NO IMPLICADAS

3.4.2.1. VARIABLES INTERVINIENTES

A. Características fisicoquímicas:

❖ pH:

Definición conceptual: Se define como el logaritmo negativo de la cantidad de hidrogeniones expresado en términos de molaridad.

$$PH = -\text{Log} [H^+]$$

Definición operacional:

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de Medición: Directa

Escala de Medición: De razón

Procedimiento: Uso de potenciómetro

Expresión final de la variable: Numérico

❖ Densidad:

Definición conceptual: se define como la masa de una sustancia por unidad de volumen. ⁽³⁸⁾

Definición operacional:

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de Medición: Indirecta

Escala de medición: Razón

Procedimiento: Cálculo de la densidad mediante el uso del picnómetro.

Indicadores: Relación masa y volumen de la muestra.

Expresión final de la variable: mg/mL.

❖ **Viscosidad**

Definición Conceptual: La viscosidad o fricción interna es la resistencia al movimiento relativo de capas adyacentes de líquido. ⁽³⁸⁾

Definición Operacional:

Naturaleza: cuantitativa

Escala de Medición: directa.

Medición: razón.

Instrumento de medida. Viscosímetro de Brockfield.

Procedimiento: Análisis Reológico. Se empleara el viscosímetro de Brockfield.

Unidad de medida: En centipoises = $(1 \text{ dina} \times \text{s/cm}^2)$

❖ **Características Organolépticas**

Definición conceptual: Apariencia exterior de las cosas.

Definición Operacional:

Naturaleza: cualitativa

Forma de Medición: directa

Escala de Medición: Nominal

Procedimiento: Análisis organoléptico utilizando los sentidos.

Expresión final de la variables: Color, olor y textura

B. Control Microbiológico

Definición conceptual: Examen destinado a evaluar la cantidad de microorganismos existentes en el producto mediante cultivo en placas ⁽⁵⁰⁾

❖ **Presencia de Aerobios Mesòfilos viables**

Definición conceptual: Bacterias capaces de desarrollarse en condiciones ambientales y temperaturas medias de 20°C a 37 °C.

Definición operacional:

Naturaleza: cuantitativa

Escala de Medición: razón

Forma de medición: directa

Procedimiento: Cultivo de placas con agar Mac Conkey y recuento de bacterias aerobias mesófilas viables.

Expresión final de la variable: UFC/gr o ml.

❖ **Presencia de *Escherichia Coli*.**

Definición conceptual: Bacilos Gram negativos dotados de motilidad por flagelos peritricos o carentes de motilidad.

Definición operacional:

Naturaleza: cuantitativa

Escala de Medición: razón

Forma de medición: directa

Procedimiento: siembra, aislamiento e identificación de enterobacterias en placas con agar Mac Conkey.

Expresión final de la variable: UFC/gr o ml

❖ **Presencia de *Pseudomonas aeruginosa*.**

Definición conceptual:

***Pseudomonas aeruginosa*:** Son bacilos Gram negativos, dotados de motilidad y aerobios. Se distribuye extensamente en la naturaleza y es común en ambientes húmedos de los hospitales. Puede colonizar a los humanos normales, en quienes es un saprofito.

Definición operacional:

Naturaleza: cualitativa

Escala de medición: Razón

Forma de medición: directa

Procedimiento: siembra, aislamiento e identificación de *Pseudomona aeruginosa* en placas con agar Cetrimide.

Expresión final de la variable: UFC/gr o ml

❖ **Presencia de *Staphylococcus aureus*.**

Definición conceptual: Son células Gram positivas, generalmente dispuestas en racimo de uvas, es un patógeno importante para los humanos.

Definición operacional:

Naturaleza: cuantitativa

Escala de medición: Razón

Forma de medición: directa

Procedimiento: siembra, aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus* en placas con agar chocolate como en agar sangre.

Expresión final de la variable: UFC/gr o ml

❖ **Presencia de hongos y levaduras.**

Definición conceptual:

Hongos: Son protistas no fotosintéticos que crecen como una masa de filamentos ramificados y estrellados (hifas) conocidos como micelio.

Levaduras: Una levadura es un hongo unicelular con un único núcleo que se reproduce de forma asexual a través de la formación de esporas. Las levaduras tienen tamaño más grande que las bacterias, varían mucho de tamaño y suelen ser esféricas u ovoides.

Definición operacional:

Naturaleza: Cuantitativa

Escala de medición: razón.

Forma de medición: Directa

Procedimiento: Cultivo en placas con agar y recuento de hongos y levaduras en placas con agar saboraud y agar OGA.

Expresión final de la variable: UFC/gr o mL

C. Ensayo de estabilidad física

Definición conceptual: Comprobación de la permanencia a través del tiempo de las características representativas del producto elaborado.

Definición operacional:

Naturaleza: cualitativa

Forma de medición: indirecta

Escala de medición: nominal

Procedimiento: Se realizará por observación de los cambios de las propiedades físicas como aparición de manchas, exudados, precipitados, sedimentación, variación del color y presencia de contaminación fúngica o bacteriana.

Expresión final de la variable. Estable, inestable.

D. De la muestra vegetal

Tiempo de recolección:

- *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra), plantas que se colectarán durante los meses de Febrero y Abril.
- *Citrus limon* (limón), frutos que se colectarán en los meses de Setiembre y octubre.

Altitud de recolección:

- *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra), 2885-2890 msnm.
- *Citrus limon* (limón), 1000 -2890 msnm.

➤ **De la forma farmacéutica**

- Estabilidad de los insumos
- Actividad antimicótica de los insumos

E. De las personas voluntarias

- **Edad:** Estado de desarrollo corporal, tiempo de vida Cronológica.
- **Sexo:** Conjunto de caracteres genotípicos y fenotípico que caracterizan al ser humano y lo distingue en Varón o mujer.

3.4.2.2. VARIABLES SUBJETIVAS

Estas variables se eliminarán debido a que el estudio clínico será observado y monitoreado por dos investigadores

3.5. CRITERIOS DE SELECCIÓN

3.5.1. DE LA PLANTA EN ESTUDIO

Para la realización del presente estudio se recolectaron las hojas frescas sanas, limpias y libres de plagas. Luego se procedió a la limpieza y secado de la especie vegetal *Ophryosporus peruvianus* y del fruto fresco de *Citrus limón* (limón) obtenidas de los distritos de Yucay, y Quillabamba de la provincia de Urubamba Departamento del Cusco.

3.5.2. DE LA OBTENCION DEL EXTRACTO ETANOLICO

La obtención del extracto etanólico de la especie vegetal *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra) se llevo a cavo de acuerdo al flujo grama N° 01

- Se maceró 4.5 kg con 22.5 litros de etanol absoluto de 96 ° a temperatura ambiente y con agitación permanente por 6 veces consecutivo y por un lapso de 6 días cada vez.

- Los extractos se reunieron a través del proceso de filtración con algodón y fueron sometidos a evaporación en desecador a temperatura de 38 °C obteniéndose un extracto semiseco de color verde oscuro con partículas aparentemente grasosas de color verde pacay en regular cantidad

PRIMER PROCEDIMIENTO:

Se inicio pesando 23 g de extracto etanólico semiseco y se sometió a partición, en una pera de decantación, se suspendió en 125 ml de agua y 125 ml de Diclorometano. Se agitó suavemente obteniéndose 3 fracciones: una fracción soluble en Diclorometano de color verde pacay oscuro, que una vez liberado del solvente se le denomino **extracto diclorometanolica**, una fracción soluble en agua de color naranja, que se le denomino **fase acuosa** y una fracción insoluble de color marón oscuro, al cual se le denomino **resina interfase insoluble 1**.

SEGUNDO PROCEDIMIENTO:

El extracto diclorometanolica obtenido se particionò, suspendiéndolo de igual forma que el primer procedimiento con 350 ml de n-Hexano (Químicamente puro) y 350 ml de metanol obteniéndose tres fracciones; una fracción soluble en n- Hexano, de color marrón oscuro que liberado del solvente se le denominó **extracto hexánico**; una fracción soluble en metanol de color verde oscuro que liberado del solvente se le denomino **extracto metanòlico** y una fracción insoluble, de color gris que se le denomino **Resina interfase 2**. Todo este procedimiento se llevo a cavo de las 24 horas.

TERCER PROCEDIMIENTO:

Se inicio pesando 35 g de extracto etanólico semiseco y se sometió a partición, en una pera de decantación se suspendió en 300 ml de agua y 300 ml de Diclorometano. Se agitó suavemente obteniéndose 3 fracciones: una fracción soluble en Diclorometano de color verde pacay oscuro, que

una vez liberado del solvente se le denominó **extracto diclorometanólico**, una fracción soluble en agua de color naranja, que se le denominó **fase acuosa** y una fracción insoluble de color marrón oscuro, al cual se le denominó **resina interfase insoluble 1**.

CUARTO PROCEDIMIENTO:

El extracto Diclorometanólico obtenido se particionó, suspendiéndolo de igual forma que el primer procedimiento con 250 ml de n-Hexano (Químicamente puro) y 250 ml de metanol obteniéndose tres fracciones; una fracción soluble en n-Hexano, de color marrón oscuro que liberado del solvente se le denominó extracto hexánico; una fracción soluble en metanol de color verde oscuro que liberado del solvente se le denominó extracto metanólico y una fracción insoluble, de color gris que se le denominó Resina interfase 2. Todo este procedimiento se llevó a cabo de las 24 horas.

3.5.2.1. CRITERIOS DE INCLUSION

- Las partes aéreas (hoja tallos y flores) de la especie *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra).
- El extracto activo contra *Trichophyton mentagrophytes* ATCC obtenidas del extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra)
- Todos aquellos frutos de *Citrus limon* (limón), los cuales no hayan sido atacados por insectos.

3.5.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSION

- Las raíces de la especie *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra).
- De la cepa de *Trichophyton mentagrophytes* ATCC que no estén en buenas condiciones (contaminación) o que no cumplan con las características básicas de la cepa.
- Aquellos frutos de *Citrus limon* (limón), expuestos a la acción de productos agroquímicos y muestras que presentan algún deterioro.

De la cepa de *Trichophyton rubrum* que no estén en buenas condiciones (contaminación) o que no cumplan con las características básicas de la cepa.

3.5.3. DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION

3.5.3.1. CRITERIOS DE INCLUSION

Ratones con un peso promedio de 20- 25 gr que estén completamente sanos

3.5.3.2. CRITERIOS DE EXCLUSION

- Ratones albinos hembras
- Ratones albinos machos que no se encuentren sanos
- Ratones albinos machos que durante el experimento presenten alteraciones dérmicas o no se encuentren sanos

3.5.4. DE LOS PACIENTES VOLUNTARIOS

3.5.4.1. CRITERIOS DE INCLUSION

- Pacientes en edades comprendidas de 20-60 años
- Paciente con diagnóstico de dermatofitosis (*Trichophyton*)

3.5.4.2. CRITERIOS DE EXCLUSION

- Pacientes que no tengan el diagnóstico de dermatofitosis (*Trichophyton*)
- Pacientes que no deseen participar en el estudio
- Pacientes con tratamiento antimicótico por vía tópica o sistémica

3.5.5. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Cuadro N° 02

VARIABLES	Naturaleza	Forma de medición	Escala de medición	Indicadores	Instrumentos	Expresión final de la variable
Independientes:						
A. Concentración del extracto hexánico de <i>Ophryosporus peruvianus</i> (Cjafra – cjafra)	Cuantitativa	Directa	Razón	Cantidad de extracto etanólico disuelto en cantidad de hexano	Probeta	mg /mL
B. Concentración de aceite esencial de la cáscara de <i>Citrus limon</i> (limón)	Cuantitativa	Directa	Razón	Cantidad de aceite esencial extraído por destilación por arrastre de vapor	Bureta Graduada	mL
C. Jabones líquidos elaborados usando el extracto hexánico de <i>Ophryosporus peruvianus</i> (Cjafra – cjafra) y el aceite esencial de <i>Citrus limon</i> (limón)	Cuantitativa	Directa	Razón		Micropipetas Graduada de 10µL – 100 µL	mg/mL

Variables	Naturaleza	Forma de medición	Escala de Medición	Indicadores	Expresión final
Dependientes:					
A. Actividad antimicótica in vitro de los jabones líquidos elaborados con el aceite esencial de <i>Citrus limon</i> y extracto hexánico de <i>Ophryosporus peruvianus</i> en cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> y <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Cuantitativa	Directa	De razón	Diámetro del halo de inhibición del crecimiento del hongo	mm
B. Dermatotoxicidad en ratones albinos machos	Cualitativa	Directa	Ordinal	IRRITACION PRIMARIA	No irritante Irritante débil Irritante moderado Irritante grave
	Cualitativa	Directa	Ordinal	SENSIBILIZACION CUTANEA	No Sensibilizante Sensibilizante débil Sensibilizante moderado Sensibilizante
	Cualitativa	Directa	Ordinal	FOTOTOXICIDAD O FOTOALERGICIDAD	No fototóxico Fototóxico débil

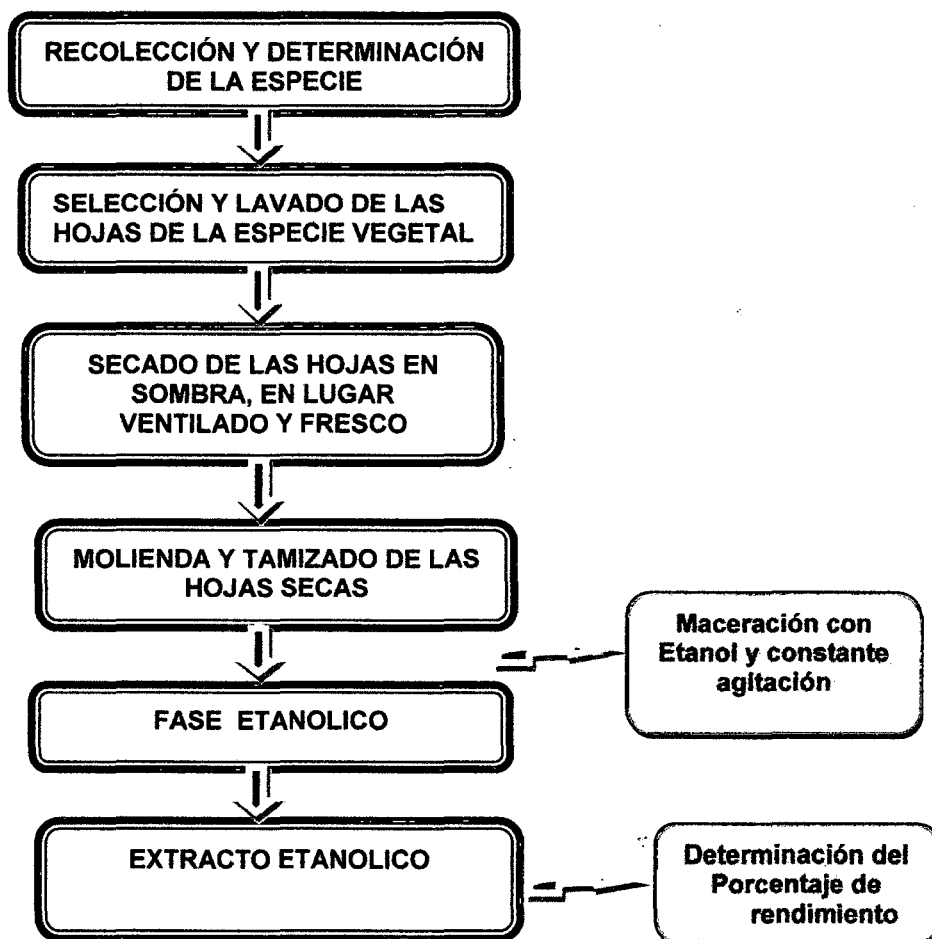
<p>C. Efecto antimicótico in vivo de los jabones líquidos elaborados con el extracto hexánico de <i>Ophryosporus peruvianus</i> y con el aceite esencial de <i>Citrus limón</i> en pacientes con dermatofitosis</p>	<p>Cualitativa</p>	<p>Indirecta</p>	<p>Nominal</p>	<p>Disminución de la coloración rojiza de la piel Disminución de la descamación Disminución del prurito</p>	<p>Fototóxico moderado Fototóxico grave No fotoalérgico Fotoalérgico débil Fotoalérgico moderado Fotoalérgico grave</p> <p>Curado Mejorado Sin efecto</p>
---	---------------------------	-------------------------	-----------------------	--	---

3.6. PROCEDIMIENTO

3.6.1 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra).

Se realizó macerando la muestra vegetal seca y molida con etanol absoluto a temperatura ambiente durante ocho días y con agitación permanente. La fase etanólica se concentran en un rotavapor a 40 °C, obteniéndose un extracto semiseco, el cual será sometido a la determinación del efecto antimicótico. Este procedimiento se resume con el grafico.

Flujograma Nº 01: Obtención del extracto etanólico



FUENTE. Elaboración propia

El porcentaje de extracción se calculó con la siguiente fórmula

$$\text{Porcentaje de extracción} = \frac{P_f}{P_i} \times 100 \% \dots\dots \text{Ecuación N}^\circ 01$$

Donde:

Pi: peso inicial (muestra seca)

Pf: peso final (extracto etanólico seco)

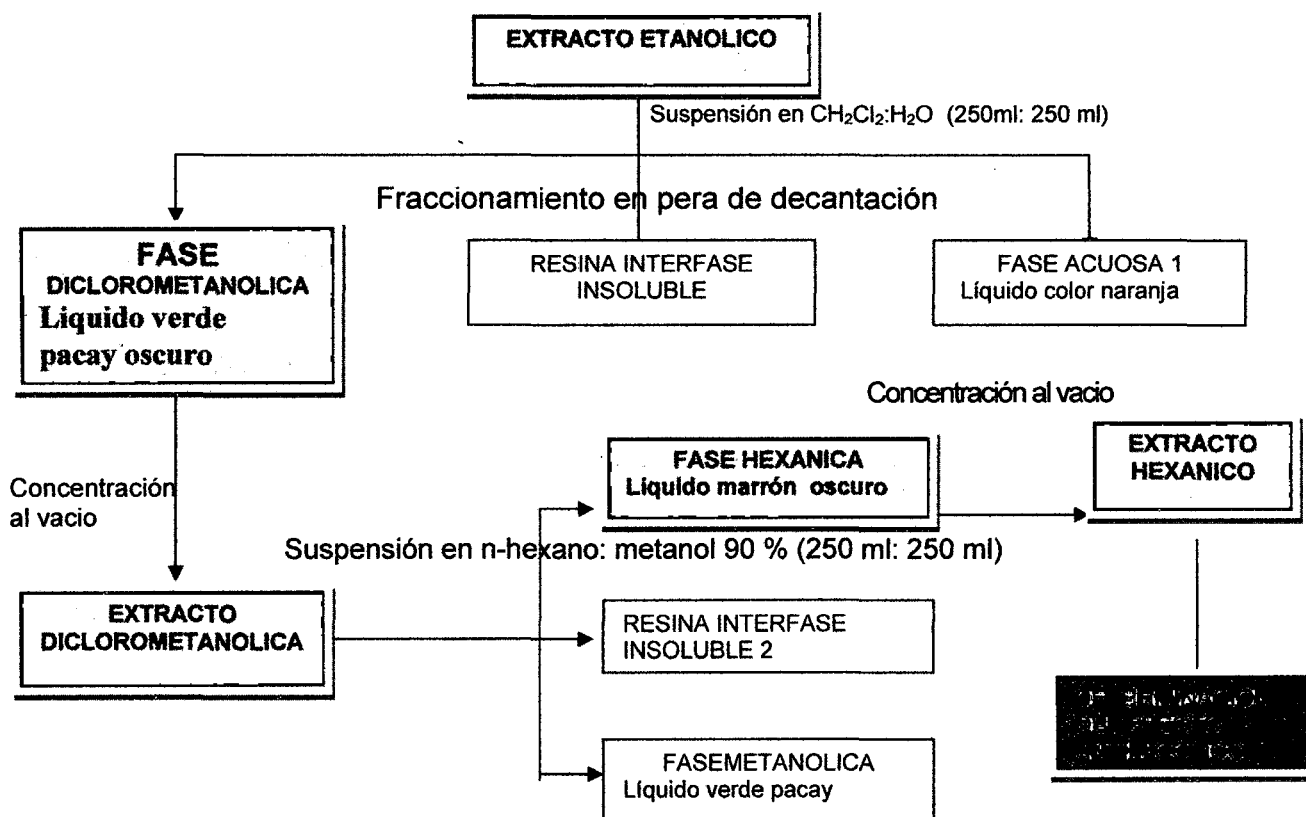
3.6.2. FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO ETANOLICO.

- FRACCIONAMIENTO POR PARTICION.

Esta extracción se realizó de acuerdo a la técnica usada en el laboratorio de Química Orgánica de la Pontificia Universidad Católica del Perú, durante el desarrollo de la tesis intitulada “Efecto antimicótico en *Trichophyton mentagrophytes* durante el proceso de fraccionamiento del extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus*”⁽¹⁷⁾

El fraccionamiento del extracto etanólico se realizará sometiendo a partición, en una pera de decantación suspendiendo en agua y diclorometano (partes iguales). El extracto diclorometano, una vez liberado del solvente, (agua) se particionò suspendiéndolo en n- hexano y metanol 90% (partes iguales), obteniéndose el extracto metanólico y extracto hexánico secos.

Flujograma N° 02: Fraccionamiento del Extracto Etanólico



Fuente: elaboración propia

3.7. OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon* (limón)

Los aceites esenciales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante varios métodos como son: expresión, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, enfleurage y con fluidos supercríticos.

3.7.1. MÉTODO DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR DE AGUA

En la destilación por arrastre con vapor de agua, la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, es encerrada en una cámara inerte y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentado, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluidas.

Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada. ⁽⁴⁶⁾

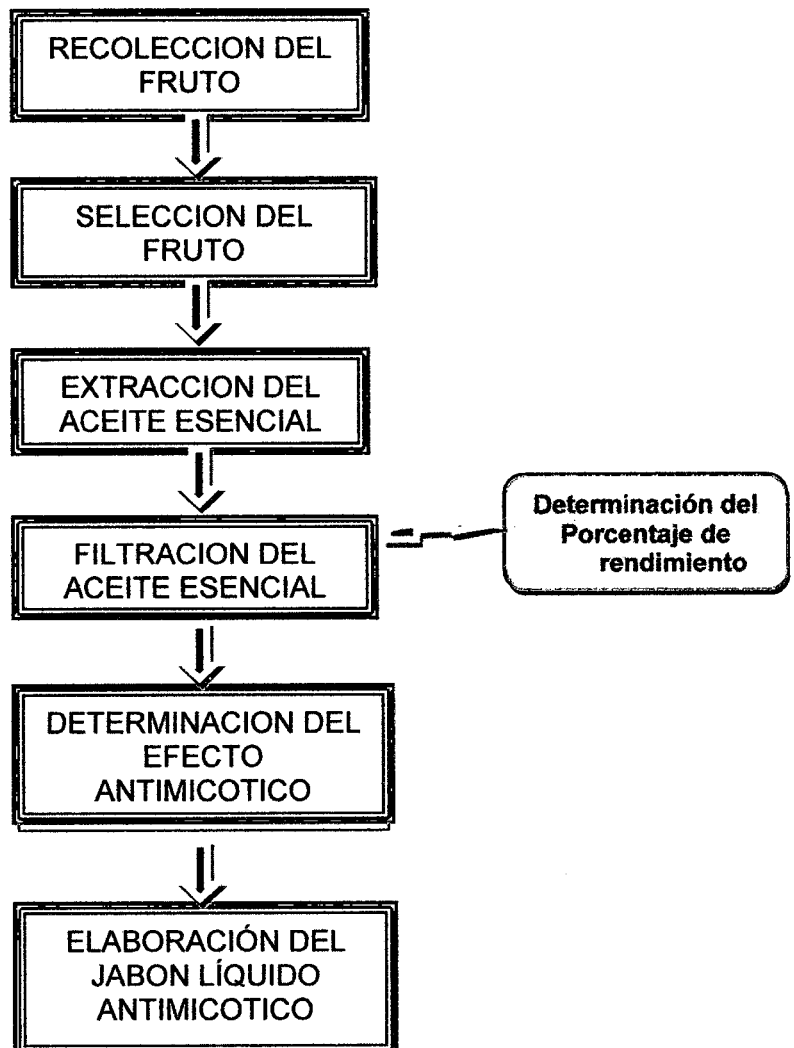
3.7.2. PROCESO DE EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon* (limón)

Se realizó la selección del fruto, el cual debía pesar aproximadamente 130gr y tener la corteza gruesa para que se haga más fácil su manipulación. Esta de preferencia debe ser de color amarillo verdoso para asegurarse que la solución que se obtendrá no sea de color oscuro ni tan amargo. Su corteza fue previamente lavada para evitar que el aceite tuviera partículas sucias

Luego será llevado en recipientes asépticos al equipo para la obtención del aceite esencial del limón.

FLUJOGRAMA Nº 03

OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE CITRUS LIMON (LIMÓN) PARA LA DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIMICÓTICO



Fuente: Elaboración propia

3.8. PRE FORMULACION DEL JABON LIQUIDO BASE

MATERIA PRIMA:

AGUA	750 g
LAURIL ETER SULFATO DE SODIO (TEXPON N-70)	150 g
COCOAMIDA PROPIL BETAINA (DEHYTON)	25 g
METIL PARABENO SODICO	2 g
ETILEN DIAMINOTETRAACETICO (EDTA)	1 g
QUERATINA (NUTRILAM)	1g
DIETANOLAMIDA DE COCO DEA (COMPERLAN)	50 g
GLICERINA	10 g
ACIDO CITRICO	csp
ETANOL 96 °	csp

PROCEDIMIENTO:

En un recipiente de plástico de 2 litros de capacidad se añadió 750 g de agua, al cual le agregamos Lauril éter sulfato de sodio (Texapón N-70) 150 gr. Luego se procedió a revolver bien con la cuchara de metal en baño maría. Luego le agregamos el cocoamida propil betaina (Dehyton) 25 gr en frio. Cuando ya todo estaba disuelto en el agua se agrego los 2 gramos de Metil Parabeno Sódico disuelto en 2mL de etanol, a continuación la queratina (proteína) liquida 1 g y revolvemos muy bien cada uno de los componentes. En un segundo recipiente (Beakers) de plástico o vidrio graduados para líquidos de 50 ml., mezclar 1g de EDTA a esta mezcla se le adiciona al recipiente de plástico grande revolviendo muy bien. Luego se agrega poco a poco el Comperlan (50g.) previamente pesados en la balanza digital. Revolviendo continuamente hasta que espese. Luego se agrega la Glicerina (10g.) previamente pesado. mezclamoss bien todo con la cuchara de metal y empacamos con la ayuda del embudo.

Recomendaciones: Cuando al mezclar el amida propil betaina (Comperlan), se debe agregar en forma continua poco a poco, hasta encontrar el grosor ideal del jabón liquido, inicialmente se trabaja con 50g., pero en ocasiones no son necesarios. Sí el jabón líquido quedó muy grueso, se le echa 10g. De Propilenglicol para adelgazarlo. El cocoamida propil betaina (Dehyton) es la que se encarga de producir la espuma junto con el Lauril éter sulfato de sodio. (Texapon-N-70)

Precauciones: No hay

3.8.1. CONTROL DE CALIDAD DE LOS JABONES ELABORADOS

3.8.1.1. ANÁLISIS FISICO – QUIMICO.

Se realizó este análisis, a los jabones elaborados y elegidos para ser sometidos a los siguientes pasos de la investigación.

A. Determinación del pH.

Procedimiento:

- Trasvasar 2 ml de la muestra a un vaso precipitado.
- Calibrar el potenciómetro con solución buffer
- Poner en contacto los electrodos del potenciómetro en la muestra
- Realizar la lectura del pH.

B.- Determinación de la Densidad

Método: Picnómetro.

Procedimiento:

- 1.- Se pesa el picnómetro limpio y seco.
- 2.- Se llena el picnómetro con la muestra líquida.
- 3.- Se pesa el picnómetro lleno.
- 4.- Se realiza diferencia de masas, (Todo se realiza a una T° de 20°C).

Cálculo:

$$\delta = \frac{m(\text{diferencia de pesada})}{v(\text{volumen del picnómetro})} \dots\dots\dots \text{Ecuación N° 02}$$

Donde:

- δ: densidad
- μ: masa
- v: volumen

C.- Determinación de la viscosidad.

Método cuantitativo.

Procedimiento:

Se realizó mediante el viscosímetro de Ostwald, que consiste en un tubo en forma de U, una de cuyas ramas posee en su parte superior un bulbo "A"

con dos señales "a" y "b". Por debajo de este ensanchamiento se prolonga el tubo en forma capilar "B", y luego se ensancha de nuevo formando en la otra rama el depósito esférico "C".

Cálculo:
$$\frac{M_o}{M_1} = \frac{\delta_o(t_o)}{\delta_1(t_1)} \dots\dots\dots\text{Ecuación N° 03}$$

D.- Características organolépticas:

Procedimiento: El producto se expuso a temperatura máxima de 40 °C, temperatura mínima de 4° C y a temperatura ambiente de 25 °C por 14 días. Y por observación directa y procedimientos simples se reconoció las características iniciales del producto elaborado como es el sabor, olor, color, pH, viscosidad, etc.

3.8.1.2. CONTROL MICROBIOLÓGICO:

Se realizó el análisis microbiológico de los jabones elegidos a partir de las 12 formulaciones anteriores.

A. Preparación de la muestra.

- Se toma 1mL de la muestra y se agrega 9mL de agua peptonada al 1% hasta obtener una dilución homogénea. Se procederá a agitar 25 veces suavemente para obtener una mezcla homogénea la cual es la dilución 10^{-1} . Con una pipeta estéril se toma 1mL de la disolución obtenida. a partir del mismo se procede de igual manera para obtener una dilución 10^{-2} . De esta se tomará 1mL con una pipeta estéril se agrega en un tubo que contiene 9ml de agua peptonada al 1 % en este caso obteniéndose la dilución 10^{-3} . una vez obtenida las diluciones se procedió al sembrado en las determinadas placas petri con sus respectivos sustratos para verificar la presencia de los determinados microorganismos:

B. Presencia de Aeróbios Mesófilos viables.

Técnica:

- Se aspiró 1mL de cada una de las diluciones realizadas en el agua peptonada al 1% (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}) en placas petri, por triplicado.
- Luego se añadió en cada una de las placas 25 mL de agar templado a 44 – 46°C.
- Se mezcló el inóculo con el medio fundido, mediante movimiento de vaivén. Una secuencia satisfactoria de pasos es la siguiente: Mover la placa de arriba abajo, de derecha a izquierda en una sola dirección. Rotar la placa en el sentido de las agujas del reloj y en sentido contrario a las agujas del reloj.
- Se incubó las placas invertidas a 37 °C durante 24 – 48 horas.
- Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se realizó la lectura de las placas.
- Se expresó el número de microorganismos aerobios mesófilos por gramo de muestra (ufc/g o ml), multiplicando el número de colonias por la dilución correspondiente.

C. Recuento de hongos y levaduras.

- Se incubó las placas invertidas a un T° de 20 a 25°C durante 5 a 7 días.
- Transcurrido el tiempo de incubación, se realizó el conteo, seleccionando las placas correspondientes a una dilución que muestre el mayor número de colonias pero no menos de 100 colonias.
- Se expresó el número de hongos y levaduras por gramo o mL de muestra (ufc/ o ml), multiplicando el número de colonias por la dilución correspondiente, de acuerdo a las recomendaciones de las ICMSF).

D. Recuento de *Escherichia coli*.

Método: Recuento en la placa por siembra en todo el medio.

Técnica:

- Luego de haber sido incubadas por 24 horas a 37°C las diluciones realizadas en agua peptonada al 1 %, se realizó la siembra de cada

dilución (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) mediante una asa de siembra por agotamiento hasta agotamiento en placas que contenían Agar Mac Conkey.

- Cada dilución se trabajó por triplicado.
- Se incubaron las placas invertidas a 37°C durante 24 – 72 horas.
- Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se realizó el conteo de las placas correspondientes a una dilución

E. Recuento de *Pseudomonas aeruginosa*

Método: Recuento en la placa por siembra en todo el medio.

Técnica:

- Luego de haber sido incubadas por 48 horas a 37°C las diluciones realizadas con caldoagua peptonada al 1%, se realizó la siembra de cada dilución (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) mediante una asa de siembra hasta agotamiento en placas que contenían Agar Cetrimide
- Cada dilución se trabajó por triplicado.
- Se incubó las placas invertidas a 37°C durante 24 – 72 horas.
- Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se realizó el conteo de las placas. No debe presentar crecimiento de colonias, las lecturas se debe realizar a las 24 y 48 horas.

F. Recuento de *Staphylococcus aureus*

Método: Por siembra en placa en todo el medio

Técnica:

- Luego de haber sido incubadas por 48 horas a 37°C las diluciones realizadas con agua peptonada al 1%, se realizó la siembra de cada dilución (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) mediante una asa de siembra hasta agotamiento en placas que contenían Agar sangre
- Cada dilución se trabajó por triplicado.
- Se incubó las placas invertidas a 37°C durante 24 – 72 horas.
- Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se realizó el conteo de las placas. No debe presentar crecimiento de colonias, las lecturas se debe realizar a las 24 y 48 horas.

3.8.2. ENSAYO DE ESTABILIDAD DEL PRODUCTO.

Cambios en las propiedades Físicas.

Técnica:

- La primera muestra se obtuvo a condiciones normales de temperatura humedad y conservación por un tiempo de 3 meses.
- Las siguientes muestras se obtuvieron después de haber sometido al producto terminado a diferentes factores físicos como se muestra en el cuadro inferior.
- A cada una de las muestras se les realizó un examen físico- químico y microbiológico.

A. CONDICIONES DE TEMPERATURA, HUMEDAD Y LUZ PARA EVALUAR LA ESTABILIDAD.

Cuadro N° 03

TEMPERATURA	LUZ	HUMEDAD
-5		35%
25 °C	Natural	45%
40 °C	Artificial	64%

Fuente: DMID (Dirección de Medicamentos Insumos y Drogas)

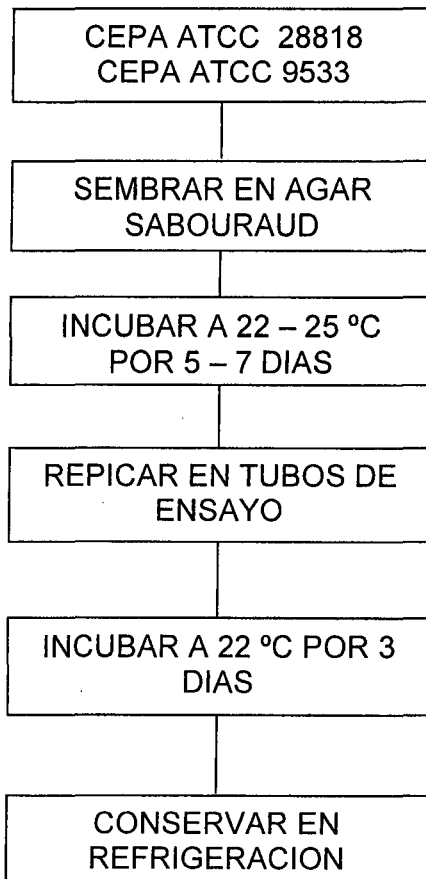
3.8.3. DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA EN CEPAS DE *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*

3.8.4. PROCESAMIENTO MICROBIOLÓGICO

Una vez que se obtuvo la cepa de *Trichophyton rubrum* esta fue sembrada en Agar Sabouraud e incubada a 22 °C - 25 °C por 5 - 7 días para comprobar su viabilidad, luego se replicó en tubos de Agar Sabouraud que fueron incubadas a 22 °C por 72 horas, los cuales se conservaron en refrigeración a 2 – 8 °C ⁽³⁴⁾

FLUJOGRAMA N° 04:

PROCESAMIENTO MICROBIOLÓGICO DE *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*



Fuente Elaboración Propia

3.8.5. ENSAYO DE SENSIBILIDAD MICÓTICA: POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR EXCAVADO PLACA (Método de Hufford)

3.8.5.1. Preparación del inóculo

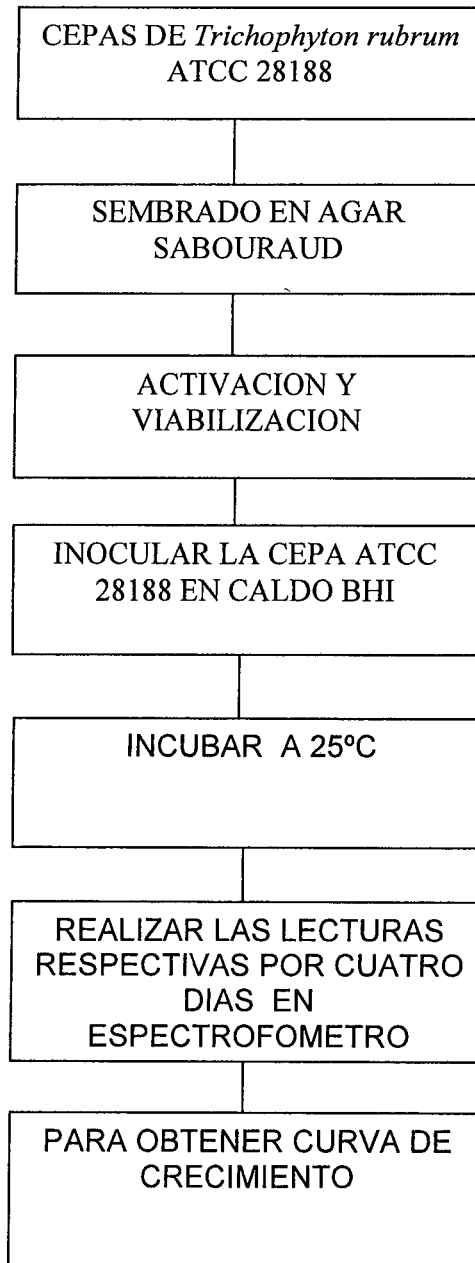
Las colonias del hongo *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 fueron suspendidas en infusión (BHI) Brain Heart Infusion. ⁽⁴⁰⁾

3.8.5.2. Inoculación al medio de cultivo (Agar Sabouraud)

Por cada pozo

- Una vez listo el inóculo de las cepas estándar se procedió a colocar 1 mL de esta suspensión por cada una de las placas estériles, haciendo uso de una pipeta estéril y mechero bunsen.
- A cada uno de estas placas se agregó 20 ml de Agar Sabouraud se homogenizó y se dejó secar por 5 minutos a temperatura ambiente
- Se procedió a realizar perforaciones de 7 mm de diámetro haciendo uso de un cortador estéril, donde se colocó volúmenes establecidos del extracto hexánico disuelto en dimetilsulfoxido y del aceite esencial disuelto en tween- 80 y se depositó en cada pozo para luego incubarlas a 25 °C durante 5 -7 días
- Se repitió el ensayo por tres veces. El solvente Dimetilsulfóxido se incluirá en el experimento como blanco o control negativo
- Para la lectura se midió el diámetro de los halos de inhibición de las dos especies micóticas expresados en mm. ⁽³¹⁾

FLUJOGRAMA N° 05
PROTOCOLO EXPERIMENTAL



Fuente: Elaboración propia

3.8.6. PRUEBAS DERMATOXICOLÓGICAS CON ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN Y PRUEBAS CLÍNICAS EN PACIENTES CON DERMATOFITOSIS

3.8.6.1. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

A. Pruebas de sensibilización cutánea

Se estableció que el producto (jabón líquido) posee capacidad irritativa cutánea cuando al aplicarlo en dosis única a la piel intacta de un mínimo de 3 animales de experimentación (ratones albinos adultos y sanos) y a una determinada concentración de uso del producto demuestra producir signos de eritema, y edema en grado alto tras 72 horas de contacto o en otros tiempos alternativos de seguimiento a los 30 minutos, 60 minutos 24 horas ,48 horas o y 72 horas ⁽⁴⁹⁾

Se trabajó 72 ratones albinos Machos.

3.8.6.2. ESTUDIO CLÍNICO

Pacientes voluntarios con diagnóstico de dermatofitosis que acuden al Hospital de Apoyo Departamental del Cusco

3.8.7. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

A) ESTUDIO CON ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se usó como técnicas para la recolección de datos la observación, evaluando las características físicas, comportamiento y estado fisiológico de los animales en experimentación.

En cuanto al instrumento utilizado fueron la balanza analítica, lupa y Fichas de control.

B) ESTUDIO CLÍNICO

Se usó como técnica de recolección de datos las entrevistas personales, seguimiento y evaluación de cada paciente así como el monitoreo permanente de cada paciente.

Dentro del instrumento usado están las historias clínicas, cartas de consentimiento de los pacientes voluntarios para su participación en el estudio y cámara fotográfica.

3.9. SEGUNDA PARTE: ESTUDIO CLINICO EN PACIENTES CON DERMATOFITOSIS

3.9.1. SUJETOS DE INVESTIGACIÓN

De acuerdo al informe estadístico en el último año se presentaron 2816 pacientes diagnosticados con dermatofitosis de las cuales el tamaño de muestra fue de 302 pacientes que serian debidamente estudiadas; sien embargo solo se tomo una muestra representativa de 75 Pacientes divididos en grupos de 25 pacientes aleatoriamente.

- Las especificaciones del estudio se detallaron dentro de un protocolo de investigación y se presentó a la dirección del Hospital Regional del Cusco para su aprobación antes de iniciar el mismo.

- El ensayo clínico se realizó en condiciones de respeto a los derechos del sujeto y a los postulados éticos como son:

El principio de **autonomía** expresa el respeto por las personas, en este caso concreto por los participantes como sujetos en un ensayo clínico. La forma práctica de plasmar este respeto es informar el ensayo clínico y solicitarle su participación voluntaria en el mismo. El principio de **justicia** busca que todos los sujetos participantes tengan las mismas oportunidades de recibir el tratamiento que se esté ensayando, que se supondría que en su forma farmacéutica es teóricamente superior al utilizado hasta entonces. El postulado ético de **beneficencia** asegura que el nuevo tratamiento (el que se está probando en el ensayo clínico) presenta una adecuada razón de beneficio.

Este postulado exige para su aplicación que exista una buena fundamentación científica

La investigación se realizó tomando en consideración los principios éticos en investigaciones clínicas descritos en el código Núremberg de 1974 y la declaración de Helsinki de 1964. (Ver anexo N° 16)

Se explicó ampliamente al paciente sobre las características e implicancias de formar parte del estudio, para después solicitarle su consentimiento informado de participación

Al término del estudio, los resultados de la investigación se analizaron y publicaron con el consentimiento informado del paciente y manteniendo la exactitud de los datos y resultados obtenidos.

3.9.3 PROCEDIMIENTO

Captación de los pacientes

Para la captación a los sujetos se llenaron previamente la ficha de recopilación de datos, en las cuales se determinaron si el sujeto podría ser incluido o no en el presente trabajo bajo los criterios de selección

Consideraciones éticas

Se les facilitaron fichas estructurada para el estudio, utilizada para registrar de forma directa e individual los datos de cada paciente que formará parte del estudio

Estudio en pacientes con dermatofitosis (*Trichophyton*)

Los pacientes fueron evaluados por la doctora del Servicio de Dermatología del Hospital Regional del Cusco durante su consulta hasta establecer su diagnóstico definitivo.

A los pacientes con el diagnóstico de dermatofitosis (*Trichophyton*) se les brindó información respectiva a la evaluación clínica que se desea realizar.

Si el paciente está interesado (a). Se le entregó un consentimiento informado para obtener su participación voluntaria, en la cual además dejarán registrada su dirección exacta y teléfono.

Luego se realizó el tratamiento tópico por un lapso de 8 semanas, solicitando a los pacientes comunicar cualquier molestia o reacción negativa que pudiera presentarse durante el tratamiento

Seguimiento del paciente

Se les realizó el seguimiento a los 7 días, 14 días, un mes y dos meses de instalado el tratamiento, para su evaluación respectiva. Se reportó los resultados obtenidos

Se comparó los resultados obtenidos con cada uno de los jabones.

3.9.4 ESTRATEGIAS DE RECOLECCION DE DATOS

3.9.4.1 TECNICAS DE RECOLECCION DE DATOS

En el estudio clínico los datos generales y características clínicas de la población en estudio fueron obtenidas en entrevistas directas e historias clínicas, la evaluación de la actividad antimicótica del extracto hexánico del fraccionamiento del extracto etanólico en su forma de jabón. Para el almacenamiento y control de los resultados se utilizó fichas de recopilación de datos que para fines de estudio se les denominará fichas micológicas. ANEXO 17

La calidad de los datos fueron garantizados por el paciente y por la constante coordinación con el médico especialista

3.9.4.2 SELECCIÓN Y CONSENTIMIENTO

- Los pacientes con dermatofitosis (*Trichophyton*) incluidos en el estudio fueron seleccionados según los criterios de inclusión y exclusión a las cuales se les realizó una previa evaluación médica en el consultorio de dermatología del Hospital Regional del Cusco
- A los pacientes con dermatofitosis se les brindó información respecto al tratamiento y procesamiento de los resultados
- Se les hizo firmar un consentimiento informado para obtener su participación voluntaria.

3.9.4.3 TECNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE DATOS

Las técnicas e instrumentos de análisis e interpretación de los datos se realizaron haciendo uso de la estadística descriptiva, estableciendo cuadros estadísticos con sus respectivas frecuencias y sus interpretaciones correspondientes, debido a la naturaleza de las variables y las características de los datos recogidos en las Fichas de recolección de datos.

Para el procesamiento de la información se elaboró una base de de datos en hoja de calculo de Microsoft Excel y el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences versión 15.0) en español con análisis de varianzaUnifactorial con Medidas Repetitivasy Rango Multiplesde, Anova y Duncan.

Resultados
Análisis
Y
Discusión

CAPITULO IV

RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

4.1 DE LA OBTENCION DEL EXTRACTO ETANOLICO

4.1.1 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN DE EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra)

El porcentaje de extracción por maceración se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de Extracción} = \frac{490 \text{ g}}{4500} \times 100 \%$$

$$\text{Porcentaje de Extracción: } 10.89 \%$$

Donde:

$$P_i = 4500 \text{ g}$$

$$P_f = 490 \text{ g}$$

Análisis y discusión: haciendo la comparación de este porcentaje de extracción con el reportado en los antecedentes (10.357%) se evidenció una mayor extracción en el presente estudio, esto debido al grado alcohólico, tiempo empleado en proceso de la maceración y filtración con algodón de la planta seca y molida groseramente obtenida de 2885 - 2890 m.s.n.m de clima templado.

4.1.2 DE L ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

4.1.2.1 DE LAS PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

Cuadro N° 04

Resultados de la prueba de solubilidad del extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra)

SOLVENTE	GRADO DE SOLUBILIDAD
Acetona	+++
Etanol de 70°	+
Metanol	+++
Etanol 96°	++
Acetato de etilo	+++
Agua destilada	-
Diclorometano	+++
Éter de petróleo	+++
n- Hexano	+++
Benceno	+++
Cloroformo	+++

Fuente: Registro de investigación

LEYENDA:

Muy soluble	+++
Soluble	++
Poco soluble	+
Insoluble	-

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN: El cuadro N° 01 muestra los resultados de la prueba de solubilidad del extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) frente a diferentes polaridades de los solventes. Como se puede apreciar el extracto etanólico es totalmente soluble en los solventes apolares como son: acetato de etilo, acetona, benceno, cloroformo, Diclorometano, éter de petróleo, n – hexano y son solubles en los solventes de polaridad intermedia como son: etanol y metanol, esto debido a que el etanol absoluto extrae metabolitos de naturaleza apolar, metabolitos de polaridad intermedia y metabolitos de naturaleza apolar.

Según se aprecia en los resultados de solubilidad, el extracto de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) es de naturaleza apolar el cual se tomarán en cuenta a dichos solventes.

4.1.3 DEL ANALISIS FITOQUIMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Ophryosporus peruvianus*

Cuadro N° 05

RESULTADOS DEL ANÁLISIS FITOQUIMICO CULITATIVO

METABOLITOS	PRUEBA	RESULTADO	OBSERVACIONES
ESTEROIDES	Lieberman- Burchard	+++	Coloración azul verdosa
SAPONINAS	Prueba de la espuma	-	No se observa espuma
TANINOS	Prueba de la Gelatina	+++	Formación de turbidez blanquecina
COMPUESTOS FENOLICOS	Cloruro férrico	+++	Coloración verdosa
FLAVONOIDES	Shinoda	++++	Coloración rojiza
QUINONAS	Bomträger	+	Ligera coloración rojiza en fase acuosa
LEUCOANTOCIANINAS	Rosenhein	-	coloración verde
ALCALOIDES	Dragendorff	+++	Coloración rojiza
	Mayer	+++	Precipitado crema
	Wagner	+++	Precipitado marrón

Fuente: Registro de Investigación

Análisis: En el cuadro N° 05 se muestran los resultados de izquierda a derecha en el siguiente orden:(Esteroides,Saponinas,Taninos,Compuestos Fenolicos, Flavonoides, Quinonas, Leucoantocianinas y Alcaloides) los resultados de la detección de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) se evidencia más la presencia de metabolitos como: flavonoides (coloración rojiza), esteroides (coloración azul verdosa), taninos (Formación de turbidez blanquecina), compuestos fenòlicos (Coloración verdosa) y alcaloides (Coloración rojiza, Precipitado crema, Precipitado marrón). Evidenciándose que los flavonoides y esteroides se encuentran en abundante cantidad en el extracto y por lo cual, hace suponer que estos metabolitos son los responsables de la actividad antimicótica y por ende del efecto antimicótico.

4.2 DE LA OBTENCION DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon* (limón)

4.2.1 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon* (limón)

Peso de cascara picada de limón fresco: **2930g**

Cantidad obtenida en ml de aceite esencial: **30 ml**

% de rendimiento □ **0.12%**

4.2.2 CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS

ASPECTO: Translucido

COLOR: cristalino

OLOR: aromático refrescante

SABOR: ligeramente agridulce

4.2.3 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon* (limón)

Densidad:	0.85 g/mL
pH:	5.63
Índice de refracción:	1.472 a 20 °C 520 nm
Solubilidad en etanol (alcohol de 96°):	2 vol.
Solubilidad en agua:	insoluble
Indice de refracción	1.4722 (20°C)
Temperatura de inflamabilidad	48°C

Análisis de los resultados

El porcentaje de rendimiento por arrastre de vapor de las cascara de los frutos maduros de *Citrus limon* (limón) es de 0.12 %.⁽⁶²⁾ A comparación de otras especies reportadas como eucalipto (*Eucalyptus glóbulos*) con un porcentaje de rendimiento de 0.88 % y muña (*Minthostachys mollis*) con un 0.77 %. A excepción del aceite esencial de ajeno (*Artemisia absinthium* L.)⁽¹⁴⁾ que reportaron 0.19 % de porcentaje de rendimiento. La cual es bajo, esto debido al horario de recolección, grado de madurez y transporte de los frutos de limón.

4.2.4 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DE ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon* (limón)

Cuadro N° 06

SOLVENTE	SOLUBILIDAD A 20°C
TWEEN – 80	+++
ETANOL DE 96°C	+++
ETANOL DE 70°C	++
ETANOL DE 40°C	+
AGUA DESTILADA	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda:

Muy soluble +++

Soluble ++

Poco soluble +

No soluble -

Análisis de los resultados

El cuadro N° 06 muestra las pruebas de solubilidad realizadas del aceite esencial de *Citrus limon* (limón) frente a los respectivos solventes. Se observa que el aceite presenta un buen grado de solubilidad en etanol de 96° y en tween- 80 esto debido a que el aceite esencial es de naturaleza apolar y disminuye gradualmente a medida que se la aumente el grado de polaridad de dichos solventes.⁽³⁰⁾

4.2.5 RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon* (limón)

Los resultados de la detección de los metabolitos secundarios del aceite esencial de *Citrus limón* (limón) se evidencia en mayor porcentaje el limoneno. De acuerdo a los resultados obtenidos luego del procesamiento de la cromatografía de gases por el cual sirvió para comparar los resultados en otras especies de limon en distintas partes del Peru.

4.3 RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN DE LAS FRACCIONES OBTENIDAS DEL EXTRACTO ETANOLICO

Cuadro N°07

Primer Procedimiento: 23. G de extracto etanólico semiseco

FRACCIONES	PESO FINAL	PORCENTAJE DE EXTRACCION
Extracto Diclorometanólico	17.35 g	75.43 %
Extracto acuoso®	3.22 g	14%
Resina interfase 1 insoluble®	2.05g	8.91 %

®: Peso relativo de los extractos obtenidos

Fuente: Registro de Investigación

Cuadro N°08

Segundo Procedimiento: 17.35 g de extracto Diclorometanólico

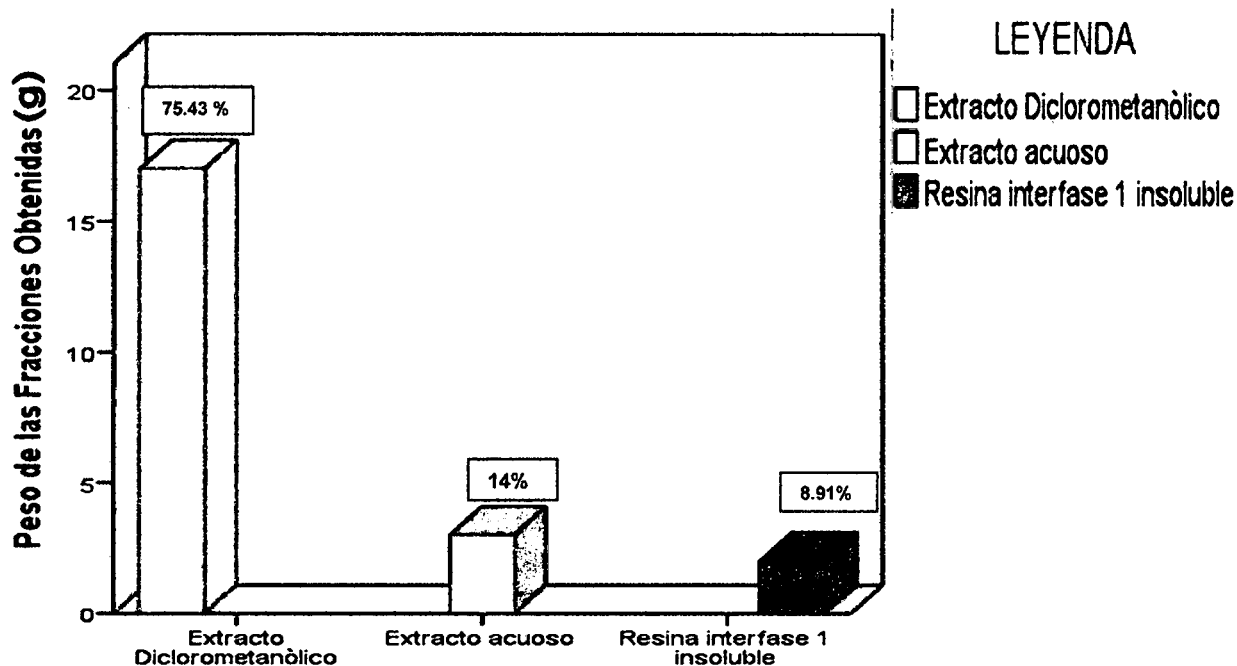
FRACCIONES	PESO FINAL	PORCENTAJE DE EXTRACCION
Extracto metanólico	8.44 g	48.65 %
Extracto hexánico	4.50 g	25.90 %
Extracto interfase 2 insoluble®	3.66 g	21.09 %

®: Peso relativo de los extractos obtenidos

Fuente: Registro de Investigación

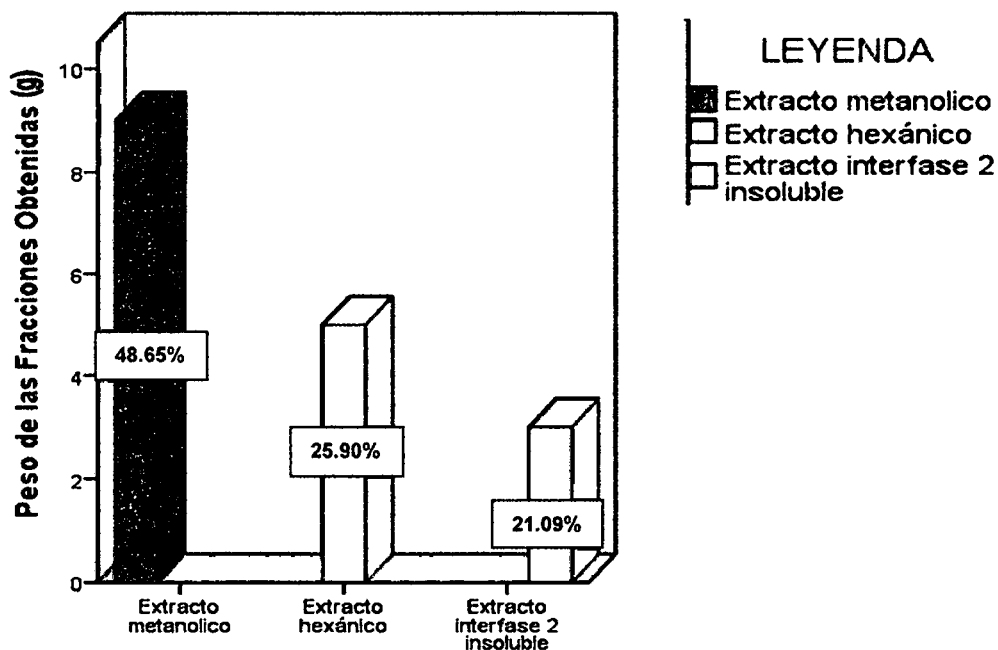
Análisis y discusión: El cuadro N° 07 muestra los porcentajes de extracción de las fracciones obtenidas de 23 g (100%) de extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus*. (Cjafra - cjafra) se observa que el mayor porcentaje lo presenta el extracto diclorometanólico con 17.35 g (75.43 %) en el primer ensayo., seguido del extracto obtenido con metanol con 8.44 g (48.65 %) y de 4.50 g (25.90 %) de extracto hexánico. estos resultados obtenidos se debe a que el extracto posee metabolitos de naturaleza polar como metabolitos de naturaleza apolar.

Gráfico N° 01



Primer procedimiento: 23.g del extracto etanólico semiseco
Fuente: Datos Experimentales

Grafico N° 02



Segundo Procedimiento: 17.35 de extracto Diclorometanólico
Fuente: Datos Experimentales

Análisis y discusión En el grafico N° 01 y N° 02 se observa que presentan en mayor cantidad el extractos Diclorometanòlico con un peso de 17.35 g por lo cual este extracto nos sirvió para obtener el extracto hexánico. En cuanto al gráfico N° 02 el extracto en mayor cantidad se encuentra el extracto metanólico producto de la separación del extracto hexánico con un peso de 8.44 g. En cuanto al extracto hexánico se obtuvo un peso de 4.5 g que representa un 25.90 %.

Cuadro N° 09

Tercer Procedimiento: 35. g de extracto etanólico semiseco

FRACCIONES	PESO FINAL	PORCENTAJE DE EXTRACCION
Extracto Diclorometanòlico	28.5 g	81.42 %
Extracto acuoso	4.2 g	12%
Resina interfase 1 insoluble®	3.7 g	10.57%

®: Peso relativo de los extractos obtenidos
Fuente: Registro de Investigación propia.

Cuadro N° 10

Cuarto Procedimiento: 28.5 g de extracto Diclorometanòlico

FRACCIONES	PESO FINAL	PORCENTAJE DE EXTRACCION
Extracto metanólico	15.9 g	55.18 %
Extracto hexánico	7.6 g	26.60 %
Extracto interfase 2 insoluble®	5 g	17.54 %

®: Peso relativo de los extractos obtenidos

Fuente: Registro de Investigación propia.

Análisis: El cuadro N° 09 muestra los porcentajes de extracción de las fracciones obtenidas de 35 g (100%) de extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus*. (Cjafra - cjafra) se observa que el mayor porcentaje lo presenta el extracto Diclorometanolica con 28.50 g (81.42 %) en el I primer ensayo., seguido del extracto obtenido con metanol con 15.9 g (55.18 %) y de 7.60 g (26.60 %) de extracto hexánico.

Discusión: Estos resultados obtenidos se deben a que el extracto posee metabolitos de naturaleza polar como metabolitos de naturaleza apolar.

4.4 DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA

4.4.1 ACTIVACION DE LAS CEPAS ESTANDAR MICROBIOLOGICAS

Una vez que se obtuvieron las cepas de *Trychophyton mentagrophytes* ATCC9533 y de *Trychophyton rubrum* ATCC 28188

Se activaron (repicaron) en Agar sabouraud, y luego se prosiguió al sembrado en Oxitetraciclina Glucosa Agar (OGA), observándose un buen crecimiento en este a temperatura ambiente.

4.4.2 CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS DE LAS CEPAS ESTANDAR –

- *Trychophyton mentagrophytes*

Color: Colonias blanco, vellosas

Aspecto: Algodonoso, pulverulento

Coloración: Sin pigmento

- *Trychophyton rubrum* ATCC 28188

Color: Colonias blanca rojizas, vellosas

Aspecto: Algodonoso, pulverulento

Coloración: Con pigmento

4.4.3 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DE LAS CEPAS ESTANDAR

- *Trychophyton mentagrophytes* ATCC 9533

- ❖ Microconidios
- ❖ Hifas
- ❖ Artoconidios
- ❖ Micelio
- ❖ Clamidoconidios

***Trychophyton rubrum* ATCC 28188**

- ❖ Microconidios
- ❖ Hifas
- ❖ Artoconidios
- ❖ Micelio
- ❖ Clamidoconidios

4.5 DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DE *Trychophyton mentagrophytes*

4.5.1 DE LA ESTANDARIZACIÓN DE LA CURVA DE CRECIMIENTO DE LAS CEPA

***Trychophyton mentagrophytes* ATCC 9533 y *Trychophyton rubrum* ATCC 28188**

CUADRO N° 11

Curva de estandarización de las dos especies microbianas

T.R.		T.M.	
Tiempo (Horas)	A (623)	Tiempo (Horas)	A (623)
2 Horas	0.086	2 Horas	0.102
8 Horas	0.088	4 Horas	0.170
24 Horas	0.106	6 Horas	0.112
26Horas	0.110	8 Horas	0.126
28 Horas	0.108	22 Horas	0.100
38 Horas	0.190	42 Horas	0.228
40 Horas	0.196	44Horas	0.246
42 Horas	0.252	54Horas	0.346
48Horas	0.298	56Horas	0.366
50 Horas	0.292	58 Horas	0.368
52Horas	0.340	68 Horas	0.440
54Horas	0.342	72 Horas	0.422
72 Horas	0.394	76 Horas	0.430
74 Horas	0.398	80 Horas	0.453
76 Horas	0.390	84 Horas	0.480
78 Horas	0.394	102 Horas	0.413
104 Horas	0.360	106 Horas	0.423

Fuente: Datos Experimentales

ANALISIS E INTERPRETACION

En los gráficos N° 03 y 04 nos muestra claramente la curva de crecimiento de las dos especie micoticas en la cual se aprecian las absorbancias a 623 nm de longitud de onda en el tiempo para cada crecimiento micótico.

En el cuadro se observa que el punto mínimo de crecimiento para *Trychophyton rubrum* que fue a las 28 horas y el punto máximo de crecimiento que fue a las 74 horas.

Para *Trychophyton mentagrophytes* el punto mínimo de crecimiento fue a las 22 horas y el punto máximo de crecimiento fue a las 84 horas.

Las especies micóticas después del punto máximo de crecimiento entran a la fase estacionaria, esto debido a que los nutrientes del medio de cultivo ya se agotaron y a la acumulación de desechos metabólicos de los hongos. ⁽¹⁵⁾

La curva de crecimiento para cada una de las especies micóticas se obtuvo graficando la Absorbancia vs tiempo con los datos que se muestran en el cuadro N° 14.

4.6 DE LA DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICO

4.6.1 RESULTADOS DEL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limón* PARA *Trychophyton mentagrophytes* ATCC 9533 y *Trychophyton rubrum* ATCC 28188

Cuadro N° 12
ACTIVIDAD ANTIMICOTICA

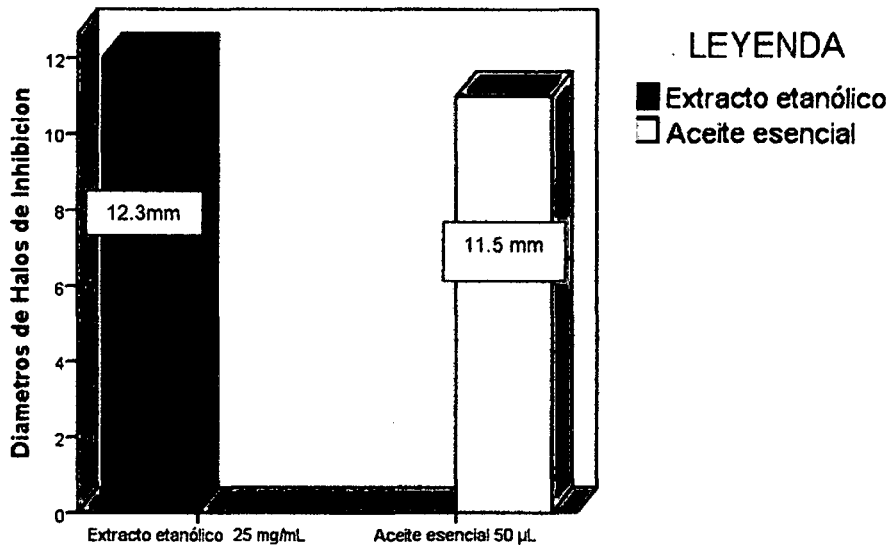
EXTRACTO ETANOLICO, ACEITE ESENCIAL Y CONTROL	CONCENTRACIÓN	DIAMETROS DE HALOS DE INHIBICION (mm) para <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533			
		Placa petri N° 01	Placa petri N° 02	Placa petri N° 03	Promedio
Extracto etanólico (O. p)	25 mg/mL	12	12	13	12.3
Aceite esencial (C. l)	50 µL	11	12	11.5	11.5
Dimetil sulfoxido (DMS)	-	0	0	0	00.00
EXTRACTO, ACEITE ESENCIAL Y CONTROL	CONCENTRACIÓN	DIAMETROS DE HALOS DE INHIBICION (mm) para <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188			
		Placa Petri N° 01	Placa Petri N° 02	Placa Petri N° 03	Promedio
Extracto etanólico (O. p)	25 mg/mL	10	11	10	10.3
Aceite esencial (C. l)	50 µL	13	13	13	13
Dimetil sulfoxido (DMS)	-	0	0	0	00.00

ACTIVIDAD ANTIMICOTICA

Fuente. Datos Experimentales

ANALISIS: El cuadro N° 12 muestran los diámetros de halos de inhibición del extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus* y del aceite esencial de *Citrus limón*, en el cual en la primera tabla se observa que el extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus* muestra mayor halo de inhibición como es de 12.3 mm de halo de inhibición frente a 11.5 mm de halo de inhibición del aceite esencial de *Citrus limón* teniendo y como blanco se utilizó al solvente Dimetilsulfóxido (DMS) que no presenta ningún halo de inhibición.

Gráfico N° 05

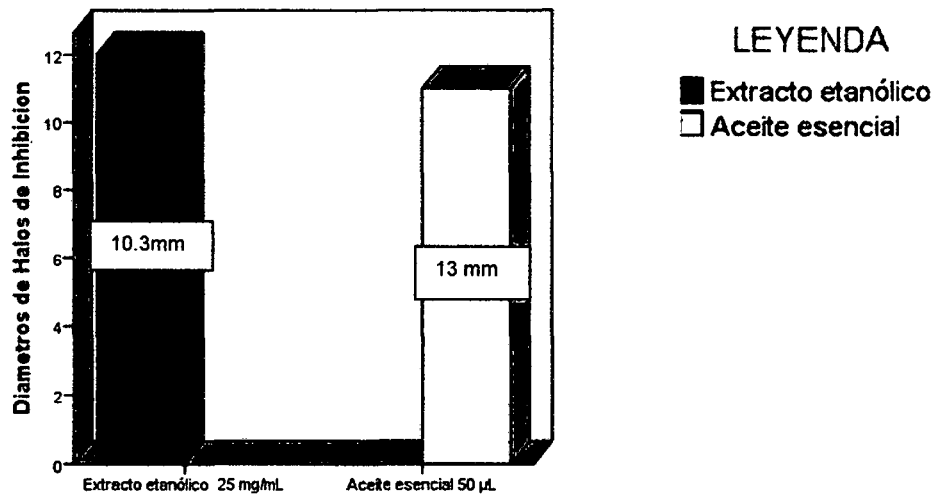


Comparación del efecto antimicótico entre el extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) y el aceite esencial de *Citrus limón* - diámetros de halos de inhibición (mm) para *trychophyton mentagrophytes* ATCC 9533

Fuente: Datos Experimentales

Gráfico N° 06

Diámetros de halos de inhibición (mm) para *trychophyton rubrum* ATCC 28188



Diámetros de halos de inhibición (mm) para *Trichophyton rubrun* ATCC 28188

Fuente: Datos Experimentales

ANALISIS Y DISCUSION:

En el grafico N° 06 se muestra la comparación de los diámetros de halos de inhibición entre el extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) y el aceite esencial de *Citrus limón*, se observa que este ultimo reportó diámetros de halos de inhibición mayores al del extracto etanólico a la concentración de 50µL de aceite esencial de *Citrus limón*, lo cual pone en evidencia un mayor poder de inhibición frente a cepas estándar de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188

4.6.2 Resultados del ensayo de la actividad antimicótico del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* Cjafra - cjafra () sobre cepas de *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188

CUADRO N° 13

EXTRACTO, ACEITE ESENCIAL Y CONTROLES PARA <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	CONCENTRACION	DIAMETROS DE HALOS DE INHIBICION			
		Placa petri N° 01	Placa petri N° 02	Placa petri N° 03	Promedio
Extracto hexánico 50 µL	10 (mg/mL)	18	20	20	19.33
Aceite esencial 50 µL	100 µL	17	15	20	17.33
Fluconazol 50 µL	0.2 (mg/mL)	12	13	14	13.00
Dimetilsulfóxido (DMSO) 50 µL	99,9 +%	0	0	0	00.00
Hexano (Q.p) 50 µL	98.5 %	0	0	0	00.00
EXTRACTO HEXANICO, ACEITE ESENCIAL Y CONTROLES PARA <i>Trichophyton rubrum</i>	CONCENTRACION	DIAMETROS DE HALOS DE INHIBICION			
		Placa petri N° 01	Placa petri N° 02	Placa petri N° 03	Promedio
Extracto hexánico 50 µL	10 mg/mL	20	18	15	17.70
Aceite esencial 50 µL	100µL	22	23	20	21.66
Fluconazol 50 µL	0.2 (mg/mL)	12	12	12	12.00
Dimetilsulfóxido (DMSO) 50 µL	99.9 +%	0	0	0	00.00
Hexano (Q.p) 50 µL	98.5 %	0	0	0	00.00

ACTIVIDAD ANTIMICOTICA

Fuente: Registro de Investigación

ANÁLISIS: El cuadro N° 13 muestra los diámetros de los halos de inhibición del extracto hexánico y del aceite esencial a si como el fármaco patrón Fluconazol y las sustancias químicas que se usó de control. Se observa que el aceite esencial a una concentración de 100 μ L presenta mayor diámetro de halos de inhibición con un valor promedio de 21.66 mm para la cepa estándar de *Trychophyton rubrum* ATCC 28188. Seguido del extracto hexánico a la concentración de 10 mg/ mL presenta mayor diámetro de halos de inhibición con un valor promedio de 17.70 mm para la cepa estándar de *Trychophyton mentagrophytes* ATCC 9533.

En el cuadro N° 12 también se muestra la comparación de los diámetros de los halos de inhibición entre el extracto hexánico y del aceite esencial. Se observa que el aceite esencial a un volumen de 50 μ L reporta diámetros de halos de inhibición mayores al del fármaco patrón de 0.2 mg/ mL. También se observa que el aceite esencial (50 μ L) tiene mayor efecto en *Trychophyton rubrum* ATCC 28188 presentando diámetros de halos de inhibición mayores al del extracto hexánico.

DISCUSIÓN: Esto nos hace suponer que los metabolitos responsables del efecto antimicótico son de naturaleza apolar tanto para el extracto hexánico como del aceite esencial. Por otra parte el fármaco patrón Fluconazol a una concentración de 0.2 mg/mL presenta menor poder de inhibición sobre cepas de *Trychophyton rubrum* ATCC 28188.

ANÁLISIS DE VARIANZA UNIFACTORIAL (ANOVA) DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO HEXANICO DE *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) Y DEL ACEITE ESCENCIAL DE *Citrus limón*

**Cuadro 14
ANOVA**

Diámetros de halos de inhibición del <i>Ophryosporus peruvianus</i>					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	9,556	2	4,778	,406	,684
Intra-grupos	70,667	6	11,778		
Total	80,222	8			
Diámetros de halos de inhibición del aceite esencial de <i>citrus limón</i>					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	9,556	2	4,778	,192	,830
Intra-grupos	149,333	6	24,889		
Total	158,889	8			

Fuente: Registro de Investigación

Leyenda:

gl = grados de libertad

F = distribución de Fisher

Sig. = significancia

Sig. > 0.05, no existe diferencia significativa entre los halos de inhibición

Sig. ≤ 0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición

ANÁLISIS DE RESULTADOS: En el análisis de varianza (ANOVA) del cuadro 14 el valor de significancia es: 0.684 y 0.830 respectivamente, valores que supera a 0.05 por lo que se puede afirmar que no existe diferencia significativa entre los halos de inhibición del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) a 10 mg/mL con un volumen de 50 µL seguido del aceite esencia de *Citrus limón* a un volumen de 50 µL y los volúmenes del fármaco patrón con una concentración de 0.2 (mg/mL) con un volumen de 50 µL. es decir no presentan diferencias significativas en la actividad antimicótica; por tal hecho no se realizó la prueba de Duncan.

4.7 DE LA FORMA FARMACEUTICA

4.7.1 COMPATIBILIDAD DE LOS EXCIPIENTES PARA EL JABON LÍQUIDO ANTIMICOTICO

CUADRO N° 15

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE COMPATIBILIDAD E INCOMPATIBILIDAD DE EXCIPIENTES USADOS PARA LA FORMULACIÓN DEL JABON LIQUIDO ANTIMICÓTICO A BASE DE EXTRACTO HEXANICO DE *Ophryosporus peruvianus*(Cjafra - cjafra)

VS	A	LESNA	CAPB	MPb	EDTA	QUER	DEA	GL	ACC	HEOP	DMSO	ET96°
A	-	C	C	I	C	C	C	C	C	I	C	C
LESNA	C	-	I	I	I	C	I	C	I	I	C	C
CAPB	C	I	-	I	I	C	I	C	I	I	C	C
MPb	I	I	I	-	I	C	I	I	I	I	I	C
EDTA	C	I	C	I	-	C	I	C	I	I	C	I
QUER	C	C	C	C	C	-	C	C	I	C	C	C
DEA	C	I	I	I	I	C	-	C	I	I	C	C
GL	C	I	C	I	C	C	I	-	C	I	C	C
ACC	C	I	C	I	C	C	I	C	-	I	C	C
EH.O.P	I	I	I	I	I	C	I	I	I	-	C	C
DMSO	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	-	C
ET96°	C	I	C	C	I	C	I	C	I	C	C	-

Fuente. Elaboración propia

Legenda:

A	= Agua
LESNA	= Lauriletersulfato de sodio
CAPB	= Cocoamidapropilbetaina
MPb	= Metil Parabeno
EDTA	= Etilen diaminotetraacetico
QUER	= Queratina
DEA	= Dietanolamida (Cocoamida)
GL	= Glicerina
ACC	= Acido Cítrico
EH.O.P	= Extracto Hexánico de <i>Ophryosporus peruvianus</i>
DMSO	= Dimetil sulfoxido
ET96°	= Etanol 96°
I	= INCOMPATIBLE
C	= COMPATIBLE

ANALISIS DE RESULTADOS: En el cuadro N°15 se observa la compatibilidad e incompatibilidad de insumos utilizados para la elaboración de la forma farmacéutica. Las incompatibilidades más resaltantes fueron del extracto hexánico que produjo incompatibilidad con el jabón líquido base propuesta, por lo cual se procedió a diluirlo con 1mL de Dimetilsulfóxido el extracto hexánico e incorporarlo a la forma farmacéutica. Por otro lado el metil parabeno no disuelve en agua así que se tuvo que disolver con etanol de 96°.

4.7.2 COMPATIBILIDAD DE LOS EXCIPIENTES PARA EL JABON LÍQUIDO ANTIMICOTICO

CUADRO N° 16

Vs	A	LESNA	CAPB	MPb	EDTA	QUER	DEA	GL	ACC	AECL	TW	ET96°
A	-	C	C	I	C	C	C	C	C	I	I	C
LESNA	C	-	I	I	I	C	I	C	I	I	C	C
CAPB	C	I	-	I	I	C	I	C	I	C	C	C
MPb	I	I	I	-	I	C	I	I	I	I	I	C
EDTA	C	I	C	I	-	C	I	C	I	I	I	I
QUER	C	C	C	C	C	-	C	C	I	C	C	C
DEA	C	I	I	I	I	C	-	C	I	I	C	C
GL	C	I	C	I	C	C	I	-	C	I	C	C
ACC	C	I	C	I	C	C	I	C	-	C	I	C
AECL	I	I	I	C	C	I	I	I	C	-	C	C
TW	I	I	C	C	I	C	I	C	I	C	-	C
ET96°	C	I	C	C	I	C	I	C	I	C	C	-

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE COMPATIBILIDAD E INCOMPATIBILIDAD DE EXCIPIENTES USADOS PARA LA FORMULACIÓN DEL JABON LIQUIDO ANTIMICÓTICO A BASE DE EXTRACTO HEXANICO DE *Citrus limón*

FUENTE. Elaboración propia

Leyenda:

A	= Agua
LESNA	= Lauriletersulfato de sodio
CAPB	= Cocoamidapropilbetaina
MPb	= Metil Parabeno
EDTA	= Etilen Diaminotetraacetico
QUER	= Queratina
DEA	= Dietanolamida (Cocoamida)
GL	= Glicerina
ACC	= Acido Cítrico
ET96°	= Etanol 96°
I	= INCOMPATIBLE
C	= COMPATIBLE

ANÁLISIS DE RESULTADOS: En el cuadro N° 16 se observa la compatibilidad e incompatibilidad de insumos utilizados para la elaboración de la forma farmacéutica. Las incompatibilidades más resaltantes fueron que el aceite esencial de *Citrus limón fue* incompatible con el jabón líquido base propuesta por lo cual se procedió a diluirlo con 1mL de Tween así se pudo incorporar a la forma farmacéutica. Por otro lado el metil parabeno no disuelve en agua así que se tuvo que disolver con etanol de 96°.

PRIMERA ETAPA

4.7.3 FORMULACION DEL JABON LÍQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL DE *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra- cjafra)

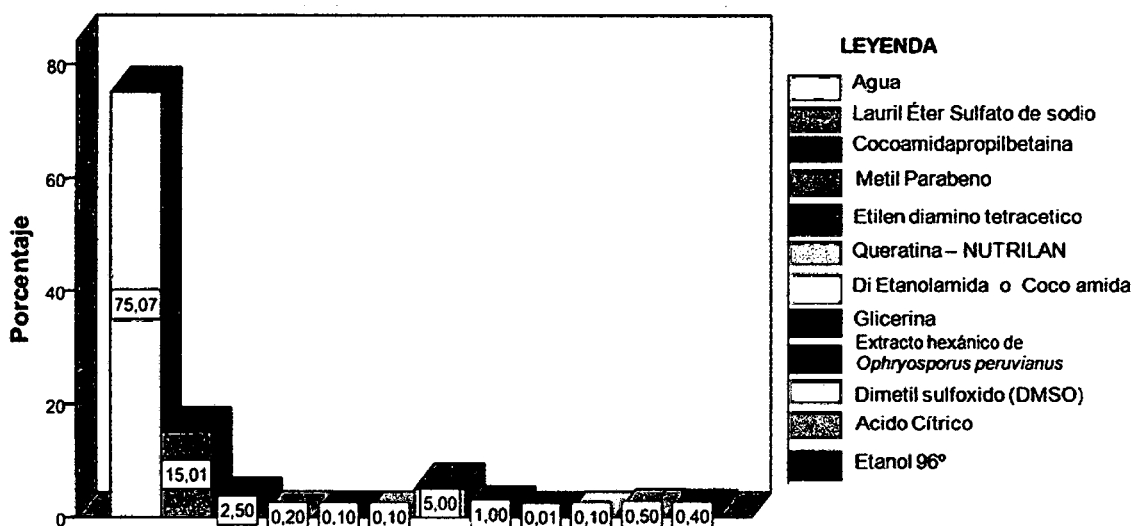
CUADRO N° 17

CARACTERÍSTICAS DE LOS INSUMOS	FORMULACIÓN DEL JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO DE <i>Ophryosporus peruvianus</i>											
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	F ₁₀	F ₁₁	F ₁₂
Agua (transportador)	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g
Lauril Eter Sulfato de sodio (Surfactante, agente limpiador)	50 g	60 g	70 g	80 g	90 g	100 g	110 g	120 g	130 g	140 g	150 g	160 g
CocoAmidaPropilBetaina (Surfactante,generador de espuma)	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g
Metil Parabeno (Agente de conservación)	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g
Etilen diamino tetracetico (Agente quelante)	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g
Queratina – NUTRILAN (proteína)	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g
Di Etanolamida o Coco amida (Aumenta la viscosidad)	50g	50g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50g
Glicerina (humectante universal)	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g
Extracto hexánico de <i>Ophryosporus peruvianus</i> (p.a)	0.01 g	0.0 2g	0.03 g	0.04 g	0.0 5g	0.06 g	0.07 g	0.08 g	0.09g	0.10 g	0.11g	0.12 g
Dimetil sulfoxido (DMSO) (solvente orgánico)	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g
Acido Cítrico (Ajustador de pH, agente quelante)	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g
Etanol 96° (solvente orgánico)	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g
JABON LIQUIDO	JL ₁	JL ₂	JL ₃	JL ₄	JL ₅	JL ₆	JL ₇	JL ₈	JL ₉	JL ₁₀	JL ₁₁	JL ₁₂

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN: En el cuadro N° 17 se observa las diferentes formulaciones del jabón líquido antimicótico con diferentes grados de detergencia y de extracto hexánico. Las cantidades establecidas en este cuadro fueron obtenidas de las pruebas preliminares que se realizaron y luego de salvar las principales incompatibilidades que se presentó con dichos insumos tales como del Metilparabeno y del mismo extracto hexánico del jabón base.

GRAFICO N° 07



Formulación del jabón líquido antimicótico de *Ophryosporus peruvianus*

Fuente: Datos Experimentales

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN: En el gráfico N° 07 se muestran los porcentajes de cada uno de los insumos utilizados en la formulación del jabón líquido antimicótico de las cuales el agua ocupa la mayor parte, seguido del detergente Lauril éter sulfato de sodio con un 15% y del dietanolamina de coco con un 5% entre los más importantes de los insumos. Y en mínima cantidad se encuentra el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) que se incluye en la formulación del jabón líquido como extracto antimicótico.⁽⁵⁰⁾

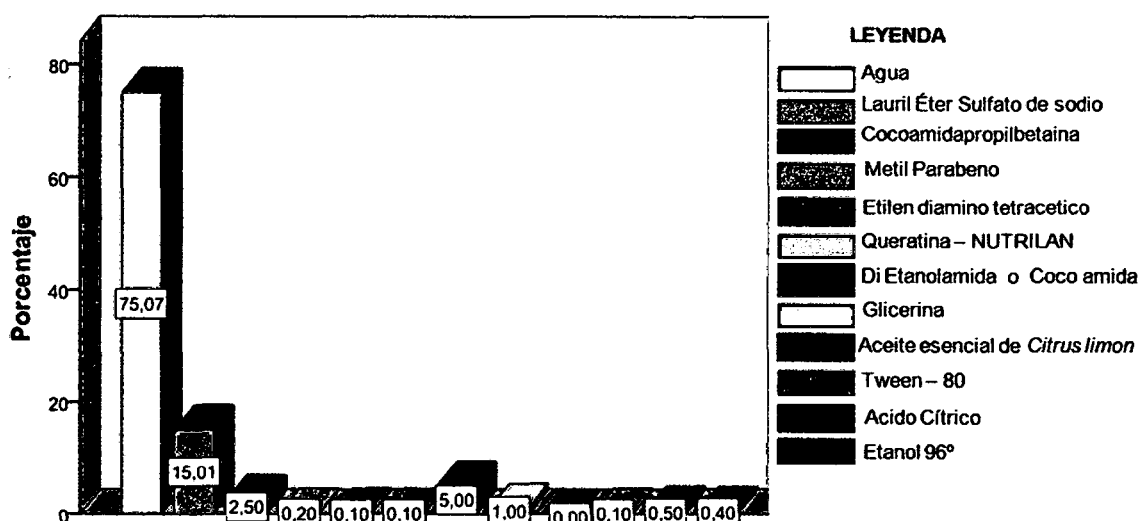
4.7.4 FORMULACION DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limón* (limón)
CUADRO N° 18

CARACTERÍSTICAS DE LOS INSUMOS	FORMULACIÓN DEL JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO DE ACEITE ESENCIAL DE <i>Citrus limon</i>											
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	F ₁₀	F ₁₁	F ₁₂
Agua (transportador)	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g	750 g
Lauril Eter Sulfato de sodio (Surfactante, agente limpiador)	80 g	90 g	100 g	110 g	120 g	130 g	140 g	150 g	160 g	170 g	190 g	190 g
Cocoamidapropilbetaina (Surfactante,generador de espuma)	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g	25 g
Metil Parabeno (Agente de conservación)	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g
Etilen diamino tetracetico (Agente quelante)	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g
Queratina - NUTRILAN (proteína)	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g
Di Etanolamida (Cocoamida) (Aumenta la viscosidad)	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g
Glicerina (humectante universal)	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g
Aceite esencial de <i>Citrus limón</i> (p.a)	40 µL	80 µL	100 µL	120 µL	140 µL	160 µL	180 µL	200 µL	220 µL	240 µL	260 µL	280 µL
Tween – 80 (solvente orgánico)	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g
Acido Cítrico (Ajustador de pH, agente quelante)	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g
Etanol 96° (solvente orgánico)	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g
JABON LIQUIDO	JL ₁	JL ₂	JL ₃	JL ₄	JL ₅	JL ₆	JL ₇	JL ₈	JL ₉	JL ₁₀	JL ₁₁	JL ₁₂

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN: En el cuadro N° 18 se observa las diferentes formulaciones del jabón líquido antimicótico con diferentes grados de detergencia y con diferentes volúmenes de aceite esencial. Las cantidades establecidas en este cuadro fueron obtenidas de las pruebas preliminares que se realizaron y luego se salvaron las principales incompatibilidades se presento dichos insumos tales como el Metilparabeno y el mismo aceite esencial con el jabón base.

GRAFICO N° 08



FORMULACIÓN DEL JABÓN LÍQUIDO ANTIMICÓTICO DE ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon* (limón)

Fuente. Datos Experimentales

ANALISIS: En el gráfico N° 08 se muestran los porcentajes de cada uno de los insumos utilizados en la formulación del jabón líquido antimicótico de las cuales el agua ocupa la mayor parte, seguido del detergente Lauril éter sulfato de sodio con un 15% y del dietanolamina de coco con un 5% entre los más importantes de los insumos.

DICUSION: En mínima cantidad se encuentra el aceite esencial de *Citrus limón* en 0.02% característica principal del jabón líquido antimicótico.

**4.7.5 FORMULACION DEFINITIVA DEL JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO
CON EXTRACTO HEXANICO DE *Ophryosporus peruvianus*:**

CUADRO N° 19

INSUMOS	CANTIDAD	PORCENTAJE
AGUA	750 g	74.92
LAURIL ETER SULFATO DE SODIO (TEXPON N-70)	150 g	14.98
COCOAMIDA PROPIL BETAINE (DEHYTON)	25 g	2.49
METIL PARABENO SODICO	2 g	0.199
ETILEN DIAMINOTETRAACETICO (EDTA)	1 g	0.099
QUERATINA (NUTRILAM)	1g	0.099
AMIDA PROPIL BETAINE (COMPERLAN)	50 g	4.99
GLICERINA	10 g	0.99
EXTRACTO HEXANICO DE <i>Ophryosporus peruvianus</i>	1.1g	0.1099
DIMETIL SULFOXIDO (DMSO)	1 g	0.099
ETANOL 96 °	4g	0.399
ACIDO CITRICO	5 g	0.499
TOTAL	1000.1	100.%

Fuente: Datos Experimentales

ANALISIS DE RESULTADOS: En el cuadro N° 19 se observa la compatibilidad de insumos utilizados para la elaboración de la forma farmacéutica. Las incompatibilidades más resaltantes fueron que el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* hizo incompatibilidad con el jabón líquido base por lo cual se procedió a diluir con 1mL de dimetil sulfóxido así se pudo incorporar a la forma farmacéutica. Por otro lado metil parabeno no disuelve en agua así que se tuvo que salvar la incompatibilidad disolviendo con etanol de 96°.

4.7.6 ELABORACIÓN DEFINITIVA DEL JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO CON ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon* (limón)

CUADRO N° 20

INSUMOS	CANTIDAD	PORCENTAJE
AGUA	750 g	75.0
LAURIL ÉTER SULFATO DE SODIO (TEXPON N-70)	150 g	15.0
COCOAMIDA PROPIL BETAÍNA (DEHYTON)	25 g	2.50
METIL PARABENO SÓDICO	2 g	0.20
ETILEN DIAMINOTETRAACÉTICO (EDTA)	1 g	1.00
QUERATINA (NUTRILAM)	1g	1.00
AMIDA PROPIL BETAÍNA (COMPERLAN)	50 g	5.00
GLICERINA	10 g	1.00
ACEITE ESENCIAL DE <i>Citrus limón</i>	2g	0.20
TWEEN- 80	1 g	0.10
ETANOL 96 °	4g	0.40
ACIDO CÍTRICO	4 g	0.40
TOTAL	1000	100.%

Fuente: Datos Experimentales

PROCEDIMIENTO:

En un recipiente de plástico de 2 litros de capacidad vertemos 750 g de agua, al cual le agregamos Lauril éter sulfato de sodio (Texapón N-70) 150 gr. Luego proceda a revolver bien con la cuchara de metal en baño maría. Luego le agregamos el cocoamida propil betaina 25 gr (Dehyton) en frío. Cuando ya todo este disuelto en el agua le agregamos los 2 gramos de Metil Parabeno Sódico disuelto en 2mL de etanol, a continuación la queratina líquida 1 g y revolvemos muy bien cada uno de los componentes. En un segundo recipiente (Beakers) de plástico o vidrio graduados para líquidos de 50 c.c., mezclamos 1g de EDTA y esta mezcla se le adiciona al recipiente de plástico grande revolviendo muy bien. Luego le agregamos poco a poco el Comperlan (50g.) previamente pesados en la balanza digital revolviendo continuamente hasta que espese. Luego le agregamos la Glicerina (10g.) previamente pesado., y los 2000µL. de aceite esencial de *Citrus limón* (CL) disuelto en Tween – 80. La cual se le adiciona al recipiente de plástico

grande revolviendo muy bien. Revolvemos bien todo con la cuchara de metal y empacamos con la ayuda del embudo.

Recomendaciones: Cuando se vaya a mezclar el Coperlan, se debe echar poquito a poquito, hasta encontrar el grosor ideal del jabón líquido, inicialmente se trabaja con 50g., pero en ocasiones no son necesarios. Si el jabón líquido quedó muy grueso, se le echa 10g. de Propilenglicol para adelgazarlo. El cocoamida propil betaina es la que se encarga de producir la espuma junto con el Lauril sulfato de sodio.

CUADRO N° 21

4.7.7 RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DE LOS INSUMOS DEL JABON LIQUIDO BASE SOBRE CEPAS DE *Trychophyton mentagrophytes* ATCC 9533 Y *Trychophyton rubrum* ATCC 28188

INSUMOS	<i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533	<i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188
LAURIL ETER SULFATO DE SODIO (TEXPON N-70) (1)	++	++
COCOAMIDA PROPIL BETAINA (DEHYTON) (2)	++	++
METIL PARABENO SODICO (3)	+++	+++
GLICERINA (4)	--	--
QUERATINA (NUTRILAM) (5)	--	--
ETILEN DIAMINOTETRAACETICO (EDTA) (6)	--	--
AMIDA PROPIL BETAINA (COMPERLAN) (7)	--	--
DIMETIL SULFOXIDO (DMSO) (8)	--	--

FUENTE: Datos Experimentales

LEYENDA:

Fungicida: +++

Fungistático: ++

Sin efecto: -

4.7.8 RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON EXTRACTO HEXANICO SOBRE CEPAS DE *Trychophyton mentagrophytes* ATCC 9533

CUADRO N° 22

DIA 7

Concentración del extracto hexánico en el jabón líquido antimicótico mg/mL.	% del extracto hexánico en el jabón líquido antimicótico	Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533															Prom. Final
		Placa N° 01					Placa N° 02					Placa N° 03					
		Pozo1 (mm)	Pozo2 (mm)	Pozo3 (mm)	Pozo4 (mm)	Prom (mm)	Pozo1 (mm)	Pozo2 (mm)	Pozo3 (mm)	Pozo4 (mm)	Prom (mm)	Pozo1 (mm)	Pozo2 (mm)	Pozo3 (mm)	Pozo4 (mm)	Prom. (mm)	
10 mg/mL	0.01 %	22	19	18	18	19	20	17	22	20	20	18	17	21	20	19	19
20mg/mL	0.02%	19	20	20	21	20	20	18	20	16	19	23	20	21	25	22	20
30 mg/mL	0.03%	23	24	21	18	22	25	20	18	20	21	18	16	18	18	18	20
40 mg/mL	0.04%	18	18	19	19	19	22	18	16	18	19	20	20	15	16	18	19
50mg/mL	0.05 %	16	17	16	16	16	14	15	15	22	17	20	22	21	20	21	18
60mg/mL	0.06%	19	19	18	17	18	20	16	15	16	17	15	15	15	16	15	17
70 mg/mL	0.07 %	20	23	17	23	21	25	22	18	19	21	24	24	20	20	22	21
80 mg/mL	0.08 %	21	23	16	18	20	32	15	16	16	20	25	20	20	15	20	20
90 mg/mL	0.09 %	17	17	18	18	18	20	15	15	15	16	25	25	15	15	20	18
100 mg/mL	0.10 %	21	21	22	25	22	22	21	23	24	23	20	18	18	20	19	21
110 mg/mL	0.11%	20	20	22	21	21	18	20	20	20	20	21	16	19	27	21	21
120 mg/mL	0.12%	19	23	22	22	21	21	21	16	16	19	22	22	20	20	21	20

Rango de inhibición de 19 mm – 21 mm

Fuente: Ficha de recopilación de los diámetros de los halos de inhibición

4.7.9 RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL SOBRE CEPAS DE *Trychophyton mentagrophytes* ATCC

CUADRO Nº 23
DIA 7

Concentración del aceite esencial en el jabón líquido antimicótico $\mu\text{L}/\text{mL}$	% del aceite esencial en el jabón líquido antimicótico	Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533															Prom. Final.
		Placa Nº 01					Placa Nº 02					Placa Nº 03					
		Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom (mm)	
60 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.06 %	32	30	32	29	31	30	25	26	36	29	35	25	25	20	26	29
80 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.08 %	26	28	31	30	29	30	30	25	25	28	25	28	28	24	26	28
100 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.1 %	33	30	26	30	30	37	25	30	26	30	27	30	25	30	28	29
120 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.12 %	35	38	29	31	33	27	35	30	32	31	25	30	25	30	28	31
140 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.14 %	35	33	32	29	32	37	32	40	38	37	25	26	30	27	27	32
160 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.16%	33	33	36	38	35	43	42	36	32	31	30	25	20	22	24	30
180 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.18%	32	33	29	31	31	40	29	33	30	33	22	20	21	25	22	29
200 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.2%	29	38	35	30	33	41	33	31	32	34	30	37	31	22	30	32
220 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.22 %	33	31	30	30	31	32	30	35	35	33	28	24	31	25	27	30
240 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.24 %	27	35	35	32	32	35	30	35	35	34	35	30	25	27	29	32
260 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.26 %	29	29	35	31	31	32	35	25	32	31	20	29	22	26	24	29
280 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.28 %	32	32	35	34	33	36	31	25	26	30	20	22	25	26	23	29
Rango de inhibición de 27 mm – 32 mm																	

Fuente: Ficha de recopilación de los diámetros de los halos de inhibición

ANÁLISIS: En el cuadro N° 22 y 23 se encuentran registrados los diámetros de halos de inhibición obtenidos, con las concentraciones tanto del extracto hexánico como del aceite esencial para cepas de *Trychophyton mentagrophytes* ATCC 9533 la cual dieron resultados siguientes: el Rango de inhibición del extracto hexánico en el jabón líquido antimicótico fue de 19 mm – 21 mm. y para el jabón líquido antimicótico de aceite esencial fue de 27 mm – 30 mm

DISCUSIÓN: El cuadro N° 23 presentó mayor halo de inhibición con el aceite esencial de *Citrus limón* (limón) respecto al cuadro N° 22 con el extracto hexánico en la especie micótica de *Trychophyton mentagrophytes* ATCC 9533, tomándose en cuenta la concentración de **200 µL/mL** la cual se eligió como una concentración adecuada para la formulación del jabón líquido antimicótico y de **110 mg/mL** para el caso del extracto hexánico de *Ophyosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra).

Cuadro N° 24

	N	Media	Desv. típ.
Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton mentagrophytes</i> con extracto hexánico Placa N° 01	12	19,7500	1,81534
Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton mentagrophytes</i> con extracto hexánico Placa N° 02	12	19,3333	1,96946
Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton mentagrophytes</i> con extracto hexánico Placa N° 03	12	19,6667	2,01509
N válido (según lista)	12		

RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON HEXTRACTO HEXANICO SOBRE CEPAS DE *Trychophyton mentagrophytes* ATCC

Fuente: Datos experimentales

Cuadro N° 25

RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL SOBRE CEPAS DE *Trychophyton mentagrophytes* ATCC

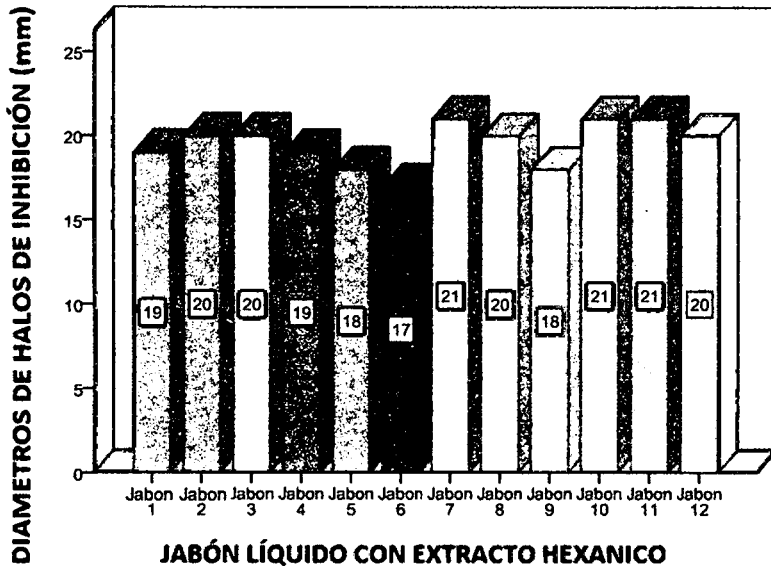
	N	Media	Desv. ttp.
Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton mentagrophytes</i> con aceite esencial N° 01	12	31,7500	1,60255
Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton mentagrophytes</i> con aceite esencial Placa N° 02	12	31,7500	2,52713
Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton mentagrophytes</i> con aceite esencial Placa N° 03	12	26,1667	2,48022
N válido (según lista)	12		

Fuente: Datos máximos y mínimos

ANÁLISIS: En el cuadro N° 24 y 25 se muestra la media y la desviación estándar del halo de inhibición en mm donde se observó que para la *Trychophyton mentagrophytes* la desviación estándar con extracto hexánico es de 2.01 en la placa N° 03. y de 2.52713 para el aceite esencial de *Citrus limón* (limón) en la placa N° 02

DISCUSIÓN: El cuadro N° 25 presentó mayor desviación típica de 2.52713 esto debido a que los halos de inhibición son mayores con el aceite esencial de *Citrus limón* (limón) que los halos de inhibición del cuadro N° 24 con el extracto hexánico de *Ophiosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra) para la especie micótica de *Trychophyton mentagrophytes*.

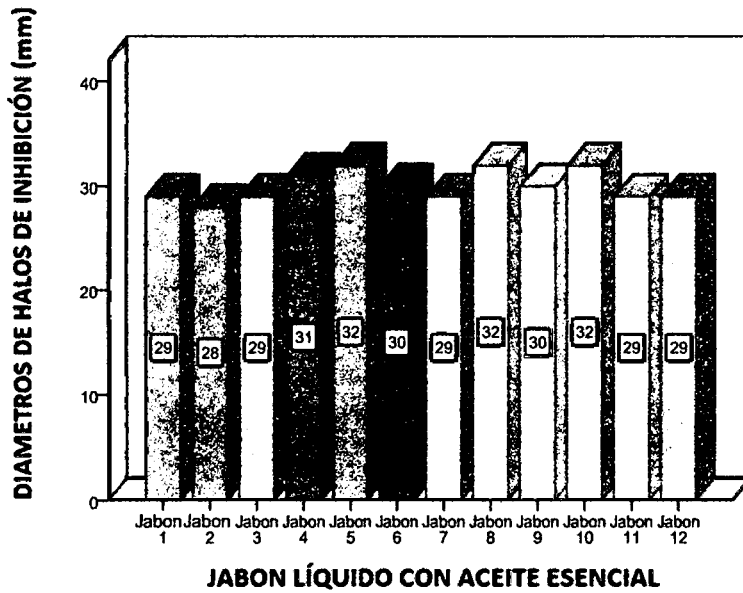
Grafico N° 09



DIÁMETROS DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm) EN CEPAS DE *Trychophyton mentagrophytes* CON JABÓN LIQUIDO DE EXTRACTO HEXÁNICO

Fuente: Datos experimentales

Grafico N° 10



DIÁMETROS DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm) EN CEPAS DE *Trychophyton mentagrophytes* CON JABÓN LIQUIDO DE ACEITE ESENCIAL

Fuente: Datos experimentales

ANÁLISIS: En el grafico 09 y 10 se observa los diferentes diámetros de halos de inhibición de los diferentes jabones líquidos antimicóticos llegándose a determinar el jabón N° 11 para *Trychophyton mentagrophytes* y jabón N° 8 para *Trychophyton rubrum* como jabones que mas halos de inhibición produjeron.

DISCUSIÓN: El grafico N° 10 presentan mayores diámetros de halos de inhibición con el aceite esencial de *Citrus limón* (limón).en comparación con el cuadro N° 29 que contiene extracto hexánico de *Ophyosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra).

**RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO
ANTIMICOTICO CON EXTRACTO HEXANICO SOBRE CEPAS DE *Trychophyton rubrum* ATCC 28188**

**CUADRO N° 26
DIA 7**

Concentración del extracto hexánico en el jabón líquido antimicótico mg/mL	% del extracto hexánico en el jabón líquido antimicótico	Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188															Prom. Final
		Placa N° 01					Placa N° 02					Placa N° 03					
		Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom (mm)	
10 mg/mL	0.01%	05	10	08	06	7	10	10	20	12	13	12	20	08	20	15	12
20 mg/mL	0.02%	15	15	10	10	13	10	12	10	08	10	12	12	15	12	13	12
30 mg/mL	0.03%	10	10	09	08	9	18	20	19	12	17	12	11	11	13	12	13
40 mg/mL	0.04%	15	10	10	09	11	15	10	10	10	11	15	15	16	16	16	13
50 mg/mL	0.05%	15	10	13	12	13	10	12	12	10	11	17	16	15	15	16	13
60 mg/mL	0.06%	13	08	08	09	10	13	13	12	10	12	15	12	10	12	12	11
70 mg/mL	0.07%	12	12	11	08	11	15	15	15	10	14	10	11	10	12	11	12
80 mg/mL	0.08%	12	13	10	12	12	15	12	12	10	12	15	16	12	10	13	12
90 mg/mL	0.09%	13	12	12	09	12	15	20	10	10	14	10	10	15	12	12	13
100 mg/mL	0.1%	11	10	11	10	11	12	12	13	12	12	10	12	10	12	11	11
110 mg/mL	0.11%	12	12	10	20	14	18	20	15	15	17	15	10	12	13	13	15
120 mg/mL	0.12%	08	08	10	10	9	15	10	08	05	10	16	10	15	08	10	10

Rango de inhibición de 10 mm – 15 mm

RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL SOBRE CEPAS DE *Trychophyton rubrum* ATCC 28188

**CUADRO N° 27
DIA 7**

Concentración del aceite esencial en el jabón líquido antimicótico $\mu\text{L}/\text{mL}$	% del aceite esencial en el jabón líquido antimicótico	Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188															Prom. Final.
		Placa N° 01					Placa N° 02					Placa N° 03					
		Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom (mm)	
60 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.06 %	25	24	24	21	24	25	18	22	23	22	35	25	25	20	26	24
80 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.08 %	26	25	22	22	24	20	25	24	30	25	30	28	25	25	27	25
100 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.1 %	25	25	20	23	23	26	27	24	17	24	33	24	25	25	27	25
120 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.12 %	18	18	16	18	18	17	22	17	16	18	35	35	30	26	32	22
140 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.14 %	25	25	27	23	25	29	25	25	16	24	30	35	30	30	31	26
160 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.16 %	23	22	22	21	22	24	12	20	18	19	36	30	33	35	34	25
180 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.18 %	24	21	26	15	22	18	14	24	17	18	23	35	30	30	30	23
200 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.2 %	18	25	20	18	20	27	27	25	31	28	32	30	30	28	30	26
220 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.22 %	22	19	21	23	21	19	24	22	23	22	28	30	30	28	29	24
240 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.24 %	23	22	16	15	19	15	16	15	22	17	38	26	35	30	32	23
260 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.26 %	19	18	18	24	20	17	20	25	19	20	30	25	25	30	28	23
280 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0.28 %	25	26	26	23	25	30	20	21	23	24	25	23	26	26	25	25

Rango de inhibición de 22 mm – 26 mm

Fuente: Ficha de recopilación de los diámetros de los halos de inhibición (ANEXO 11)

Análisis: En el cuadro 26 y 27 se encuentran registrados los diámetros de halos de inhibición obtenidas, con las concentraciones tanto del extracto hexánico como del aceite esencial para cepas de *Trychophyton rubrum* ATCC 28188 la cual dieron resultado lo siguiente: el Rango de inhibición del extracto hexánico en el jabón líquido antimicótico es de 10 mm – 15 mm. y para el jabón líquido antimicótico de aceite esencial fue de 22 mm – 26 mm

Discusión: Las Concentraciones del aceite esencial en el jabón líquido antimicótico presenta mayor rango de inhibición frente a las concentraciones del extracto hexánico en placas sembradas con la misma especie micótica.

Cuadro N° 28

RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON EXTRACTO HEXANICO SOBRE CEPAS DE *Trychophyton rubrum* ATCC 28188

	N	Media	Desv. típ.
Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton rubrum</i> con extracto hexánico Placa N° 01	12	11,0000	2,00000
Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton rubrum</i> con extracto hexánico Placa N° 02	12	12,7500	2,37888
Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton rubrum</i> con extracto hexánico Placa N° 03	12	12,8333	1,94625
N válido (según lista)	12		

Cuadro N° 29

RESULTADOS DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL JABON LIQUIDO ANTIMICOTICO CON ACEITE ESENCIAL SOBRE CEPAS DE *Trychophyton rubrum* ATCC 28188

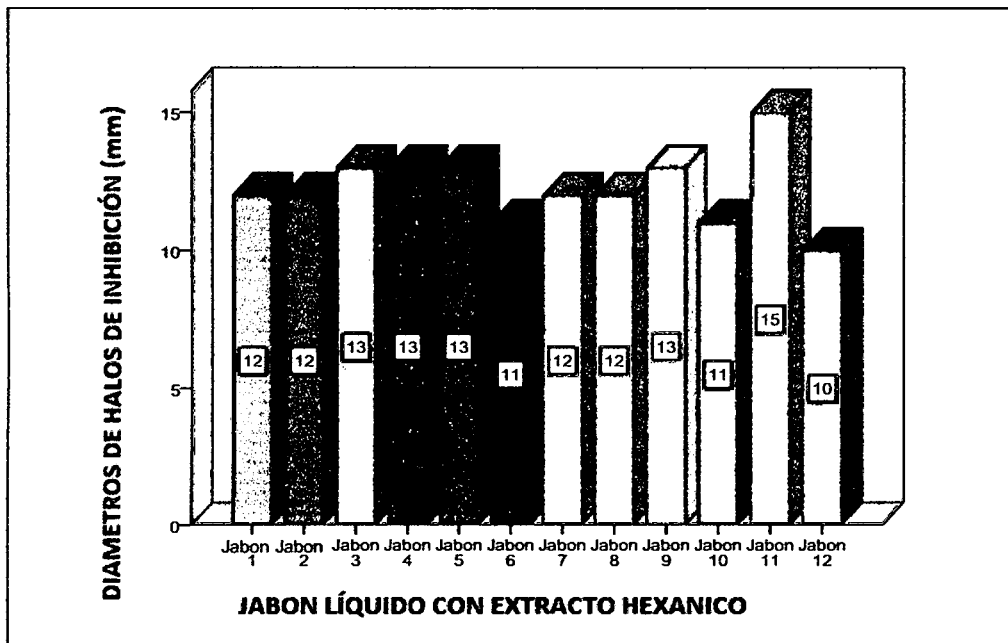
	N	Media	Desv. típ.
Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton rubrum</i> con aceite esencial Placa N° 01	12	21,9167	2,35327
Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton rubrum</i> con aceite esencial Placa N° 02	12	21,7500	3,38781
Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton rubrum</i> con aceite esencial Placa N° 03	12	29,2500	2,73446
N válido (según lista)	12		

Fuente: Datos Experimentales

ANÁLISIS: En el cuadro 28 y 29 se muestra la media y la desviación estándar del halo de inhibición en mm en cepas de *Trychophyton rubrum* donde se observa que para la *Trychophyton rubrum* la desviación estándar es de 2.01 para la placa N° 03 con el extracto hexánico y para de 2.52 para placa N° 02. Para el aceite esencial de *Citrus limón* (limón)

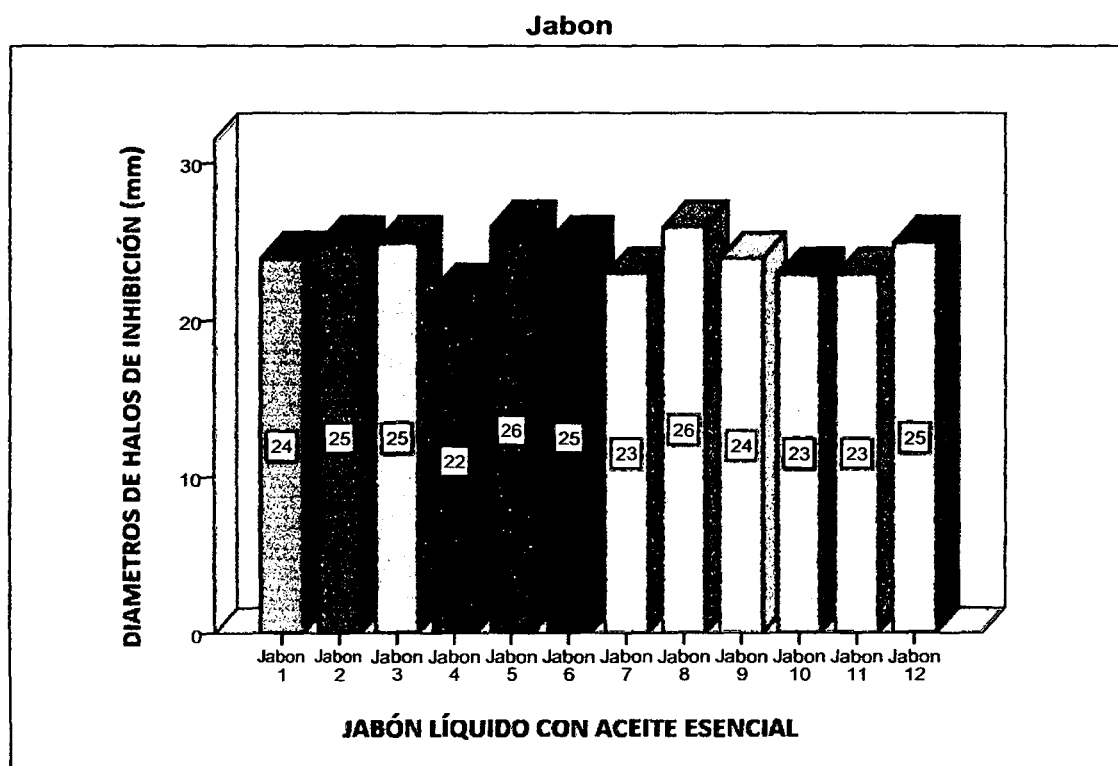
DISCUSIÓN: El cuadro N° 28 presentó mayor desviación típica de 3.38781 en la placa N° 02 para *Trychophyton rubrum*, esto debido a que los halos de inhibición son mayores para el aceite esencial de *Citrus limón* (limón) que los del cuadro N° 29 con extracto hexánico de *Ophyosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra)

Grafico N° 11



DIÁMETROS DEL HALO DE INHIBICIÓN EN (mm) EN CEPAS DE *trychophyton rubrum* CON EXTRACTO HEXÁNICO

Grafico N° 12



DIÁMETROS DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm) EN CEPAS DE *Trychophyton rubrum* CON ACEITE ESENCIAL

Fuente. Datos Experimentales

ANÁLISIS: En el gráfico 11 y 12 se observa los diferentes diámetros de halos de inhibición de los diferentes jabones líquidos antimicóticos llegándose a determinar el jabón N° 11 para *trychophyton mentagrophytes* y jabón N° 8 para *Trychophyton rubrum* como muestra que presentó mayor halos de inhibición.

DISCUSIÓN: El gráfico N° 12 presentó mayores diámetros de halos de inhibición con el aceite esencial de *Citrus limón* (limón).en comparación con el cuadro N° 11 que contiene extracto hexánico de *Ophyosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra).

4.7.10 DEL CONTROL DE CALIDAD Y ESTABILIDAD DE LOS JABONES LÍQUIDOS ANTIMICÓTICOS ELABORADOS

4.7.10.1 RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LOS JABONES LÍQUIDOS ANTIMICÓTICOS ELABORADOS

CUADRO N° 30

CONTROL FISICOQUIMICAS DE LOS JABONES LIQUIDOS			
CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS	JABON LIQUIDO DE <i>Ophryosporus peruvianus</i>	JABON LIQUIDO DE <i>Citrus limón</i>	
PH.	6.80 - 7.10	6.0 – 7.0	
Densidad	1.01 gr/cc	1.01gr/cc	
Viscosidad	1200 - 1500 cps	1200 - 1500 cps	
CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL JABON LIQUIDO DE <i>Ophryosporus peruvianus</i>			
MICROORGANISMOS	DILUCION 10⁻¹	DILUCION 10⁻²	DILUCION 10⁻³
(RMAMV)	Ausente	Ausente	Ausente
(RL)	<2x10 ² ufc/g	Ausente	Ausente
(RH)	Ausente	Ausente	Ausente
CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL JABON LIQUIDO DE <i>Citrus limón</i>			
MICROORGANISMOS	DILUCION 10⁻¹	DILUCION 10⁻²	DILUCION 10⁻³
(RMAMV)	Ausente	Ausente	Ausente
(RL)	Ausente	Ausente	Ausente
(RH)	Ausente	Ausente	Ausente

Fuente: Datos Experimentales

LEYENDA:

- (RMAMV) : Recuento de Microorganismos Aerobios Mesófilos Viables
- (RL) : Recuento de Levaduras
- (RH) : Recuento de Hongos
- <2x10² ufc/g : significa negativo

4.7.10.2 RESULTADOS DE LA ESTABILIDAD DE LOS JABONES LÍQUIDOS ANTIMICÓTICOS ELABORADOS

CUADRO Nº 31

ENSAYOS DE ESTABILIDAD								
Jabón líquido de <i>ophryosporus peruvianus</i>	Temperatura			Humedad			Luz	
	-5 °C	25 °C	40 °C	35%	45%	64%	Natural	Artificial
	No Estable	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable
Jabón líquido de <i>Citrus limón</i>	No Estable	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable
ENSAYOS DE ESTABILIDAD								
Jabón líquido de <i>ophryosporus peruvianus</i>	CONTAMINANTES EXTERNOS MAC ROSCOPICOS			CAMBIO DE COLORACIÓN (ORGANOLEPTICO)			PRESENCIA DE MICROORGANISMOS	
	No presentes			No presentes			No presentes	
Jabón líquido de <i>Citrus limón</i>	No presentes			Ligero cambio de coloración a color pardo			No presentes	

Fuente: Datos Experimentales

4.8 DE LAS PRUEBAS TOXICOLÓGICAS

4.8.1 IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL CON JABON LÍQUIDO ANTIMICÓTICO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon* (limón)

Luego de realizar la prueba en los diferentes concentraciones de los jabones liquido antimicótico se estableció el jabón liquido antimicótico que mas efecto antimicótico tienen en las especies estudiadas y se procedió a realizar pruebas en ratones *Mus musculus* CEPA Balb /CNPB. Se procedió a verificar la presencia o ausencia de eritema y edema según se indica en el método (24 y 48 horas respectivamente)

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN RATONES *Mus musculus* CEPA Balb/c /CNPB SIN ABRACION

CUADRO N° 32

Ratón	24 horas		Ratón	48 horas	
	Eritema	Edema		Eritema	Edema
1°	0	0	1	0	0
2°	0	0	2	0	0
3°	0	0	3	0	0
4°	0	0	4	0	0
5°	0	0	5	0	0
6°	0	0	6	0	0
7°	0	0	7	0	0
8°	1	0	8	0	0
9°	1	0	9	0	0
10°	1	0	10	1	0
11°	1	0	11	1	0
12°	1	0	12	1	0
promedio	0.42	0	promedio	0.25	0

Fuente: Elaboración propia

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN RATONES *Mus musculus* CEPA Balb/c /CNPB CON ABRACION

CUADRO N° 33

Ratón	24 horas		48 horas		
	Eritema	Edema	Ratón	Eritema	Edema
1°	1	0	1	1	0
2°	1	0	2	1	0
3°	1	0	3	1	0
4°	1	0	4	1	0
5°	1	0	5	1	0
6°	1	0	6	1	0
7°	1	0	7	1	0
8°	1	1	8	1	0
9°	1	1	9	1	0
10°	1	1	10	1	0
11°	1	1	11	1	1
12°	1	1	12	1	1
promedio	1	0,42	promedio	1	0,17

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Se procedió al cálculo de las medias para cada grupo y para cada tipo de efecto como se pueden observar en los cuadros de irritación primaria del jabón líquido con aceite esencial de *Citrus limon* sin abrasión y con abrasión de las cuales se obtuvo los valores para cada tipo de efecto, estos valores luego se suman y se divide entre cuatro que es una constante para este ensayo de la cual se obtiene el valor de $0.815 \approx 1$

De acuerdo al resultado obtenido se puede afirmar que el jabón líquido antimicrobiano a base de aceite esencial de *Citrus limom* (limón) es una SUSTANCIA IRRITANTE DÉBIL

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN RATONES *Mus musculus* CEPA Balb/c /CNPB SIN ABRACION

CUADRO N° 34

GRADO DE ERITEMA

DIAS	Sin eritema		Eritema ligero, apenas visible		TOTAL	
	N° de ratones	%	N° de ratones	%	N° total de ratones	%
DIA1	9	75,0%	3	25,0%	12	100.0%
DIA2	12	100,0%	0	,0%	12	100.0%

GRADO DE EDEMA

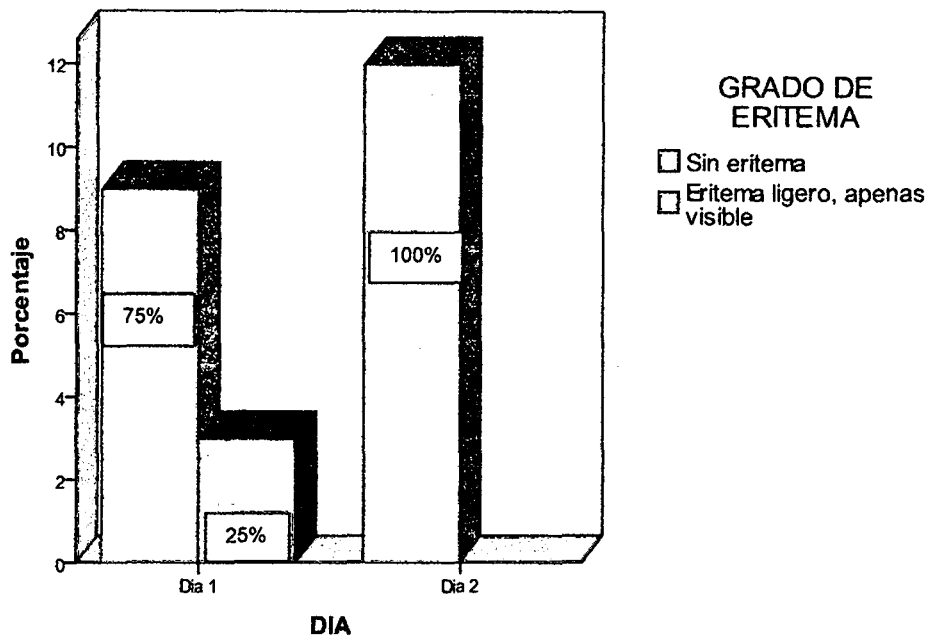
DIAS	Sin edema		Edema ligero, apenas perceptible		TOTAL	
	N° de ratones	%	N° de ratones	%	N° total de ratones	%
DIA1	12	100,0%	0	,0%	12	100.0%
DIA2	12	100,0%	0	,0%	12	100,0%

Fuente: Datos Experimentales

ANÁLISIS DE RESULTADOS

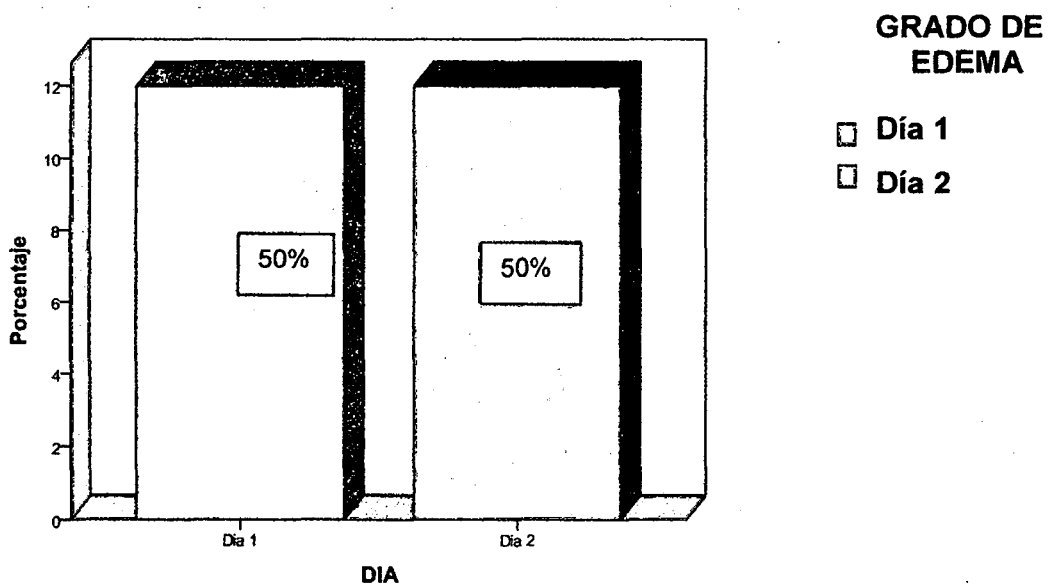
En el cuadro N° 34 se observa que el 75% de los ratones del día 1 no presentaron eritema, sin embargo si el 25 % presentaron un eritema ligero, apenas visible; en el día 2 no presentaron eritema ni edema.

Grafico N° 13



PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION CON ABRACION

Grafico N° 14



PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION SIN ABRACION

Fuente: Datos Experimentales

ANÁLISIS: En el grafico N° 13 y 14 se observa que en el día uno, 9 ratones, que representan el 75% no presentan eritema, pero si en 3 ratones que representan el 25% presentan un eritema apenas visible. En cuanto al grado de edema con abrasión se observó que la mitad de los animales de experimentación presentan en un 50% de edema en la piel por causa de la abrasión.

DISCUSIÓN Los animales de experimentación presentaron un eritema apenas visible lo que no significo daño en la piel de los animales de experimentación. En cuanto al grado de edema con abrasión presentaron en un 50% de los animales de experimentación llegando a recuperar en su totalidad después del ensayo.

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN RATONES *Mus musculus* CEPA Balb/c /CNPB CON ABRACION

**CUADRO N° 35
GRADO DE ERITEMA**

DIAS	Sin eritema		Eritema ligero, apenas visible		TOTAL	
	Nº de ratones	%	Nº de ratones	%	Nº total de ratones	%
DIA1	0	,0%	12	100,0%	12	100.0%
DIA2	6	50,0%	6	50,0%	12	100.0%

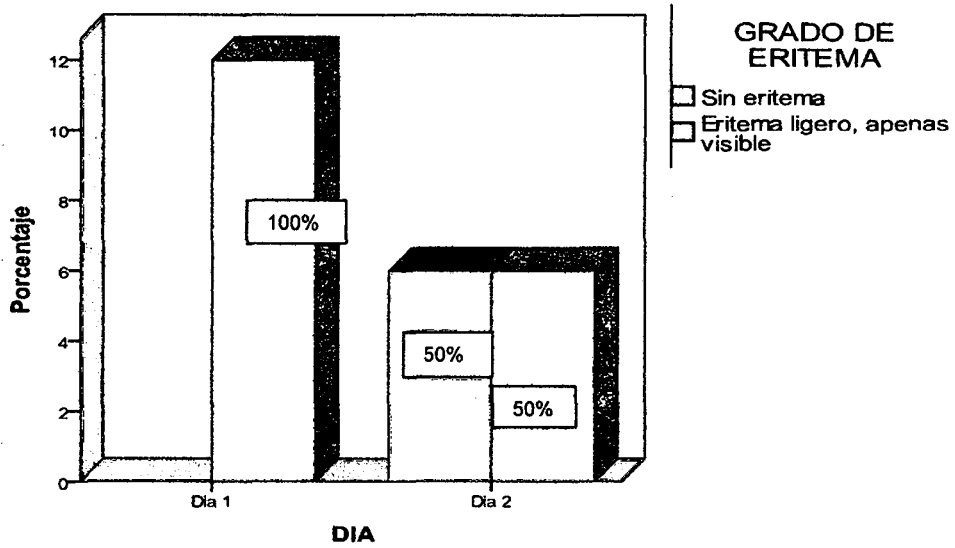
GRADO DE EDEMA						
DIAS	Sin edema		Edema ligero, apenas perceptible		TOTAL	
	Nº de ratones	%	Nº de ratones	%	Nº total de ratones	%
DIA1	5	41,7%	7	58,3%	12	100.0%
DIA2	10	83,3%	2	16,7%	12	100,0%

Fuente: datos Experimentales

ANÁLISIS DE RESULTADOS

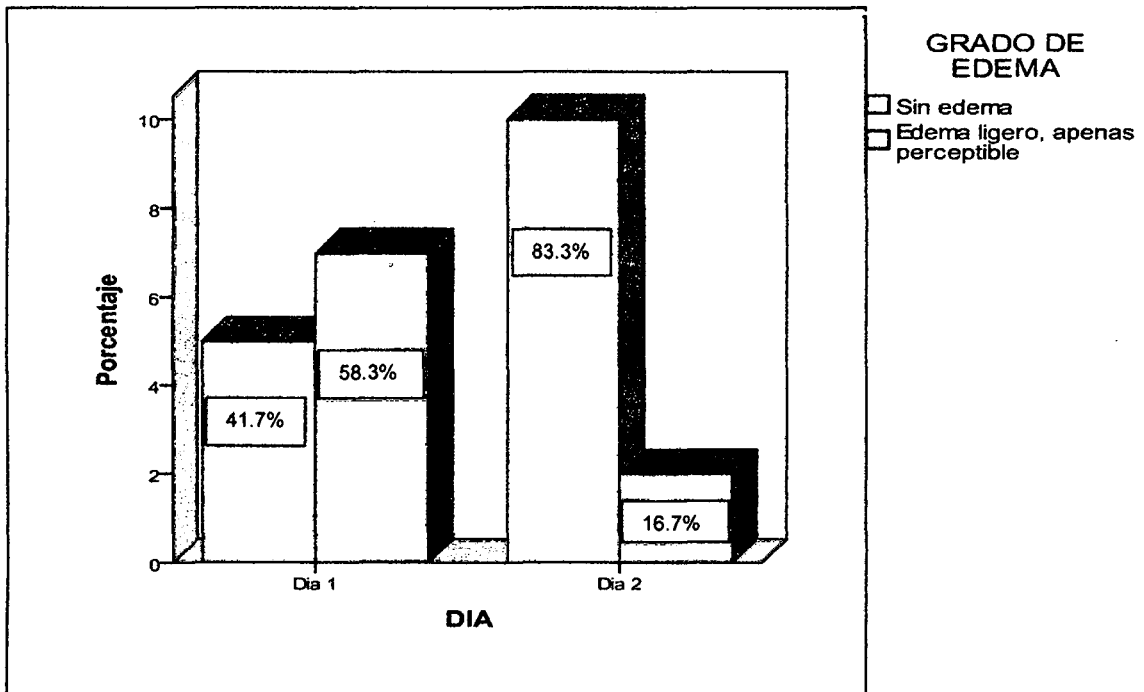
En el cuadro N° 35 se observa que el 100% de los ratones del día 1 presentaron eritema ligero, apenas visible y en el día 2 el 50%, no presentaron un eritema pero si un eritema ligero, apenas perceptible; en cuanto al edema el día 1 el 41.7% de los ratones no presentaron un edema pero si el 58.3% presenta un edema ligero, apenas visible, en cuanto al día 2 el 83.3% no presentaron edema pero si el 16.7%.presentaron un edema ligero, apenas perceptible.

GRAFICO Nº 15



RESULTADOS DE LA PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION CON ABRACION

GRAFICO Nº 16



RESULTADOS DE LA PRUEBA DE IRRITACION PRIMARIA DE LA PIEL EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION CON ABRACION

Fuente: Datos Experimentales

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN: En el grafico N° 15 y 16 se muestran la prueba de irritación primaria en donde el primer día el 100% de los animales de experimentación no presentaron eritema alguno en el segundo día, presentaron un 50% con un eritema ligero apenas visible y un 50% no presentaron eritema alguno. En cuanto al edema en el cuadro 16 se observó que el día 2 el 83.3 de los ratones de experimentación llegan a recuperarse de la abrasión que sufrieron en la piel.

4.8.2 SENSIBILIZACION CUTANEA DEL JABON LIQUIDO CON EL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limón* (limón)

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SENSIBILIZACION CUTANEA DEL JABON LIQUIDO CON ACITE ESENCIAL DE *Citrus limón* EN RATONES *Mus musculus* CEPA Balb/c /CNPB

CUADRO N° 36

ERITEMA				Nº	%
Dosis	Primera aplicación	Día1	Eritema ligero, apenas perceptible	12	100.0%
	Dosis de estimulación	Día2	Eritema ligero, apenas perceptible	12	100.0%
	Dosis de sensibilización	Después de 14 días	Eritema ligero, apenas perceptible	12	100.0%
EDEMA				Nº	%
Dosis	Primera aplicación	Día1	Sin edema	12	100.0%
	Dosis de estimulación	Día2	Sin edema	12	100.0%
	Dosis de sensibilización	Después de 14 días	Sin edema	12	100.0%

Fuente: datos experimentales

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Después de realizar la prueba se observó que el jabón líquido con aceite esencial de *Citrus limon* es UNA SUSTANCIA SENSIBILIZANTE DEBIL que puede causar un ligero eritema más no un edema.

4.8.3 FOTOTOXICIDAD Y FOTOALERGICIDAD DEL JABON LIQUIDO CON ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limón* (limón)

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE FOTOTOXICIDAD Y FOTOALERGICIDAD DEL JABON LIQUIDO CON ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limón* EN RATONES *Mus musculus* CEPA Balb/c /CNPB

CUADRO Nº 37

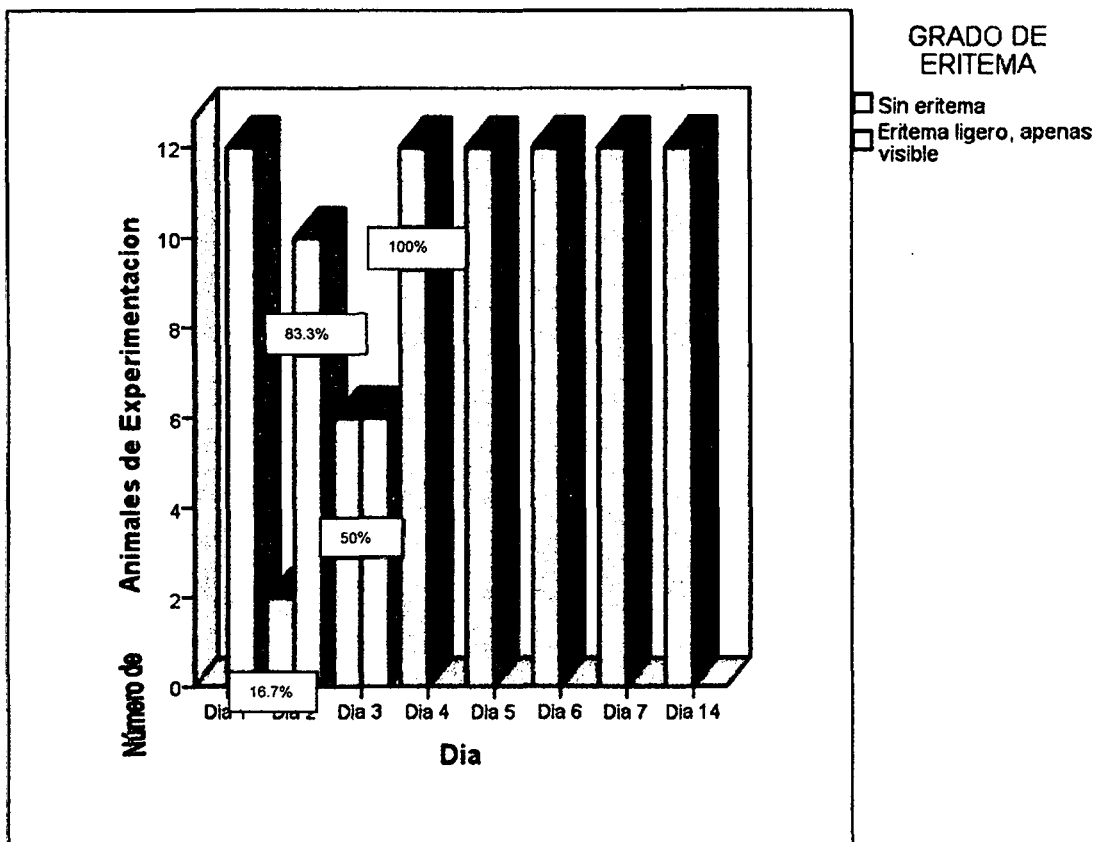
		GRADO DE ERITEMA						Total	
		Sin eritema		Eritema ligero, apenas visible		Eritema			
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Día	Día1	0	,0 %	12	100,0%	0	,0 %	12	100,0%
	Día2	2	16.7%	10	83.3%	0	,0 %	12	100,0%
	Día3	6	50%	6	50%	0	,0 %	12	100,0%
	Día4	12	100.0%	0	,0 %	0	,0 %	12	100,0%
	Da5	12	100,0%	0	,0 %	0	,0 %	12	100,0%
	Día6	12	100,0%	0	,0 %	0	,0 %	12	100,0%
	Día7	12	100,0%	0	,0 %	0	,0 %	12	100,0%
	Día 14	12	100,0%	0	,0 %	0	,0 %	12	100,0%
		GRADO DE EDEMA				Total			
		Sin edema		Edema ligero, apenas visible					
		Nº	%	Nº	%	Nº	%		
Día	Día 1	12	100.0%	0	,0%	12	100,0%		
	Día2	10	83.3%	2	16,7%	12	100,0%		
	Día3	12	100.0%	0	,0%	12	100,0%		
	Día4	11	91.7%	1	8.3%	12	100,0%		
	Día5	6	50.0%	6	50%%	12	100,0%		
	Día6	6	50.0%	6	50,0%	12	100,0%		
	Día7	12	100.0%	0	,0%	12	100,0%		
	Día 14	12	100.0%	0	,0%	12	100,0%		

Fuente: Datos Experimentales

ANÁLISIS DE RESULTADOS

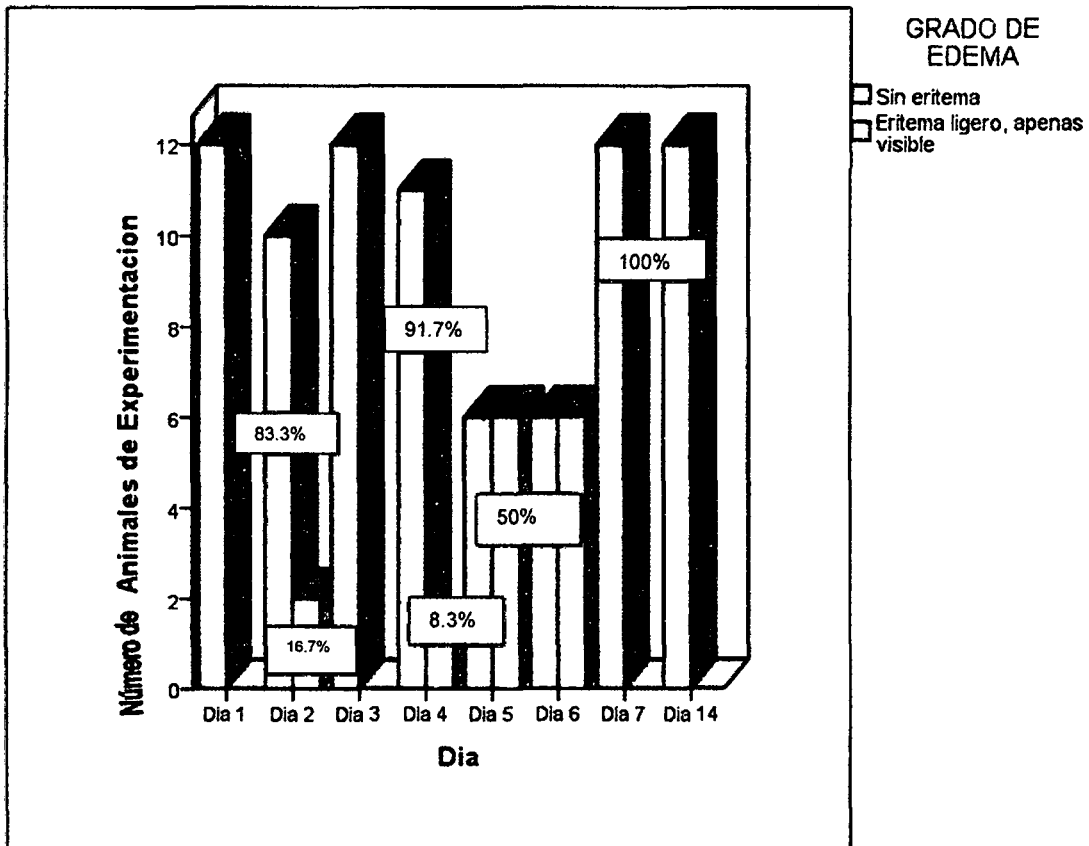
El jabón líquido con aceite esencial de *Citrus limón* por los resultados obtenidos en el día 1 se considera como una sustancia FOTOTOXICA y FOTOALERGICA DEBIL debido a que el 100. % de los animales de experimentación presentaron un eritema ligero, apenas visible; el día 2 se observó en un 83.3%, el día 3 en un 50% y en los días 4, 5,6 ,7 y 14 no se observó eritemas. En cuanto al edema se observó después del día 4 en un 8.3%, el día 5 y 6 en un 50% y el día 7 no se observó edema alguno debido a que el aceite esencial es de naturaleza volátil.

Grafico N° 17



Porcentaje de eritema en animales de experimentacion
Fuente: Datos Experimentales

Grafico N° 18



Porcentaje de edema en animales de experimentación
 Fuente: Datos Experimentales

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN: En el grafico N° 17 y 18 se observó el día 2 el 16,7 no presentan eritema alguna pero si el 83.3 % si presenta un eritema apenas visible mientras que el día 3 presentan por igual en un 50% sin eritema y un eritema apenas visible. En cuanto para el edema presentan a partir del día 4 con un 8.3 % con un edema apenas visible y un 91.7 % sin eritema alguna. Para el día 5 y 6 presentaron en igual número de animales de experimentación con un edema apenas visible y sin eritema.

CUADRO N° 38

RESULTADOS DE JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO EN PACIENTES CON DERMATOFITOSIS QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL DEL CUSCO

25 Pacientes con diagnostico de dermatofitosis	Condición del paciente después del tratamiento con jabón liquido antimicótico de extracto hexánico de <i>Ophyosporus peruvianus</i> (Cjafra - cjafra) al 0.11%		
	Curado	Mejorado	Sin efecto
Tinea pedis (pie de atleta) (T.m) (T.r)	0	2	1
Tinea pedis (pie de atleta descamativa) (T.m) (T.r)	2	9	0
Tinea unguium (onicomicosis) (T.m) (T.r)	0	1	8
Tinea cruris (comezón de jinete) (T.m) (T.r)	0	1	1
Tinea corporis (T.m)	0	0	0
Tinea capitis	0	0	0
Tinea barbae (T.m) (T.r)	0	0	0

Fuente: Datos Experimentales

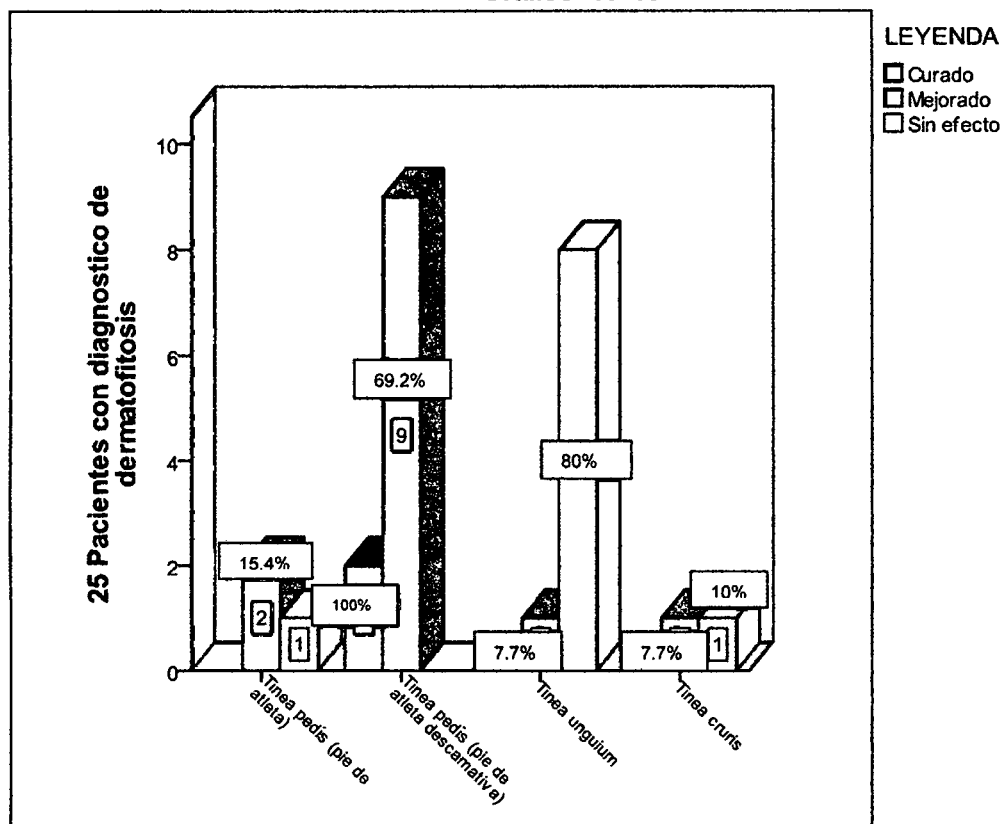
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN: En el cuadro N° 38 se observa que 9 de los pacientes con tiña pedis (pie de atleta descamativa) mejoraron su estado de afección dérmica y solo en 2 pacientes se vio e indicaron que se curaron definitivamente, mientras que 8 pacientes con Tinea unguium (onicomicosis) no presentaron efecto antimicótico con el jabón liquido con extracto hexánico de *Ophyosporus peruvianus* (Cjafra cjafra) al 0.11% y solo uno presentó mejora en cuanto a su estado inicial de afección dérmica.

CUADRO Nº 39

	Condición del paciente después del tratamiento con jabón líquido antimicótico de extracto hexánico de <i>Ophyosporus peruvianus</i> (Cjafra - cjafra) al 0.11%						Total	
	Curado		Mejorado		Sin efecto			
	N	%	N	%	N	%	N	%
Tinea pedis (pie de atleta)	0	,0%	2	15,4%	1	10,0%	3	12,0%
Tinea pedis (pie de atleta descamativa)	2	100,0%	9	69,2%	0	,0%	11	44,0%
Tinea unguium	0	,0%	1	7,7%	8	80,0%	9	36,0%
Tinea cruris	0	,0%	1	7,7%	1	10,0%	2	8,0%
Total	2	100,0%	13	100,0%	10	100,0%	25	100,0%

Fuente: Datos Experimentales

Gráfico Nº 19



Condición del paciente después del tratamiento con jabon liquido antimicótico de extracto hexanico de *Ophyosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) al 0.11%

Fuente: Datos Experimentales

ANÁLISIS: En el gráfico N° 19 se observa que el 69.2% de los pacientes que recibieron tratamiento para Tinea pedis (pie de atleta descamativa) con jabón líquido antimicótico de extracto hexánico de *Ophyosporus peruvianus* al 0.11% mejoraron su afección dérmica en comparación del inicio del tratamiento. En cuanto a Tinea pedis (pie de atleta), solo 2 pacientes que representa el 100% tratados con dicho jabón antimicótico se curaron definitivamente y el 80 % de los pacientes con Tinea unguium no presentaron ningún efecto con dicho tratamiento

DISCUSION: En el gráfico 19 se observa los resultados del tratamiento con jabón líquido con extracto hexánico para tinea pedis (pie de atleta descamativa) el cual se vió que mejoraron su afección dérmica con el tratamiento antimicótico, sin embargo en comparación con la tinea unguium 9 pacientes que representa el 80% indican que no presentaron efecto alguno con el tratamiento antimicótico. Esto se debe a que el tratamiento para este tipo de afección es largo y riguroso.

CUADRO N° 40
TRATAMIENTO CON JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO CON ACEITE ESENCIAL DE
CITRUS LIMÓN AL 0.2%

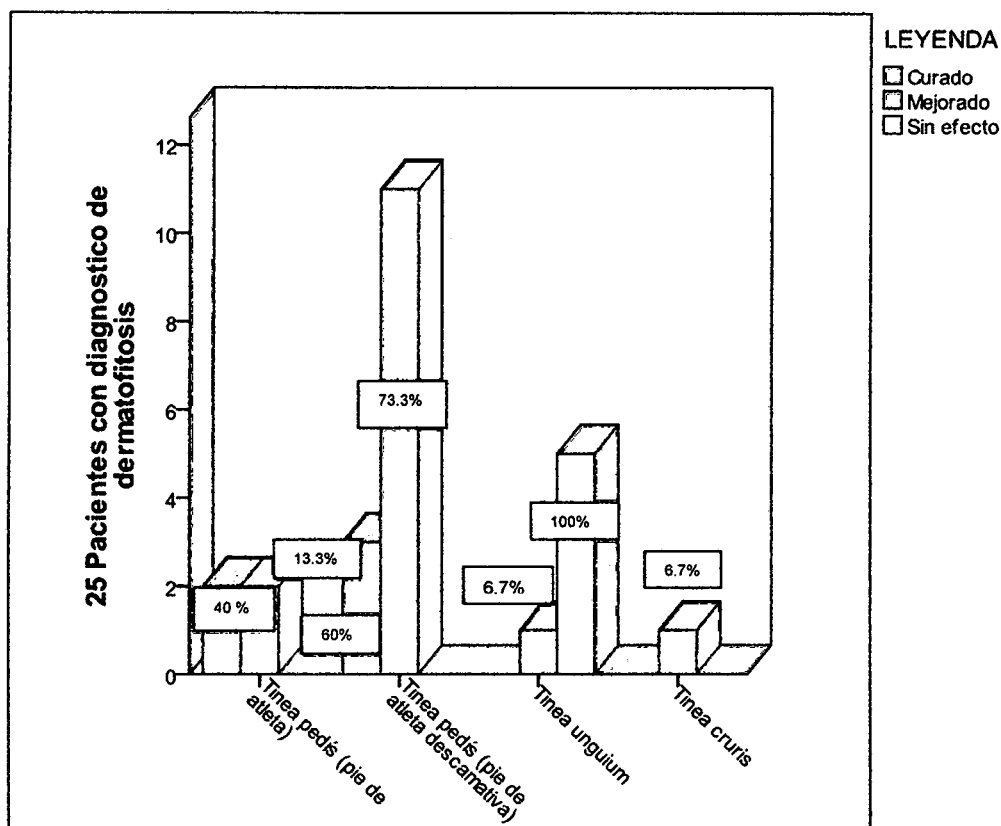
25 Pacientes con diagnóstico de dermatofitosis	Condición del paciente después del tratamiento con jabón líquido antimicótico con aceite esencial de <i>Citrus limon</i> (limón) al 0.2%						Total	
	Curado		Mejorado		Sin efecto			
	N	%	N	%	N	%	N	%
Tinea pedís (pie de atleta)	2	40,0%	2	13,3%	0	,0%	4	16,0%
Tinea pedís (pie de atleta descamativa)	3	60,0%	11	73,3%	0	,0%	14	56,0%
Tinea unguium	0	,0%	1	6,7%	5	100,0%	6	24,0%
Tinea cruris	0	,0%	1	6,7%	0	,0%	1	4,0%
Total	5	100,0%	15	100,0%	5	100,0%	25	100,0%

Fuente: Datos Experimentales

ANÁLISIS: En el cuadro N° 40 se observa que 11 de los pacientes con tinea pedís (pie de atleta descamativa) disminuyeron su estado de afección dérmica y solo 3 pacientes indicaron que se curaron, mientras que 2 pacientes con Tinea pedís (pie de atleta) indicaron que se curaron. Por otro lado 5 pacientes con Tinea unguium (onicomicosis) no presentaron efecto con el jabón líquido antimicótico de aceite esencial de *Citrus limon* (limón) al 0.2% y solo uno presentó disminución de su afección dérmica. En cuanto a la Tinea cruris solo uno presento disminución de su afección dérmica.

DISCUSIÓN: En el cuadro N° 40 se observa que 11 de los pacientes con tinea pedís (pie de atleta descamativa) mejoraron su estado de afección dérmica en un 73,3% más que con el tratamiento del jabón líquido antimicótico a base de extracto hexánico propuesto en el cuadro N° 40.

Grafico N° 20



Condición del paciente después del tratamiento con jabon liquido antimicótico del aceite esencial de *Citrus limon* al 0.2%

Fuente: Datos Experimentales

ANÁLISIS: En el grafico N° 20 se observa que el 73.3% que representa 11 pacientes con Tinea pedís (pie de atleta descamativa) disminuyeron su afección dérmica con el tratamiento del jabón líquido antimicótico de aceite esencia de *Citrus limón*. El 60% que representa 3 pacientes llegaron curarse, mientras que para Tinea pedís (pie de atleta) el 40% llegaron a curarse y el 13.3% disminuyeron su estado inicial de afección dérmica, en cuanto a la Tinea unguium (onicomicosis) y Tinea cruris disminuyeron su afección dérmica en un 6.7%.

DISCUSIÓN: En grafico N° 20 se observa que el 60% con Tinea pedís (pie de atleta descamativa) se curaron con el jabón líquido antimicótico de aceite esencial de *Citrus limón* y lo cual también corrobora con las pruebas In vitro que se realizó al inicio de la investigación.

CUADRO N° 41

TRATAMIENTO CON CLOTRIMAZOL AL 1% CREMA

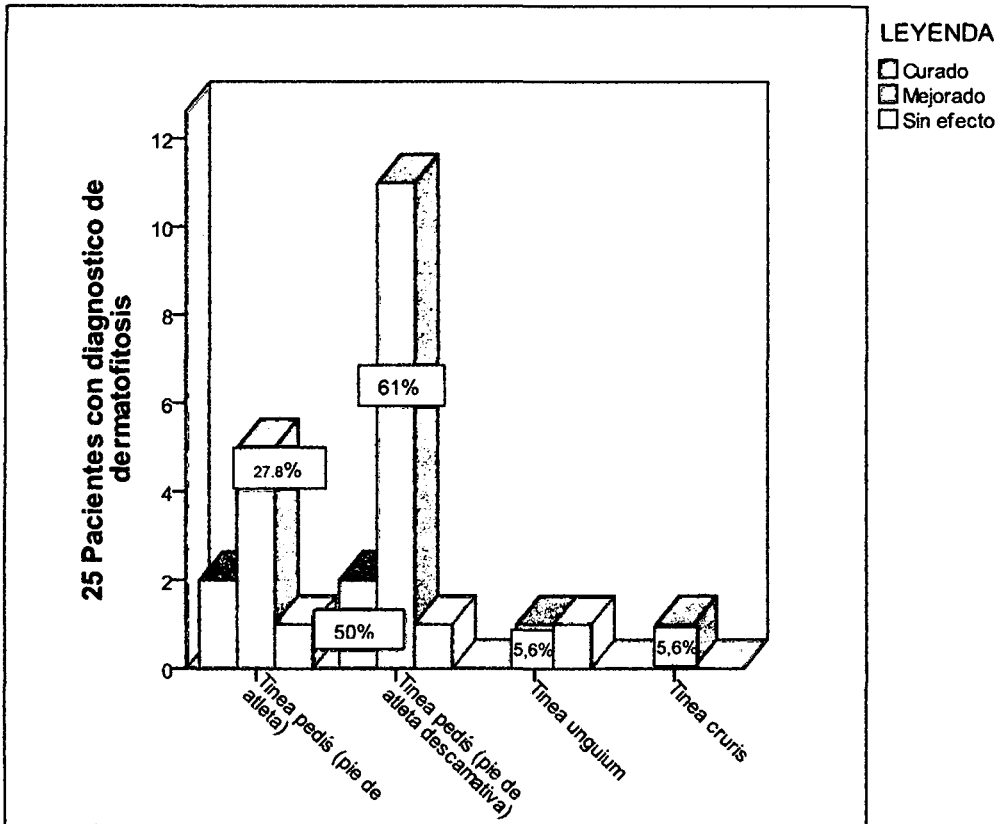
25 Pacientes con diagnóstico de dermatofitosis	Condición del paciente después del tratamiento con Clotrimazol al 1% crema						Total	
	Curado		Mejorado		Sin efecto			
	N	%	N	%	N	%	N	%
Tinea pedis (pie de atleta)	2	50,0%	5	27,8%	1	33,3%	8	32,0%
Tinea pedis (pie de atleta descamativa)	2	50,0%	11	61,1%	1	33,3%	14	56,0%
Tinea unguium	0	,0%	1	5,6%	1	33,3%	2	8,0%
Tinea cruris	0	,0%	1	5,6%	0	,0%	1	4,0%
Total	4	100,0%	18	100,0%	3	100,0%	25	100,0%

Fuente: Datos Experimentales

ANÁLISIS: En el cuadro N° 41 se observa que 11 pacientes con tiña pedis (pie de atleta descamativa) disminuyeron su afección micótica (mejorado) y 2 pacientes indicaron que se curaron definitivamente, mientras que en 2 pacientes con Tinea pedis (pie de atleta) indican que se curaron y 5 pacientes presentaron disminución de su afección dérmica (mejorado). En cuanto a la Tinea unguium (onicomicosis) y Tinea cruris solo un paciente indicó disminución de su afección dérmica

DISCUSIÓN: En el cuadro N° 41 se observa que 22 pacientes con tiña pedis (pie de atleta descamativa) y tinea pedis (pie de atleta) mejoraron su afección dérmica.

Grafico N° 21



Condición del paciente después del tratamiento con jabón líquido antimicótico del Clotrimazol al 1% crema

Fuente: Datos Experimentales

ANÁLISIS En el gráfico N° 21 se observa que 11 pacientes que representan 61% con tiña pedís (pie de atleta descamativa) mejoraron su estado de afección y solo 2 pacientes indicaron que se curaron definitivamente, mientras que en 2 pacientes con Tinea pedís (pie de atleta) indicaron que se curaron y 5 pacientes presentaron mejoría. En cuanto a Tinea unguium (onicomicosis) y Tinea cruris solo un paciente presentó efecto antimicótico e indicó la mejoría con el Clotrimazol 1% crema

DISCUSIÓN: En el gráfico N° 21 se observa que 11 pacientes que representa el 61% mejoraron su estado de afección dérmica con el Clotrimazol 1% crema. Sin embargo si comparamos el efecto antimicótico del jabón líquido con aceite esencial como se muestra en el gráfico N° 20 vemos que el porcentaje de pacientes que mejoraron de su afección dérmica es mayor.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

1. Se comprobó que el extracto hexánico de las partes aéreas secas de la planta de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra) por fraccionamiento con los diferentes solventes, llegando a obtener 7.60 g de extracto hexánico semiseco, con un % de extracción de 26.60 %
2. Se obtuvo el aceite esencial de *Citrus limón* (limón) por arrastre de vapor de 2939 gr la corteza frescas del fruto del limón, llegando a obtener 30 ml de aceite esencial con un 0.12 % de porcentaje de extracción mediante la ecuación N° 01 se obtuvo el rendimiento del aceite esencial.
3. Se determino la actividad antimicótica "In vitro" del extracto hexanico puro de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra) sobre cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 y *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 y aceite esencial de *Citrus limon* puro llegando a la conclusión que el aceite esencial de *Citrus limon* inhibe a las dos especies micoticas.
4. Se realizó estudios de preformulaciones, compatibilidad de excipientes y estabilidad del jabon liquido base para obtener una formulación adecuada y estabilidad y compatibilidad con el extracto hexanico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra) y con el aceite esencial de *Citrus limon* (limon) y dando un grado de detergencia adecuada al jabon líquido base, utilizando un emulgente de preferencia Lauril éter sulfato de sodio llegando a la formula definitiva mostrado en el cuadro N° 19 y 20 para el extracto hexanico y aceite esencial respectivamente,
5. Se determinó la concentración adecuada para la forma farmacéutica para la actividad antimicótica "In Vitro "que fue de 0.11 % para el jabón líquido antimicótica del extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra) y de 0.2% para el jabon líquido antimicótico de aceite esencial de *Citrus limon* (limón)

6. Se realizó la comparación entre el medicamento patro Fluconazol 0.2 mg/mL y los jabones líquidos antimicótico con extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra) 0.11% y jabón líquido antimicótico con aceite esencia de *Citrus limón* (limón) 0.2% lo cual se ve que el farmaco patrón no presenta mayor actividad antimicótica “ In vitro” en comparación con los jabones líquidos antimicóticos formulados.

7. El jabón líquido antimicótico de 0.2% con aceite esencial de *Citrus limon* (limón) presenta dermatotoxicidad en animales de experimentación llegando a la conclusión que el aceite esencial es un irritante débil; sin embargo el jabón líquido con extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra) no presenta dermatotoxicidad en los animales de experimentación.

8. Los pacientes después del tratamiento con jabón líquido antimicótico con extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra – cjafra) 0.11%, presentaron clara mejoría en comparación al estado inicial de salud, Los pacientes después del tratamiento con jabón líquido antimicótico con aceite esencial de *Citrus limon* 0.2% presentaron actividad del efecto antimicótico.

SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES

A LOS DOCENTES DE LA CARRERA PROFESIONAL FARMACIA Y BIOQUIMICA

- Es necesario que los docentes estimulen a los estudiantes a realizar proyectos que se relacionen con la industria farmacéutica.
- Fomentar la investigación para poner en práctica los conocimientos adquiridos durante nuestra formación profesional.

A LOS ALUMNOS DE LA CARRERA PROFESIONAL FARMACIA Y BIOQUIMICA

- Realizar proyectos de factibilidad para la extracción de aceite esencial, alcoholes, productos farmacológicos y nutricionales a partir de los frutos maduros de *Citrus limon* (limon).
- Determinar cualitativa y cuantitativamente los principios activos presentes en el extracto hexánico de *Ophryosporus peruvianus* (Cjafra - cjafra) para determinar con exactitud cuál es el responsable de la actividad antimicótica.
- Seguir el estudio clínico para todas las enfermedades dermatofíticas usando el jabón líquido antimicótico propuesto y determinar las concentraciones adecuadas para cada uno de las enfermedades dermatofíticas

A LAS INSTITUCIONES

- Al consejo de investigación de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco para seguir auspiciando los proyectos de investigación.
- A los hospitales para seguir dando las facilidades y acceso a sus diferentes areas y servicios.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 **Acosta A. Sandra Milena, Álvarez L. María Elena, Isaza M Gustavo, Yepes Andrés Gilberto.** Actividad antimicótica de *Phenax rugosus* (lam) pers y *Baccharis trinervis* (sw) wedd. Facultad de Ciencias para la Salud. Universidad de Caldas. Manizales. Resumen publicado en la Revista Ciencias Básicas BIOSALUD. Año 2005, Colombia.
- 2 **Agnese, A.M., Perez, C., Tiraboschi, I.N. Y Cabrera, J.L.** "Naringina y hesperidina- metil chalcona: flavonoides activos contra dermatofitos". VIII Congreso del Medicamento, XX Jornadas Nacionales de Seguridad Social y Farmacéutica y XIX Encuentro Educativo de Cooperativas Farmacéuticas, (Mar del Plata, Setiembre- Octubre de 2004,115).
AIQUE GRUPO EDITOR S.A. Ciencias Naturales 6. Ciudad de Buenos Aires. Serie Siempre más (2003).
- 3 **Agostini, J. P.; Timmer, L. W..** Caída prematura de los frutos, creciente y seria enfermedad de los cítricos en América. Citrus misiones N° 22. INTA. EEA Montecarlo. Misiones. Argentina. 1995 pp. 21-33
- 4 **Alcover Díaz F. Javier.** En la tesis intitulada estudio in vitro del efecto de tres aceites esenciales, sobre los principales agentes domésticos de naturaleza alérgica de origen acarológico y fúngico realizado en la universidad país vasco en la facultad de farmacia de vitoria (upv-ehu), España 2005
- 5 **Alarcón, J.; Becerra, J.; Meter, M.; Silva, M.; Steplich, W.).** Chromenes and benzofurans from *Ophryosporus triangularis*. Boletín de la Sociedad Chilena de Química (1993) 38(2), 95-99.

- 6 **Anesini, C. and Perez, C.** "Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity". *Journal of Ethnopharmacology* 39, 119-128 (1993).
- 7 **Arenas, R.** *Micología Médica Ilustrada*, 1ª edición. Editorial Interamericana MacGraw Hill, México, DF México (1993). .58 -60 pp.
- 8 **Ayanbimpe GH.** The etiological agents of superficial cutaneous mycoses in jas, Plateau state of Nigeria. *Mycoses* 1995 may-jun ; 38 (5-6): 235-237.
- 9 **Balbach, Alfonso.**: *Las frutas en la medicina tradicional*, 1ª edición. UNMSM. Lima 1998.)
- 10 **Beltran, H.W.** (1994). *Asteráceas del Distrito de Laraos Prov. Yauyos - Lima*. Facultad de Ciencias Biológicas, UNMSM, Lima, Perú. 29 pp.
- 11 **Breitmaier, W. V.**, "Carbon-13 NMR Espectroscopia", 3ra. Edición, VCH Publicado en Weinheim, 1987, pp. 328.)
- 12 **Bohlmann, F.; Wallmeyer, M.; King, R.M.; Robinson, H.** 2-oxo-labda-8(17), 13-dien-15-ol from *Ophryosporus chuca*, *Phytochemistry* 23(7), 1513- 1514. (1984).
- 13 **Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental** (estudio "protección personal con repelente natural contra *Lutzomya youngi*, vector de la Leishmaniasis cutánea urbana en Venezuela 1990 "
- 14 **Brayana y Gina T.** Tesis "Actividad Antimicótica del aceite esencial del cedroncillo en cepas ATCC de *Cándida Albicans*" Primera Edición, UNSAAC - 2008.
- 15 **Brooks, G.F.; Batel, J.S.; Morse, S.A.** *Microbiología médica*, 16ª Edición. Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V., México, D.F., México. (1999). 716-718
- 16 **Cazares L.** y otras metodologías de la investigación Segunda edición (1982)

- 17 Coavoy K. y Coavoy. S** "Efecto antimicótico en *Trichophyton mentagrophytes* durante el proceso de fraccionamiento del extracto etanólico de *Ophryosporus peruvianus*." 2006
- 18 Cotillo P.** Farmacología en la investigación de productos Naturales Editorial CONCYTEC Primera Edición Lima Perú 1990 pp. 66- 74
- 19 De Fenik, U.S.; Retamar, J.A.** Essential oil of *Ophryosporus charua*. (1978).
- 20 De Lampasona, M.E.P.; Catalán, C.A.N.; Gedris, T.E.; Herz, W.** Benzofurans, benzofuran dimers and other constituents from *Ophryosporus Charua*. *Phytochemistry* 46(6), 1077-1080. (1997)
- 21 Devliaton Panagiotidon D.** Dermatophytosis in northern Greece during the decade 1981-1990. *Mycosis* 1995 mar-apr, 38 (3-4): 151-157.
- 22 Diccionario médico-biológico, histórico y etimológico.** dicciomed.es
- 23 Farmacopea Nacional Argentina, 6ª Edición.** "Jabón de potasio (Sapo kalii)". Pág. 602-603. Promulgada por Ley nº 21.885 (06 Octubre 1978)
- 24 Favier, L.S.; Nieto, M.; Giordano, O.S.; Tonn, CE.** Diterpenoids and flavonoids from *Ophryosporus Charua*. *Phytochemistry* 45(7), 1469-1474. (1997).
- 25 Fernandez V.** Industria Farmacéutica "Catalogo de plantas medicinales "Universidad de Lima, Facultad de Ingeniería Industrial CIP LIMA 1994.
- 26 Ferracini, V.L.; Roewer, L; Gao, F.; Mabry, T.J.** Ent-labdane diterpenoids, tremetone and chromene derivatives and flavonoids from *Ophryosporus heptanthus*. *Phytochemistry* 28(5), 1463-1465. (1989).
- 27 Fitzpatrick, T.B.; Alien, R.; Wolff, K.; Suurmond, D.** Atlas en color y Sinopsis de Dermatología Clínica, 4ª Edición. Edit. McGraw Hill Interamericana de España, S.A.V., Madrid, España. (2001). 686- 687 pp.
- 28 Font Quer, P** Plantas medicinales 3ª Edición Edit. Labor 1976

- 29 Foster KW, Ghannoum MA, Elewski BE, "Epidemiologic surveillance of cutaneous fungal infection in the United States from 1999 to 2002", J Am Acad Dermatol 2004; 50(5): 748-752.**
- 30 Genaro A. Remington Farmacia, 20^a Edición Edit. Médica Panamericana. Buenos Aires 2003**
- 31 Gen Lab Del Perú Microbiologics Technical Manual, 33^a Edición Revisión 2005.**
- 32 Germaná, M. A.; De Pasquale, F; Bazán, E.; Palazzolo, E. a. Indagine sigli oli essenziale contenutti nei fiori, nelle foglie e nei germogli di 5 specie di citrus. Essenze Derivati Agrumari 3: 297-312. 1990**
- 33 Goddman y Gilman Las Bases de la farmacológicas de la terapéutica Editorial Mc Graw Hill Interamericana 9^{ava} Edición España 1996**
- 34 González s. y Rojas T. I Actividad Antifúngica in vitro de dos productos residuales Dpto. de microbiología y Virología, Facultad de biología, Universidad de la Habana 25 N° 455 2003**
- 35 Guía terapéutica de Fitofármacos y Apifármacos. Empresa provincial de medicamentos. Sancti Spiritus; 1995.**
- 36 Gupta A, Jain H, Lynde C, MacDonald P, Cooper E, Summerbell R, "Prevalence and epidemiology of onychomycosis in patients visiting physician's offices: A multicenter Canadian survey of 15,000 patients", J Am Acad Dermatol 2000; 43: 244-248.**
- 37 Hafliger, Ernest) Los cítricos "Monografías técnicas editorial CIBA-Geigy Agronómicos España 1988**
- 38 Harris D.C Química Analítica, Quinta Edición 1992**
- 39 Hernández, S Fernández, C y Baptista P. Metodología de la investigación. Editorial Mc Hill Interamericana, 2^{da} Edición México 1998**
- 40 Huancachoque, B. "Actividad antimicótica in vitro del zumo de *citrus limon* (limón) frente a *Trichophyton rubrum*" 2007**

- 41 King, R.M.; Robinson, H. Studies in the Eupatorieae (Asteraceae). LXXIII. The genus *Ophryosporus*. *Phytologia* 23, 397-400. (1972).
- 42 La Real Farmacopea Española "Aceites esenciales de limón" Madrid: ministerio de sanidad y consumo. 1997
- 43 Leibovici V. Imbalance of immune responses in patient with chronic and widespread fungal skin infection. *Clin Exp Dermatol* 1995 sep 20. (5) : 390-394
- 44 Lock de Ugaz Olga Investigación Fitoquímica 1ª Edición Editorial la Pontificia Universidad Católica 1994
- 45 Loomis T, Fundamentos de Toxicología 3ª Edición, Editorial Acribia España (1984)
- 46 Martínez Roig, A: Miosis Cutánea Semiología y Fisiopatología 5ta edición, editorial "el ateneo" España 1992)
- 47 Montgomery D Diseño y análisis de experimentos. Editorial iberoamericana S.A de C.V D F México 1991 pp. 98 – 548
- 48 Mormotoy, W Elaboración del protocolo de investigación en ciencias de la salud, de la conducta y Áreas afines. Editado por el lab Boheringer Ingelheim 1ª Edición Lima Perú 1993, pp 2-15
- 49 Normas OPPTS 870.2600:1998, desarrollada por la "Oficina de prevención de pesticidas y sustancias tóxicas (OPPTS) Agencia de la Protección del Medio ambiente de los Estados Unidos" – y la directiva 92/69/CEE de 31 de julio de 1992, apartado B.6.
- 50 Ortiz, Dora; Curso Teórico: Control Microbiológico de productos Cosméticos, Cusco, Perú, 2009
- 51 Ostle B. Estadística aplicada Editorial Limusa. México 1992.
- 52 Pereiro M. Susceptibilidad *In vitro* del Itraconazol, Clotrimazol, Ketoconazol, Terbinafina, de 100 posibles contagios con *Trichophyton rubrum*. 2000. 46 (6) 390- 396
- 53 Perez, C., Tiraboschi, I.N., Agnese, A.M. Y Cabrera, J.L. "Actividad del flavonoide hesperidina y de cítricos de procedencia sobre dermatofitos". XXXVI Reunión Anual de la Sociedad Argentina de

- Investigación Odontológica (Potrero de los Funes, San Luis, Argentina, 21-23 de Noviembre de 2003, n° 139).
- 54 Pippon, J.W.** Tratado de Micología Médica, 3ª edición. Editorial Interamericana Mc Graw Hill, México, D.F., México. 186-191 pp. (1990).
- 55 Pocket, M** Diccionario de medicina y ciencia de la salud, editorial España 1999(32)
- 56 Ponton J MD Morangues** Hongos y actinomicetos Alergénicos “ Revista Iberoamericana de Micología 1ª Edición 2002.
- 57 Revista Española** Quimioterapia Diciembre, Vol. 17 (Nº04) 325 – 331 Prous Science; S.A Sociedad Española de Quimioterapia 2004.
- 58 Roberts, DT, Taylor WD, Boyle J,** “Guidelines for treatment of onychomycosis”, Br J Dermatol 2003; 148: 402-410.
- 59 Rojas, R.; Bustamante, B.; Bauer, J.; Fernández, I.; Alban, J.; Lock, O.** (2003). Antimicrobial activity of Selected Peruvian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology 88(2-3), 199-204.
- 60 Rueda, A.** Diccionario de ciencias médicas. 9ª edición. Librería El Ateneo Editorial, Madrid, España. (1992).
- 61 Sigstad, E.; Catalán, C.A.N.; Díaz, J.G.; Herz, W.** (1993). Diprenylated derivatives of p-hydroxyacetophenone from *Ophryosporus macrodon*. Phytochemistry 33(1), 165-169.
- 62 Taraga M. J** Proyecto de factibilidad “Fabricación de aceites esenciales y jugos de limón” Cusco 1972
- 63 Zdero, C; Bohlmann, F.; Niemeyer, H.M.** (1990). Seco-labdanes and other constituents from *Ophryosporus floribundus*. Phytochemistry 29(10), 3247-3253.
- 64 Weitman, I. Summerbell, R.C.** The Dermatophytes. Clin Microbiol Rev 8(1), 240. (1999).

INTERNET

1. Bohlmann, F.; Wallmeyer, M; King, R.; Robinson, H. (1984). 2-oxo-labda-8(17),13-dien-15-ol from *Ophryosporus chuca*. [Online 20 March 2010]. Abstract disponible en: URL:
<http://www.sciencedirect.com/science?ob=ArticleURL&udi=B6TH7-42M7N03-YW&coverDate=12%2F31%2F1984&alid=191860609&rdoc=I&fmr=&orig=sear ch&qd=I&cdi=5275&sort=d&view=c&acct=C000050221&version=I&urlVersion=0&userid=10&md5=438dfd7f81bc65bcf6d2a490eff1S98d>.
2. De Lampasona, M.; Catalán, G; Gedris, T; Herz, W. (1997). Benzofurans, benzofuran dimers and other constituents from *Ophryosporus charua*. [Online 8 April 2009]. Abstract disponible en: URL:
<http://www.sciencedirect.com/science?ob=ArticleURL&udi=B6TH7-3SDKR4W-2R&coverDate=U%2F30%2F1997&alid=191860229&rdoc=I&fmr=&orig=sear ch&qd=1&cdi=5275&sort=d&view=c&acct=C000050221&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=c4ea091af851717b50cd8c50b7ef54b2>.
3. Favier, L.; Nieto, M.; Giordano, O.; Tonn, C. (1997). Diterpenoids and flavonoids from *Ophryosporus charua*. [Online 27 March 2008]. Abstract disponible en: URL:
<http://www.sciencedirect.com/science?ob=ArticleURL&udi=B6TH7-3SB1JWN-10&coverDate=08%2F31%2F1997&alid=191860327&rdoc=I&fmr=&orig=sear ch&qd=I&cdi=5275&sort=d&view=c&acct=C000050221&version=I&urlVersion=0&userid=10&md5=6cd7b4d160329641a1507257eae426cd>.

4. Sigstad, E.; Catalán, C; Diaz, J.; Herz, W. (1996). Chromanones, benzofurans an other constituents from *Ophryosporus lorentzii*. [Online 11 December 2010]. Abstract disponible en: URL:
<http://www.sciencedirect.com/science?ob^ArricleURL&udi=B6TH7-3V992CM-15&coverPate=07%2F31%2F1996&alid=191860577&rdoc=l&.fint=&orig^sear ch&gd=l&cdi=5275&sort=d&view=c&acct=C000050221&version=l&url Vers ion=0&userid^ 10&md5=ar91 ed21064a441 d4 fd9a2fef6499ae9>.
5. <http://www.pgodoy.com/imicsuperfi.htm> P. Godoy & Micología Médica . [Online 27 March 2010]
6. <http://museovirtual.csic.es/profesores/tecnologias/webjabon/jabon2.htm>. [Online 11 enero 2011]
7. WWW. Rae.es . [Online Febrero 2011]

ANEXO FOTOGRAFICO

1-. DE LA RECOLECCION DE LA PLANTA EN ESTUDIO

FOTO N° 01

FOTO N° 02



Secado de la planta en estudio

Macerado y filtración de la planta

2-. DE LA EXTRACCIÓN DICLOROETANOLICA

FOTO N° 03

FOTO N° 04



Incorporación Diclorometano – agua. Separación del extracto Diclorometano

3-. DE LA EXTRACCIÓN HEXANICO

FOTO N° 05

FOTO N° 06



Secado del extracto Diclorometano

Incorporación del Hexano - Metanol 1:1

FOTO N° 07



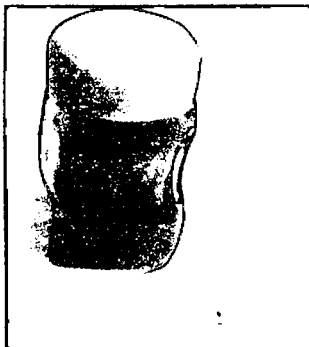
Separación del extracto hexánico

FOTO N° 08

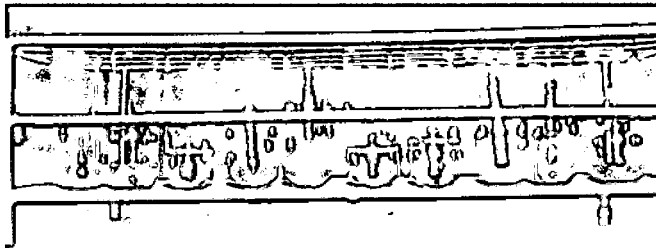


Secado del extracto hexánico

FOTO N° 09



Extracto hexánico



Análisis fitoquímico cualitativo

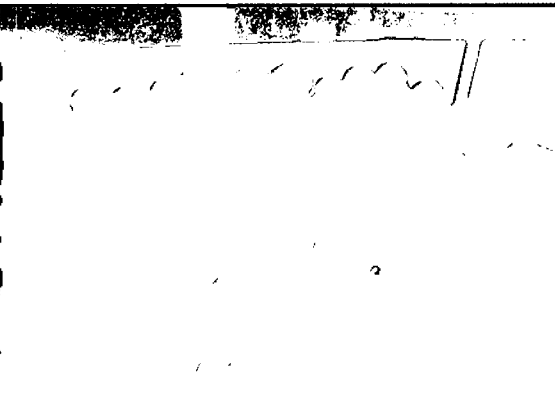
4.- DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

FOTO N° 10



Recolección de los limones

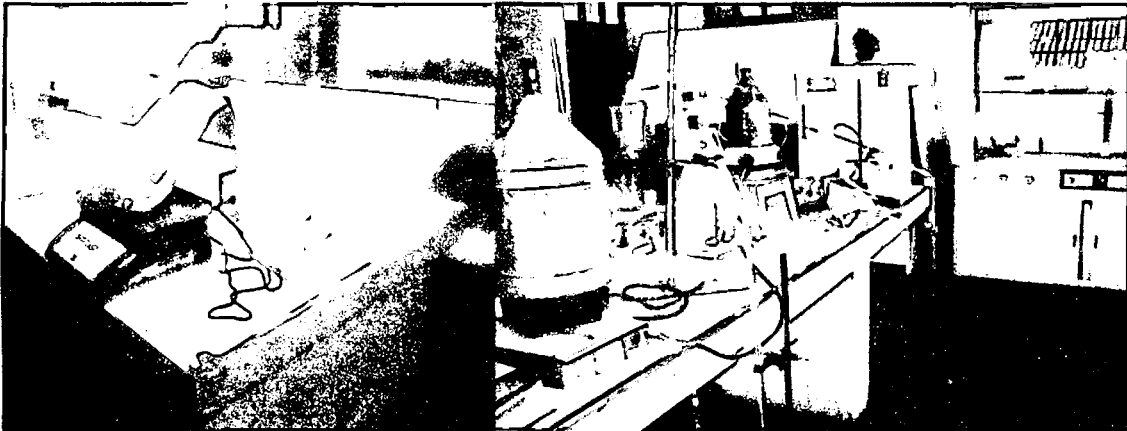
FOTO N° 11



Selección y limpieza de los limones

FOTO N° 12

FOTO N° 13



Peso de la cáscara picada de limón. Obtención del aceite esencial por arrastre de vapor

5.- OBTENCIÓN DEL EXTRACTO HEXANICO Y DEL ACEITE ESENCIAL

FOTO N° 14

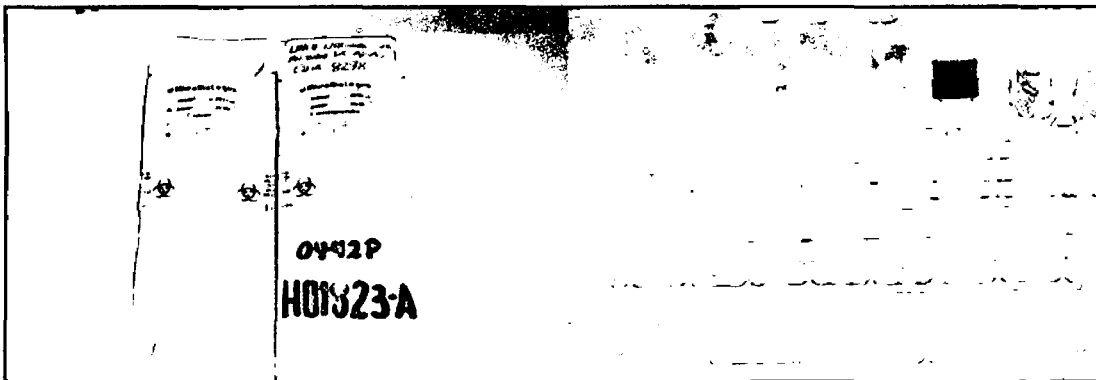


Aceite esencial de limón

6.- DE LA ACTIVACIÓN DE LAS CEPAS de *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*

FOTO N° 15

FOTO N° 16



Cepas ATCC liofilizadas

Cepario ATCC

FOTO N° 17



Crecimiento de las dos cepas ATCC

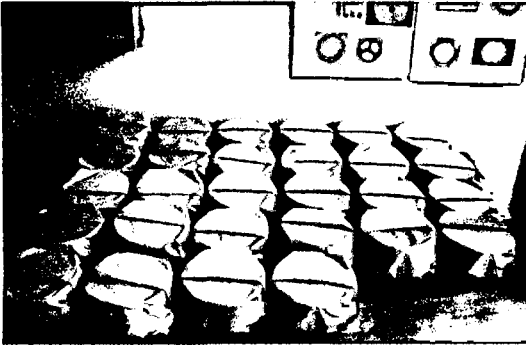
FOTO N° 18



Sembrado de las cepas ATCC

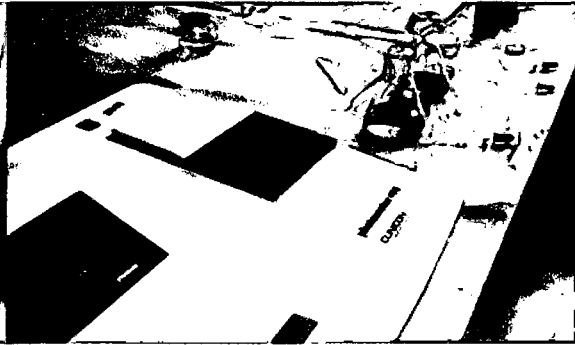
7.- DE LAS PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS DEL EXTRACTO HEXÁNICO

FOTO N° 19



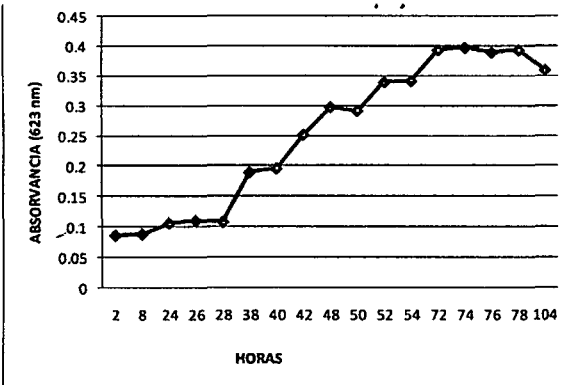
Placas petri estériles

FOTO N° 20

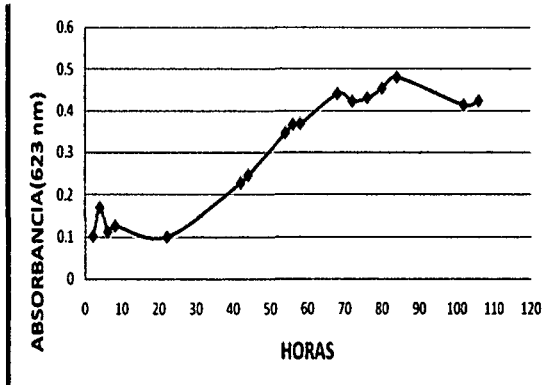


Lectura del crecimiento micótico en caldo BHI

Gráfico N° 03



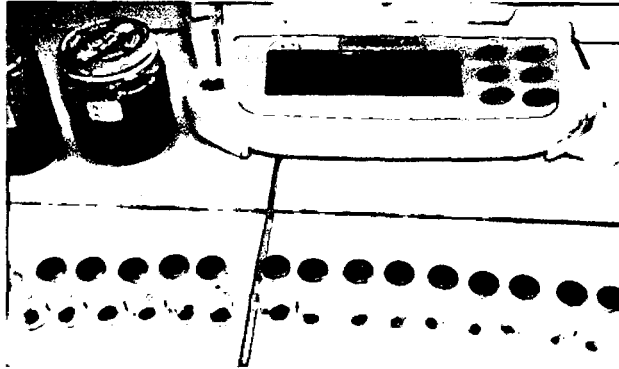
Curva de crecimiento de *Trichophyton rubrum*



Curva de crecimiento de *Trichophyton mentagrophytes*

Fuente: Datos Experimentales

FOTO N° 21



Peso del extracto hexánico a ser incorporado al jabón líquido

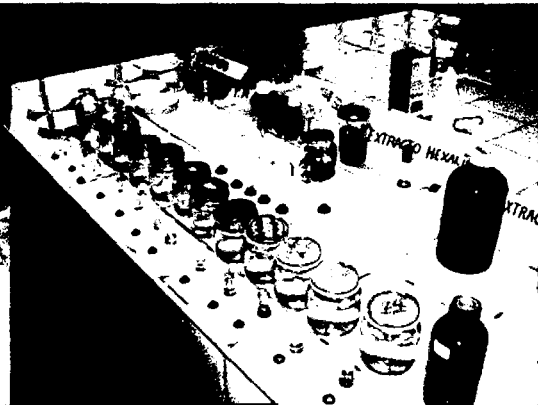
8.- DE LA ELABORACION DEL JABON LÍQUIDO ANTIMICOTICO

FOTO N° 22



Insumentos para elaborar jabón líquido

FOTO N° 23



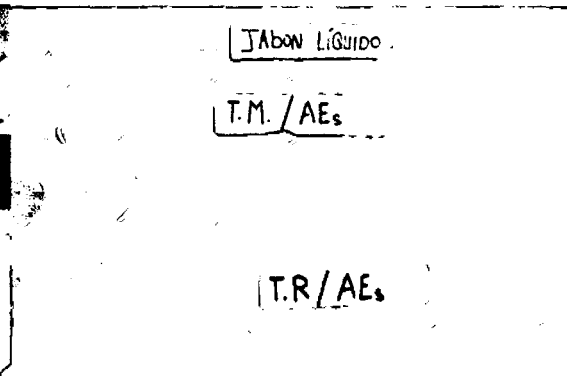
concentración del extracto hexánico en el jabón líquido

FOTO N° 24



Elaboración del jabón líquido antimicótico.

FOTO N° 25

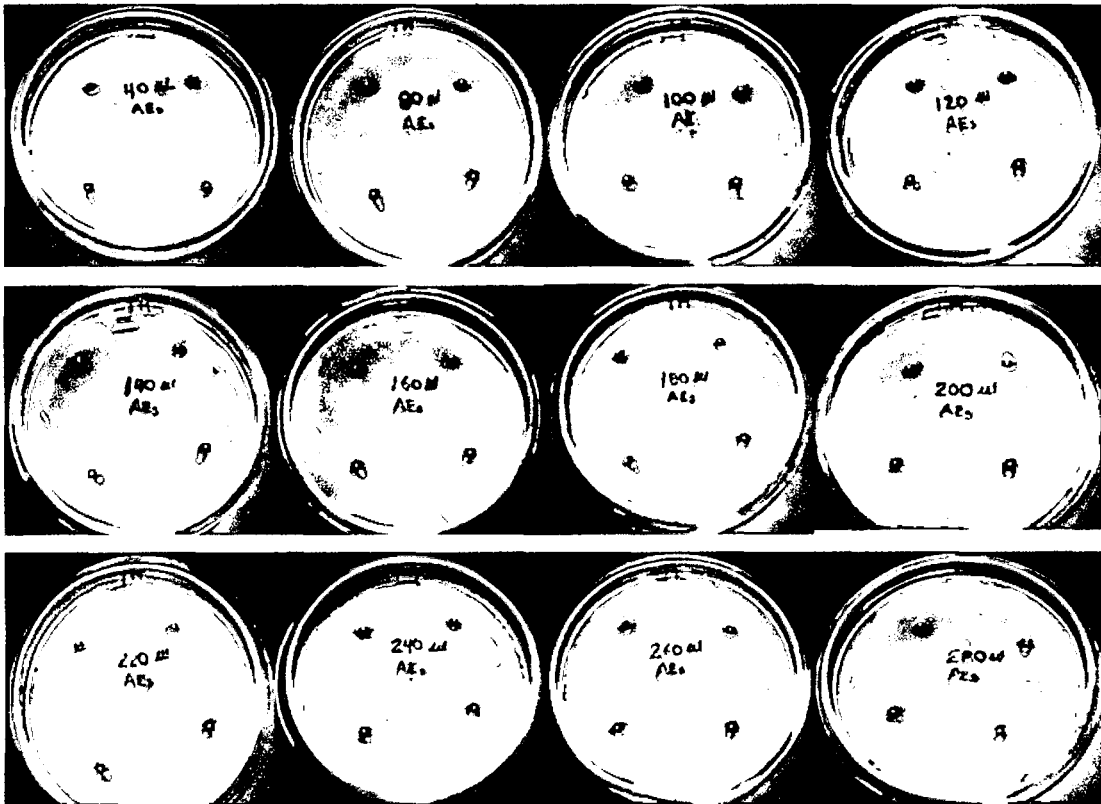


Pruebas antimicóticas del jabón líquido con cultivo de cepas ATCC

9.- DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA ANTIMICOTICA

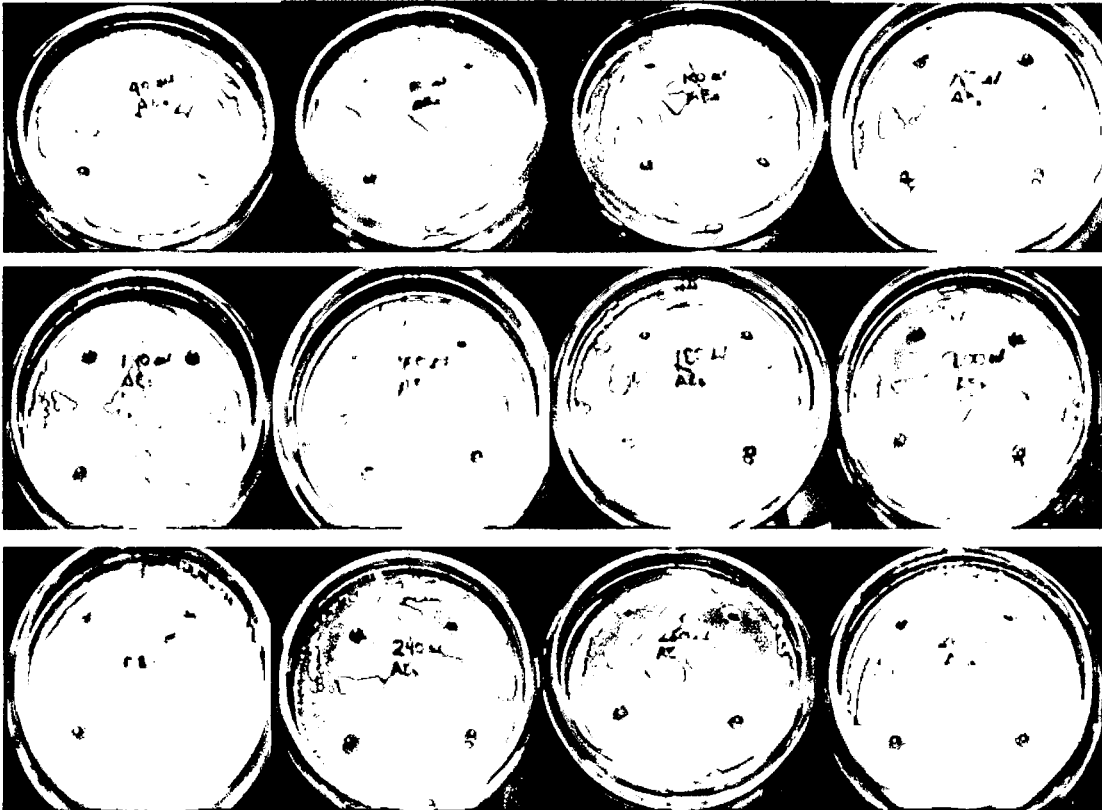
Trichophyton mentagrophytes VS JABON LIQUIDO CON ACEITE ESENCIAL DE *Citrus*
limón

FOTO N° 26



Actividad antimicótica del jabón líquido con aceite esencial de limon a diferentes
concentraciones frente a *Trichophyton mentagrophytes*
Trichophyton rubrum VS JABON LIQUIDO CON ACEITE ESENCIAL DE *Citrus* limón

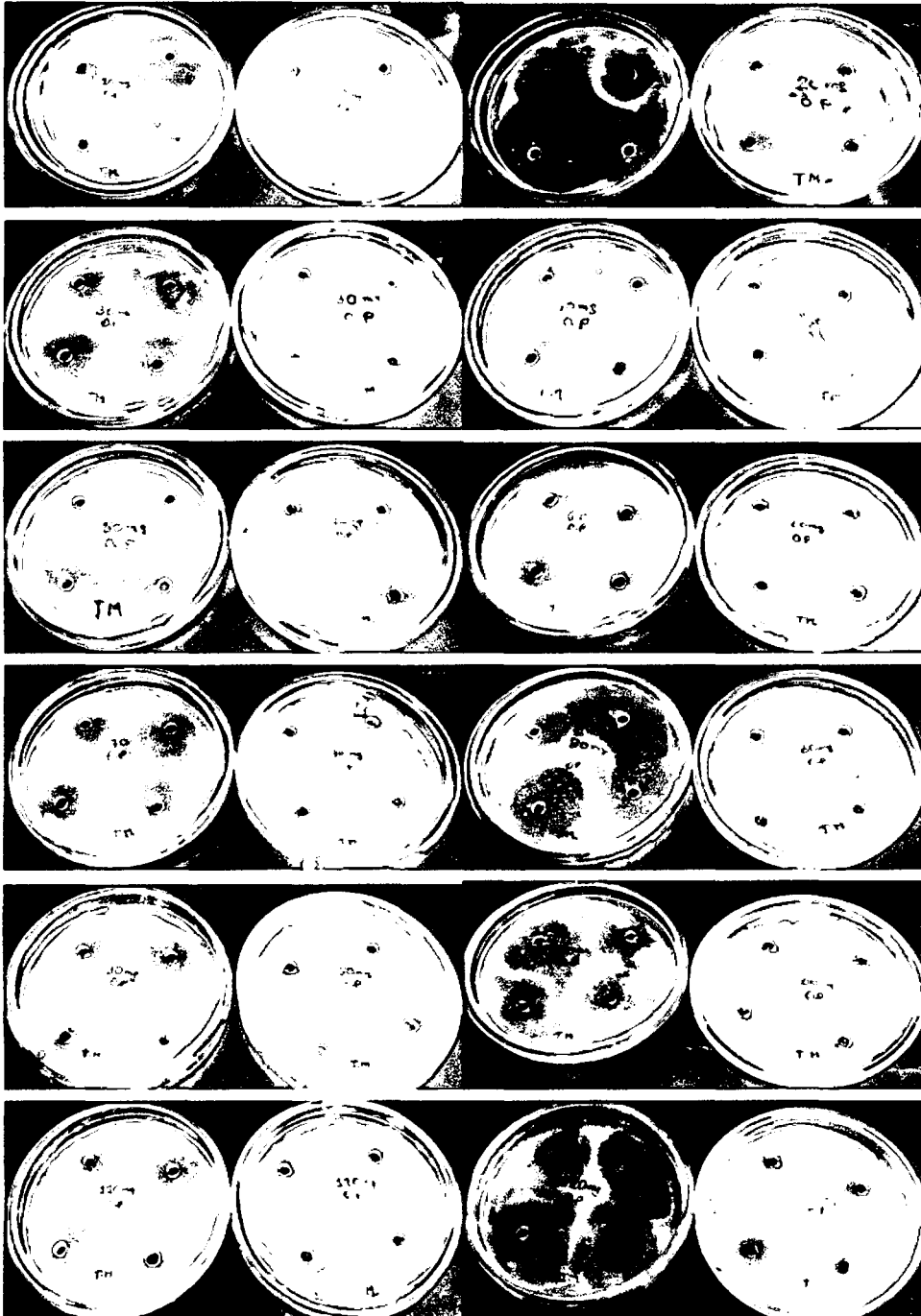
FOTO N° 27



Actividad antimicótica del jabón líquido con aceite esencial de limon a diferentes concentraciones frente a *Trichophyton rubrum*

***Trichophyton mentagrophytes* VS JABÓN LIQUIDO CON EXTRACTO HEXÁNICO
*Ophyosporus peruvianus***

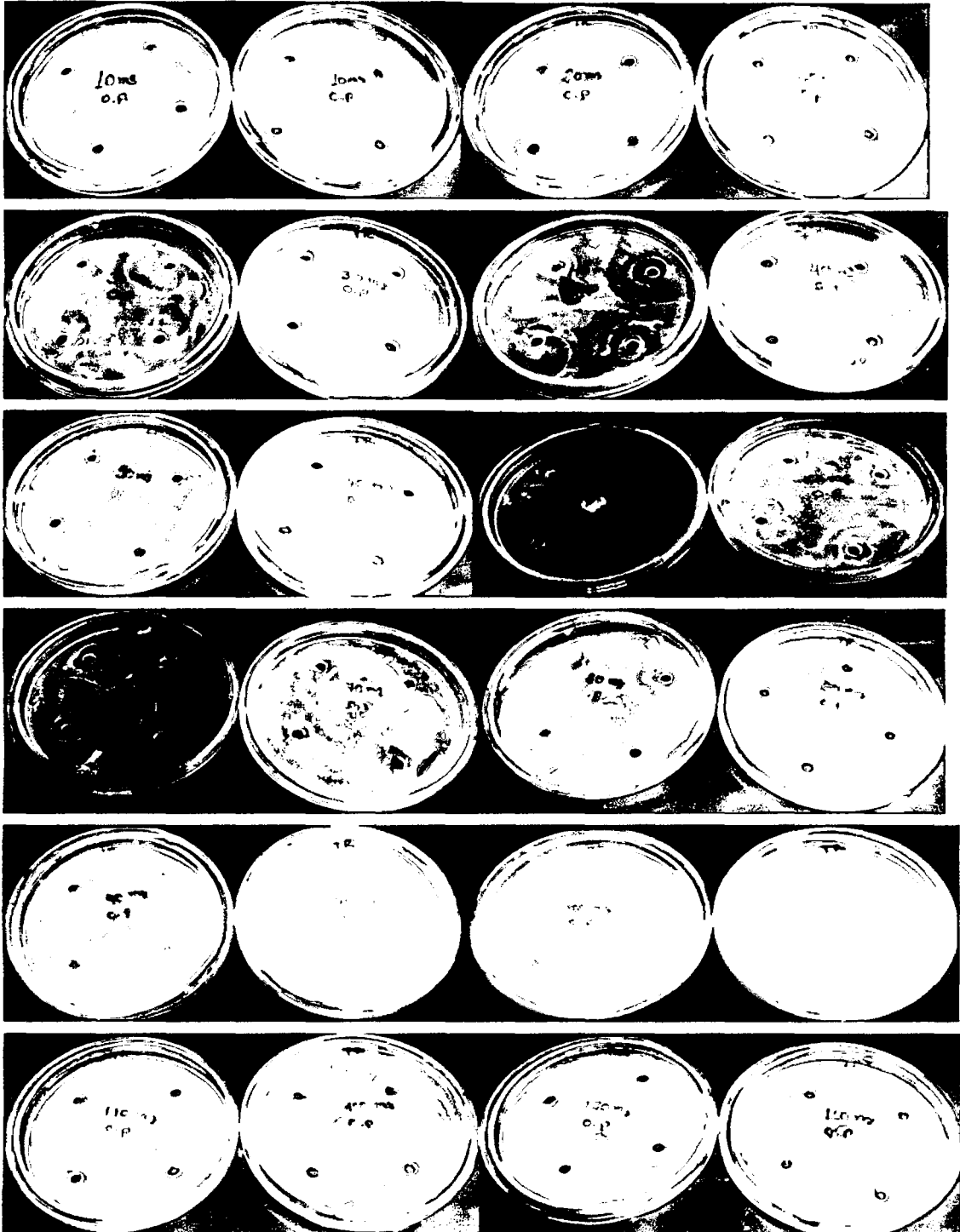
FOTO N° 28



Actividad antimicótica del jabón líquido con extracto hexánico de *Ophyosporus peruvianus* a diferentes concentraciones frente a *Trichophyton mentagrophytes*

Trichophyton mentagrophytes VS JABON LIQUIDO CON ACEITE ESENCIAL CON *Citrus limón*

FOTO N° 29



Actividad antimicótica del jabón líquido con aceite esencial de *Citrus limon* a diferentes concentraciones frente a *Trichophyton mentagrophytes*
10.- De la formulación del jabón líquido antimicótico

FOTO N° 30



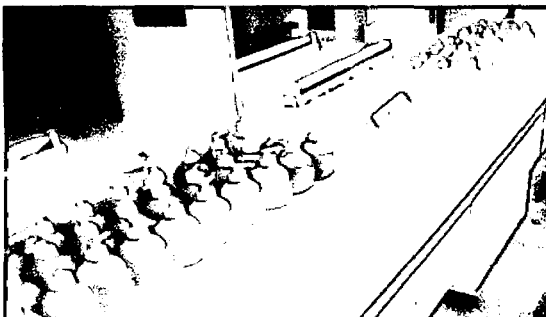
Peso de los excipientes

FOTO N° 31



preparación del jabón líquido base

FOTO N° 32



Eneasado del jabón líquido antimicótico

FOTO N° 33



etiquetado del jabón líquido antimicótico

11.- De la dermatotoxicidad en los animales de experimentación

FOTO N° 34



Selección y agrupación de animales de experimentación.

FOTO N° 35



Depilado de los ratones

FOTO N° 36



Aplicación del jabón líquido antimicótico

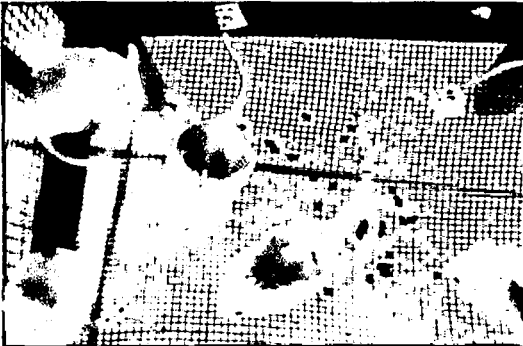
FOTO N° 37



Observación

De la prueba de irritación primaria de la piel en animales de experimentación

FOTO N° 38



Aplicación del jabón líquido antimicótico

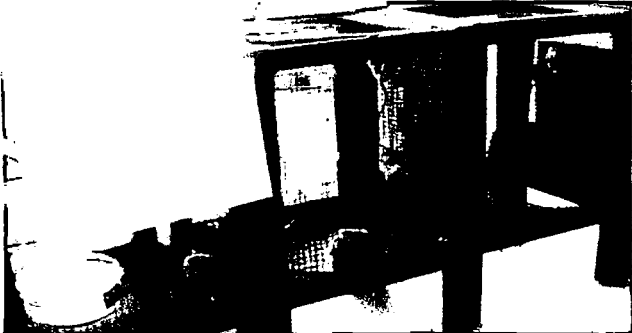
FOTO N° 39



Observación

De la sensibilidad cutánea de la piel en animales de experimentación

FOTO N° 40



Aplicación del jabón líquido antimicótico

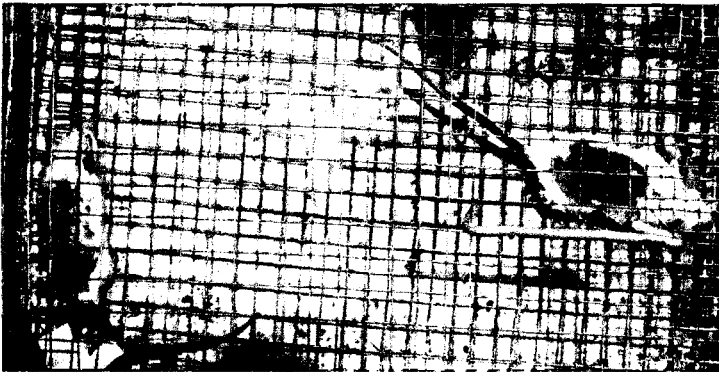
FOTO N° 41



Observación

De la fototoxicidad cutánea de la piel en animales de experimentación

FOTO N° 42



Observación

De los pacientes con dermatofitosis

FOTO N° 43



Sin tratamiento antimicótico

FOTO N° 44



Con tratamiento antimicótico

FOTO N° 45



Sin tratamiento antimicótico

FOTO N° 46



Con tratamiento antimicótico

FOTO N° 47



Sin tratamiento antimicótico

FOTO N° 48



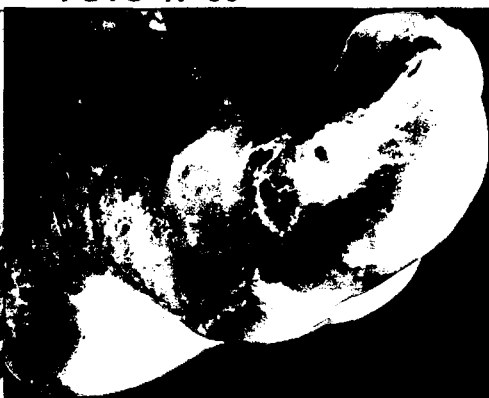
Con tratamiento antimicótico

FOTO N° 49



Sin tratamiento antimicótico

FOTO N° 50



Con tratamiento antimicótico

FOTO N° 51



Sin tratamiento antimicótico

FOTO N° 52



Con tratamiento antimicótico

FOTO N° 53



Sin tratamiento antimicótico

FOTO N° 54



Con tratamiento antimicótico

FOTO N° 55



Sin tratamiento antimicótico

FOTO N° 56



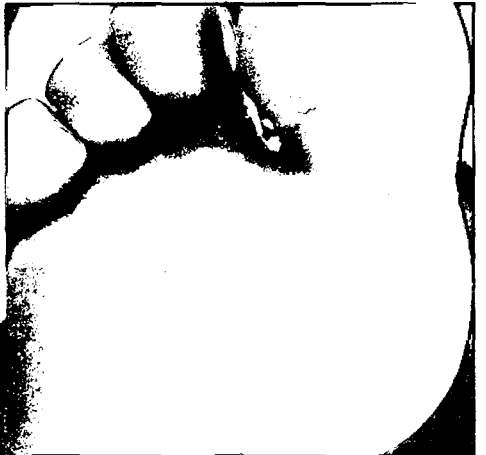
Con tratamiento antimicótico

FOTO N° 57



Sin tratamiento antimicótico

FOTO N° 58



Con tratamiento antimicótico

FOTO N° 59



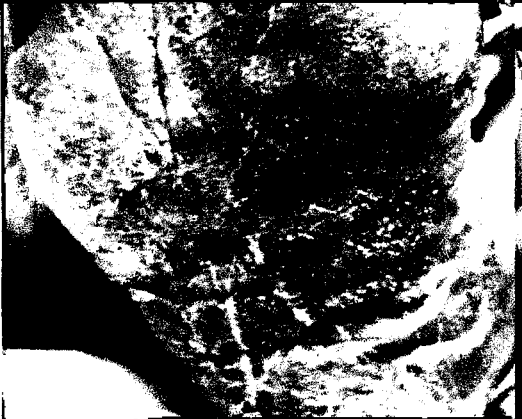
Sin tratamiento antimicótico

FOTO N° 60



Con tratamiento antimicótico

FOTO N° 61



Sin tratamiento antimicótico

FOTO N° 62



Con tratamiento antimicótico

FOTO N° 63



Sin tratamiento antimicótico

FOTO N° 64



Con tratamiento antimicótico



Ministerio de Salud
Personas que atendemos Personas

ANEXO N° 01

"Año de la Consolidación Económica y Social del Perú"
"Cusco Capital Histórica del Perú"



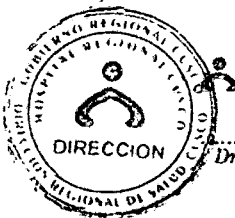
HOSPITAL REGIONAL DEL CUSCO
Av. De la Cultura s/n Telfs: 227661 - 2311:
Emergencia Telf: 223691
CUSCO - PERU

DRSC. PROV. No. 0261. 2010-HRC.DE

DE : Directora Ejecutiva del Hospital Regional Cusco
A : Sr. Hugo Cáceres Inocencio y Srta. Karina Quispe Baca
ASUNTO : Autorización Para Ejecutar Trabajo de Tesis
FECHA : 30 NOV 2010
REF. : REF. 7105

Visto el documento que antecede, de acuerdo al Comité de Ética en Investigación con Humanos, y la Unidad de Capacitación, la Dirección Ejecutiva, autoriza el trabajo de Tesis Estudio Comparativo del Efecto Antimicótico y Evaluación de la Dermatotoxicidad del Extracto Hexánico de *Ophryosporus Peruvianus* y del Aceite Esencial del *Citrus limon* en forma de Jabón Líquido Frente a Dermatofitosis en Pacientes que acuden al Hospital Regional. Debiendo al término del trabajo de investigación presentar un ejemplar para el Hospital.

Atentamente,




GOBIERNO REGIONAL CUSCO
DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD
HOSPITAL REGIONAL DEL CUSCO
Dra. Sara Nila González Portillo
DIRECTORA - EJECUTIVA
C.M.P. 12879

c.c Archivo
SNGP/dry
C/29/11/2010

ANEXO N° 02

Ophryosporus peruvianus (J.G. Gmelin) King & H. Robin



Fotografía N° 1: Tallo, hojas y flores de la especie vegetal

ANEXO N° 03

Citrus limon

(PLANTA, FRUTO DE LA ESPECIE VEGETAL EN ESTUDIO)



FOTO N° 01: Muestra de la planta.



FOTO N° 02: .Flor de la planta.



FOTO N° 03: Fruto de la planta.



FOTO N° 04: Tallo de la planta.

ANEXO N°04

CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL SEGÚN CIÉ DE MICOSIS

B35 Dermatofitosis

B36 Otras micosis superficiales

B37 Candidiasis

B38 Coccidioidomicosis

B39 Histoplasmosis

B40 Blastomicosis

B41 Paracoccidioidomicosis

B42 Esporotricosis

B43 Cromomicosis y absceso feomicotico

B44 Aspergilosis

B45 Criptococosis

B46 Cigomicosis

B47 Micetoma

B48 Otras micosis, no clasificadas en otra parte

B49 Micosis, no especificada

B35	DERMATOFITOSIS	B350	Tina de la barba y del cuero cabelludo
		B351	Tina de las uñas
		B352	Tina de la mano
		B353	Tina del pie [tinea pedis]
		B354	Tina del cuerpo [tinea corporis]
		B355	Tina imbricada [tinea imbricata]
		B356	Tina inguinal [tinea cruris]
		B358	Otras dermatofitosis
		B359	Dermatofitosis, no especificada
B36	OTRAS MICOSIS SUPERFICIALES	B360	Pitiriasis versicolor
		B361	Tina negra
		B362	Piedra blanca
		B363	Piedra negra
		B368	Otras micosis superficiales especificadas
		B369	Micosis superficial, sin otra especificación

Fuente: CIE = Clasificación Internacional de Enfermedades

ANEXO N° 05

LA DECLARACION DE HELSINKI DE LA ASOCIACION MEDICA MUNDIAL Y EL CODIGO DE NUREMBERG DE 1946

Estas normas expuestas fueron inspiradas en diversos principios y declaraciones internacionales, entre las cuales se destacan el Código de **Nuremberg de 1946** y la **Declaración de Helsinki** adoptado por la decimo octava Asamblea Medica Mundial realizada durante el mes de junio de 1964 en Helsinki, Finlandia y revisada posteriormente en Japón(1975), Italia (1983), Hong Kong (1989),Sudáfrica (1996) y posteriormente enmendada (luego de la sanción de la Disposición ANMAT N° 5330/97) en Escocia (2000)

Resulta apropiado en este punto destacar que también aquí existe plena compatibilidad entre los mandatos internacionales en la materia y las normas locales analizadas. Por cuanto unas y otras se refieren, armónicamente, a la primacía que ocupa el sujeto pasivo de los experimentos por sobre cualquier otra consideración de tipo científico y experimental. Además otro hincapié prioritario de estos principios rectores, hace alusión a la responsabilidad inmediata e indelegable que tiene los investigadores respecto no solo a la investigación en sí misma, sino también a la estricta observancia de todas aquellas medidas 60 prescriptas para salvaguardar la libertad y la voluntad de los pacientes. También en esta misma dirección se enderezan los preceptos establecidos por las disposiciones regulatorias. Y en este último sentido, la misma Declaración de Helsinki se pronuncia a favor de que todo lo que se realice en la materia debe hacerse respetando escrupulosamente la normativa de cada país, incluso entiende que los investigadores deben conocer todos los requisitos éticos, legales y jurídicos de la experimentación con seres humanos del país donde se efectúe el ensayo. Todo esto exceptuando, claro, está el supuesto de que esos requisitos disminuyan o eliminen las medidas de protección establecidas por esa declaración. En definitiva, de lo que se trata es de demostrar que nada de lo declarado y legislado tanto internacional como nacionalmente resulta incompatible como también que a tales disposiciones las ha inspirado sobre todo la necesidad de

cuidar al ser humano por encima de cualquier otra consideración, y es justamente ahí donde habita la ética.

Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial

A. INTRODUCCIÓN

1. La Asociación Médica Mundial ha promulgado la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos que sirvan para orientar a los médicos y a otras personas que realizan investigación médica en seres humanos. La investigación médica en seres humanos incluye la investigación del material humano o de información identificables.
2. El deber del médico es promover y velar por la salud de las personas. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de ese deber.
3. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico con la fórmula "velar solícitamente y ante todo por la salud de mi paciente", y el Código Internacional de Ética Médica afirma que: "El médico debe actuar solamente en el interés del paciente al proporcionar atención médica que pueda tener el efecto de debilitar la condición mental y física del paciente". La investigación biomédica en seres humanos debe ser realizada solamente por personas científicamente calificadas, bajo la supervisión de una persona médica con competencia clínica. La responsabilidad por el ser humano siempre debe recaer sobre una persona con calificaciones médicas, nunca sobre el individuo sujeto a investigación, aunque éste haya otorgado su consentimiento.
4. El progreso de la medicina se basa en la investigación, la cual, en último término, tiene que recurrir muchas veces a la experimentación en seres humanos.
5. En investigación médica en seres humanos, la preocupación por el bienestar de los seres humanos debe tener siempre primacía sobre los intereses de la ciencia y de la sociedad.
6. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es mejorar los procedimientos preventivos, diagnósticos y terapéuticos, y también comprender

la etiología y patogenia de las enfermedades. Incluso, los mejores métodos preventivos, diagnósticos y terapéuticos disponibles deben ponerse a prueba continuamente a través de la investigación para que sean eficaces, efectivos, accesibles y de calidad.

7. En la práctica de la medicina y de la investigación médica del presente, la mayoría de los procedimientos preventivos, diagnósticos y terapéuticos implican algunos riesgos y costos.

8. La investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales. Algunas poblaciones sometidas a la investigación son vulnerables y necesitan protección especial. Se deben reconocer las necesidades particulares de los que tienen desventajas económicas y médicas. También se debe prestar atención especial a los que no pueden otorgar o rechazar el consentimiento por sí mismos, a los que pueden otorgar el consentimiento bajo presión, a los que se beneficiarán personalmente con la investigación y a los que tienen la investigación combinada con la atención médica.

9. Los investigadores deben conocer los requisitos éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que los requisitos internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico disminuya o elimine cualquiera medida de protección para los seres humanos establecida en esta Declaración.

B. PRINCIPIOS BÁSICOS PARA TODA INVESTIGACIÓN MÉDICA

10. En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la intimidad y la dignidad del ser humano.

11. La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados, y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Cuando el menor de edad puede en efecto dar su consentimiento, éste debe obtenerse además del consentimiento de su tutor legal.

12. Al investigar, hay que prestar atención adecuada a los factores que puedan

perjudicar el medio ambiente. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.

13. El proyecto y el método de todo procedimiento experimental en seres humanos debe formularse claramente en un protocolo experimental. Este debe enviarse, para consideración, comentario, consejo, y cuando sea oportuno, aprobación, a un comité de evaluación ética especialmente designado, que debe ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia indebida. Se sobreentiende que ese comité independiente debe actuar en conformidad con las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación experimental.

El comité tiene el derecho de controlar los ensayos en curso. El investigador tiene la obligación de proporcionar información del control al comité, en especial sobre todo incidente adverso grave. El investigador también debe presentar al comité, para que la revise, la información sobre financiamiento, patrocinadores, afiliaciones institucionales, otros posibles conflictos de interés e incentivos para las personas del estudio.

14. El protocolo de la investigación debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso, y debe indicar que se han observado los principios enunciados en esta Declaración.

15. La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo sólo por personas científicamente calificadas y bajo la supervisión de un médico clínicamente competente. La responsabilidad de los seres humanos debe recaer siempre en una persona con capacitación médica, y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento.

16. Todo proyecto de investigación médica en seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa comparación de los riesgos calculados con los beneficios previsibles para el individuo o para otros. Esto no impide la participación de voluntarios sanos en la investigación médica. El diseño de todos los estudios debe estar disponible para el público.

17. Los médicos deben abstenerse de participar en proyectos de investigación en seres humanos a menos de que estén seguros de que los riesgos inherentes han sido adecuadamente evaluados y de que es posible hacerles frente de manera satisfactoria. Deben suspender el experimento en marcha si observan que los riesgos que

implican son más importantes que los beneficios esperados o si existen pruebas concluyentes de resultados positivos o beneficiosos.

18. La investigación médica en seres humanos sólo debe realizarse cuando la importancia de su objetivo es mayor que el riesgo inherente y los costos para el individuo. Esto es especialmente importante cuando los seres humanos son voluntarios sanos.

19. La investigación médica sólo se justifica si existen posibilidades razonables de que la población, sobre la que la investigación se realiza, podrá beneficiarse de sus resultados.

20. Para tomar parte en un proyecto de investigación, los individuos deben ser participantes voluntarios e informados.

21. Siempre debe respetarse el derecho de los participantes en la investigación a proteger su integridad. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de los individuos, la confidencialidad de la información del paciente y para reducir al mínimo las consecuencias de la investigación sobre su integridad física y mental y su personalidad.

22. En toda investigación en seres humanos, cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posible conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento. La persona debe ser informada del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico debe obtener entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede obtener por escrito, el proceso para obtenerlo debe ser documentado formalmente ante testigos.

23. Al obtener el consentimiento informado para el proyecto de investigación, el médico debe poner especial cuidado cuando el individuo está vinculado con él por una relación de dependencia o si consiente bajo presión. En un caso así, el consentimiento informado debe ser obtenido por un médico bien informado que no participe en la investigación y que nada tenga que ver con aquella relación.

24. Cuando la persona sea legalmente incapaz, o inhábil física o mentalmente de otorgar consentimiento, o menor de edad, el investigador debe obtener el consentimiento informado del representante legal y de acuerdo con la ley vigente. Estos grupos no deben ser incluidos en la investigación a menos que ésta sea necesaria para promover la salud de la población representada y esta investigación no pueda realizarse en personas legalmente capaces.

25. Si una persona considerada incompetente por la ley, como es el caso de un menor de edad, es capaz de dar su consentimiento a participar o no en la investigación, el investigador debe obtenerlo, además del consentimiento del representante legal.

26. La investigación en individuos de los que no se puede obtener consentimiento, incluso por representante o con anterioridad, se debe realizar sólo si la condición física/mental que impide obtener el consentimiento informado es una característica necesaria de la población investigada. Las razones específicas por las que se utilizan participantes

en la investigación que no pueden otorgar su consentimiento informado deben ser estipuladas en el protocolo experimental que se presenta para consideración y aprobación del comité de evaluación. El protocolo debe establecer que el consentimiento para mantenerse en la investigación debe obtenerse a la brevedad posible del individuo o de un representante legal.

27. Tanto los autores como los editores tienen obligaciones éticas. Al publicar los resultados de su investigación, el médico está obligado a mantener la exactitud de los datos y resultados. Se deben publicar tanto los resultados negativos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y cualquier posible conflicto de

Intereses. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

C. PRINCIPIOS APLICABLES CUANDO LA INVESTIGACIÓN MÉDICA SE COMBINA CON LA ATENCIÓN MÉDICA

28. El médico puede combinar la investigación médica con la atención médica, sólo en la medida en que tal investigación acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico. Cuando la investigación médica se combina con la atención médica, las normas adicionales se aplican para proteger a los pacientes que participan en la investigación.

29. Los posibles beneficios, riesgos, costos y eficacia de todo procedimiento nuevo deben ser evaluados mediante su comparación con los mejores métodos preventivos, diagnósticos y terapéuticos disponibles. Ello no excluye que pueda usarse un placebo, o ningún tratamiento, en estudios para los que no se dispone de procedimientos preventivos, diagnósticos o terapéuticos probados.

30. Al final de la investigación, todos los pacientes que participan en el estudio deben tener la certeza de que contarán con los mejores métodos preventivos, diagnósticos y terapéuticos disponibles, identificados por el estudio.

31. El médico debe informar cabalmente al paciente los aspectos de la atención que tienen relación con la investigación. La negativa del paciente a participar en una investigación nunca debe perturbar la relación médico-paciente.

32. Cuando los métodos preventivos, diagnósticos o terapéuticos disponibles han resultado ineficaces en la atención de un enfermo, el médico, con el consentimiento informado del paciente, puede permitirse usar procedimientos preventivos, diagnósticos y terapéuticos nuevos o no probados, si, a su juicio, ello da alguna esperanza de salvar la vida, restituir la salud o aliviar el sufrimiento. Siempre que sea posible, tales medidas deben ser investigadas a fin de evaluar su seguridad y eficacia. En todos los casos, esa información nueva debe ser registrada y, cuando sea oportuno, publicada. Se deben seguir todas las otras normas pertinentes de esta Declaración.

CÓDIGO DE NUREMBERG

- I. Es absolutamente esencial el consentimiento voluntario del sujeto humano.
- II. El experimento debe ser útil para el bien de la sociedad, irremplazable por otros medios de estudio y de la naturaleza que excluya el azar.
- III. Basados en los resultados de la experimentación animal y del conocimiento de la historia natural de la enfermedad o de otros problemas en estudio, el experimento debe ser diseñado de tal manera que los resultados esperados justifiquen su desarrollo.
- IV. El experimento debe ser ejecutado de tal manera que evite todo sufrimiento físico, mental y daño innecesario.
- V. Ningún experimento debe ser ejecutado cuando existan razones a priori para creer que pueda ocurrir la muerte o un daño grave, excepto, quizás en aquellos experimentos en los cuales los médicos experimentadores sirven como sujetos de investigación.
- VI. El grado de riesgo a tomar nunca debe exceder el nivel determinado por la importancia humanitaria del problema que pueda ser resuelto por el experimento.
- VII. Deben hacerse preparaciones cuidadosas y establecer adecuadas condiciones para proteger al sujeto experimental contra cualquier remota posibilidad de daño, incapacidad y muerte.
- VIII. El experimento debe ser conducido solamente por personas científicamente calificadas. Debe requerirse el más alto grado de destreza y cuidado a través de todas las etapas del experimento, a todos aquellos que ejecutan o colaboran en dicho experimento.
- IX. Durante el curso del experimento, el sujeto humano debe tener libertad para poner fin al experimento si ha alcanzado el estado físico y mental en el cual parece a él imposible continuarlo.
- X. Durante el curso del experimento, el científico a cargo de él debe estar preparado para terminarlo en cualquier momento, si él cree que en el ejercicio de su buena fe. Habilidad superior y juicio cuidadoso, la continuidad del experimento podría terminar en un daño, incapacidad o muerte del sujeto experimental.

ANEXO N° 06

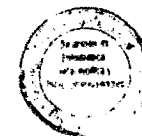
DIRECCION REGIONAL DE SALUD CUSCO INFORMACION SOBRE DEMATOFITISIS 2007

Contar De COD_DPTO	GRUPOEDAD									Total general
	DESC_ENF	0 - 28 Dias	29 - 11M	1 año	2 - 4 años	5 - 9 años	10-14 años	15-19 años	20-59 años	
Dermatofitosis, no Especificada	3	68	56	116	155	163	80	212	27	880
Micosis Superficial, sin otra Especificacion	26	495	591	1399	2100	2202	1127	3306	367	11613
Otras dermatofitosis		4	8	31	17	18	12	26	4	120
Otras Micosis Superficiales Especificadas	2	15	20	43	48	46	20	84	11	289
Piedra Blanca		2	2	6	8	8		3	1	30
Piedra Negra			1	1				4		6
Pitiriasis Versicolor	1	20	12	33	58	80	39	111	7	361
Tina de la Barba y del Cuero Cabelludo	3	26	38	164	181	75	28	63	8	586
Tina de la Mano		1	2	14	13	10	7	45	3	95
Tina de las Uñas	1	7	1	12	6	25	33	183	25	293
Tina del Cuerpo [Tinea Corporis]	3	97	88	258	435	480	199	442	48	2050
Tina del Pie [Tinea Pedis]	2	10	27	63	103	131	118	526	53	1033
Tina Imbricada [Tinea Imbricata]				2	1	1	1	7		12
Tina Inguinal [Tinea Cruris]		1	2	2	7	6	3	17	5	43
Tina Negra	1	3	4	2	1	2	2	6	1	22
Total general	42	749	852	2146	3133	3247	1669	5035	560	17433



**DIRECCION REGIONAL DE SALUD CUSCO
INFORMACION SOBRE DEMATOFITISIS 2008**

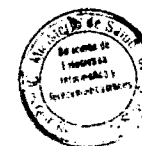
Contar De COD_DPTO DESC_ENF	GRUPOEDAD									Total general
	0 - 28 Dias	29 - 11M	1 año	2 - 4 años	5 - 9 años	10-14 año	15-19 año	20-59 año	60 a+ año	
Dermatofitosis, no Especificada	2	24	27	76	119	98	59	200	32	637
Micosis Superficial, sin otra Especificacion	21	447	470	1414	2026	2162	1076	3317	432	11365
Otras dermatofitosis		2	7	8	17	14	4	17	3	72
Otras Micosis Superficiales Especificadas		21	22	39	50	46	33	71	21	303
Piedra Blanca			5	1	1	2	1			10
Piedra Negra		1		1	1			3	2	8
Pitiriasis Versicolor		7	6	29	38	50	25	78	7	240
Tina de la Barba y del Cuero Cabelludo		27	47	142	151	46	31	91	14	549
Tina de la Mano			1	2	9	11	10	32	5	70
Tina de las Unas		5	3	7	15	24	29	205	35	323
Tina del Cuerpo [Tinea Corporis]	1	75	89	293	486	460	266	680	87	2437
Tina del Pie [Tinea Pedis]		11	7	32	78	109	119	536	81	973
Tina Imbricada [Tinea Imbricata]		1						10	1	12
Tina Inguinal [Tinea Cruris]		3	2		3	1	2	25	1	37
Tina Negra				2		1	2	1		6
Total general	24	624	686	2046	2994	3024	1657	5266	721	17042



ANEXO N° 07

DIRECCION REGIONAL DE SALUD CUSCO INFORMACION SOBRE DEMATOFITOSIS 2009

Rótulos de fila	0 - 28 Días	29 - 11M	2 - 4 años	5 - 9 años	1 año	10-11 años	12-14 años	15-17 años	18-29 años	30-59 años	60 a+ años	Total general
Dermatofitosis, no Especificada		34	97	88	37	27	41	49	105	191	41	710
Otras dermatofitosis		7	11	13	4	1		3	6	21	1	67
Tina de la Barba y del Cuero Cabelludo	1	24	105	113	24	30	10	25	46	50	26	454
Tina de la Mano		3	5	21	5	8	5	10	46	77	16	196
Tina de las Unas		12	9	18	7	5	20	28	145	261	48	553
Tina del Cuerpo [Tinea Corporis]	4	96	381	459	113	140	265	218	494	712	168	3050
Tina del Pie [Tinea Pedis]	2	13	72	139	17	47	77	84	386	603	143	1583
Tina Imbricada [Tinea Imbricata]				1		1		1	1	5		9
Tina Inguinal [Tinea Cruris]		4		3		1	2	3	13	14	2	42
Total general	7	193	680	855	207	260	420	421	1242	1934	445	6664



06 SEP 2010

DIRECCION REGIONAL DE SALUD CUSCO
INFORMACION SOBRE DEMATOFITOSIS 2010

Rótulos de fila	0 - 28 Dias	1 año	10-11 años	12-14 años	15-17 años	18-29 años	2 - 4 años	29 - 11M	30-59 años	5 - 9 años	60 a+ años	Total genera
Dermatofitosis, no Especificada		11	14	22	22	57	21	13	79	31	23	293
Otras dermatofitosis			2	2	1	4	3	1	3	6	1	23
Tina de la Barba y del Cuero Cabelludo		18	13	12	4	15	32	15	30	52	10	201
Tina de la Mano		1	2	3	1	22	4		26	2	4	65
Tina de las Unas		3	4	3	4	44	5	1	81	11	25	181
Tina del Cuerpo [Tinea Corporis]	2	38	55	74	76	220	128	58	302	129	69	1151
Tina del Pie [Tinea Pedis]		13	18	38	47	231	47	4	340	63	71	872
Tina Imbricada [Tinea Imbricata]						1	2		2	2	1	8
Tina Inguinal [Tinea Cruris]			2			10	1	2	2	1	4	22
Total general	2	84	110	154	155	604	243	94	865	297	208	2816



06 SEP 2010

ANEXO N° 08

CLASIFICACIÓN DE GRADO DE ERITEMA

GRADO DE ERITEMA	CALIFICACION
Ningún eritema	0
Eritema ligero, apenas perceptible	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderado o grave	3
Eritema grave, rojo remolacha con lesiones profundas	4

Fuente: Fundamento de toxicología Ted. A.Loomis

CLASIFICACION DEL GRADO DE EDEMA

GRADO DE EDEMA	CLASIFICACIÓN
Ningún edema	0
Edema ligero, apenas visible	1
Edema con bordes elevados	2
Edema moderado con la superficie saliente aprox. en 1 mm.	3
Edema grave con la superficie mas saliente que antes y extendiéndose más allá del área de exposición	4

Fuente: Fundamento de toxicología Ted. A. Loomis

ANEXO Nº 09

FICHA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS DE INSUMOS Y CANTIDADES PARA LA BASE DEL JABON LÍQUIDO

CARACTERÍSTICAS DE LOS INSUMOS	FORMULACIÓN DEL JABÓN LIQUIDO ANTIMICÓTICO											
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	F ₁₀	F ₁₁	F ₁₂
Agua (transportador)												
Lauril Eter Sulfato de sodio (Surfactante, agente limpiador)												
Cocoamidapropilbetaina (Surfactante,generador de espuma)												
Metil Parabeno (Agente de conservación)												
Étilen diamino tetracético (Agente quelante)												
Queratina - NUTRILAN (proteína)												
Di etanolamida (Cocoamida) (Aumenta la viscosidad)												
Glicerina (humectante universal)												
Aceite esencial de Citrus limón (p.a)												
Extracto hexánico de Ophyosporus peruvianus												
Tween – 80 (solvente orgánico)												
Acido Cítrico (Ajustador de pH, agente quelante)												
Dimetil sulfoxido												
Etanol 96° (solvente orgánico)												
JABON LIQUIDO	JL ₁	JL ₂	JL ₃	JL ₄	JL ₅	JL ₆	JL ₇	JL ₈	JL ₉	JL ₁₀	JL ₁₁	JL ₁₂

ANEXO N° 10
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL EXTRACTO
HEXÁNICO DE *Ophryosporus peruvianus*

N° de Concentraciones	Concentración de extracto hexánico del jabón líquido antimicrobiano mg/mL	Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533															
		Placa N° 01					Placa N° 02					Placa N° 03					Prom. Final.
		Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom. (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom. (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom. (mm)	
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11																	
12																	

ANEXO N° 11
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Citrus limón* (limón)

N° de Concentraciones	Concentración de aceite esencial del jabón líquido antimicótico mg/mL	Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton mentagrophytes</i> ATCC 28188															
		Placa N° 01					Placa N° 02					Placa N° 03					Prom. Final.
		Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom. (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom. (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom. (mm)	
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11																	
12																	

ANEXO N° 12
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Citrus limón* (limón)

N° de Concentraciones	Concentración del extracto hexánico del jabón líquido antimicótico mg/mL	Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 28188															Prom. Final.
		Placa N° 01					Placa N° 02					Placa N° 03					
		Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom. (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom. (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom. (mm)	
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11																	
12																	

ANEXO N° 13
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Citrus limón* (limón)

N° de Concen- traciones	Concentración de aceite esencial del jabón líquido antimicótico μL	Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas de <i>Trychophyton rubrum</i> ATCC 9533															
		Placa N° 01					Placa N° 02					Placa N° 03					Prom.
		Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom. (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom. (mm)	Pozo 1 (mm)	Pozo 2 (mm)	Pozo 3 (mm)	Pozo 4 (mm)	Prom. (mm)	Final.
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11																	
12																	

**ANEXO N° 14
FICHA DERMATOTOXICOLOGICA**

**FICHA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA PRUEBA DE
IRRITACIÓN PRIMARIA DE LA PIEL
CON ABRASIÓN**

	24 Horas			48 Horas	
Ratón	Eritema	Edema	Ratón	Eritema	Edema
1°			1°		
2°			2°		
3°			3°		
4°			4°		
5°			5°		
6°			6°		
7°			7°		
8°			8°		
9°			9°		
10°			10°		
11°			11°		
12°			12°		
Promedio			Promedio		

SIN ABRASIÓN

	24 Horas			48 Horas	
Rata	Eritema	Edema	Ratón	Eritema	Edema
1°			1°		
2°			2°		
3°			3°		
4°			4°		
5°			5°		
6°			6°		
7°			7°		
8°			8°		
9°			9°		
10°			10°		
11°			11°		
12°			12°		
Promedio			Promedio		

FUENTE: Elaboración propia

ANEXO N° 15

FICHA DERMATOTOXICOLOGICA

**FICHA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA PRUEBA
DE SENSIBILIZACIÓN CUTÁNEA**

1° Grupo de Ratas Albinos	Aplicación Inicial				Dosis de Estimulación			
	1° Evaluación		2° Evaluación		1° Evaluación		2° Evaluación	
	Edema		Eritema		Edema		Eritema	
1°								
2°								
3°								
4°								
5°								
6°								
7°								
8°								
9°								
10°								
11°								
12°								

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°16

FICHA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA PRUEBA DE FOTSENSIBILIZACIÓN, FOTOTOXICIDAD CUTÁNEA

La evaluación de fotosensibilidad y fototoxicidad se evaluará previa aplicación del jabón líquido de aceite esencial. Y la consiguiente exposición a los rayos solares.

1er grupo de ratas albinos	Aplicación inicial y posterior exposición a la luz UV														Dosis de estimulación a los 14 días y posterior exposición a la luz UV	
	1er día		2do día		3er día		4to día		5to día		6to día		7mo día		14 días	
	Erit	Edem	Erit.	Edem	Erit.	Edem.	Erit.	Edem	Erit.	Edem	Erit	Ed	Erit	Ed	Eri	Edem.
1°																
2°																
3°																
4°																
5																
6																
7																
8																
9																
10																
11																
12																

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 18

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE LOS PACIENTES VOLUNTARIOS PARA SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO.

Yo.....Identificado con
DNI N°.....con domicilio en.....
Con.....Años de edad y ocupación.....

Declaro libre y voluntariamente que deseo participar en el estudio **“Estudio Comparativo del Efecto Antimicótico y Evaluación de la Dermatotoxicidad del Extracto Hexánico de *Ophryosporus Peruvianus* y del Aceite Esencial del *Citrus limon* en forma de Jabón Líquido Frente a Dermatofitosis en Pacientes que acuden al Hospital Regional.”**.

Estoy informado de que los procedimientos, pruebas y tratamiento consisten en la aplicación del jabón líquido antimicótico en estudio en la mañana y la noche (cada 12 Horas) durante un periodo de un mes, y que la evolución del efecto antimicótico será evaluado semanalmente por visitas periódicas al domicilio del paciente y/o en el consultorio de la Dra. Zandy Solórzano Gutiérrez (Dermatóloga del Hospital Regional - Cusco)

Firma del Paciente

Nota:

Las personas que voluntariamente acceden a este estudio, son conscientes que puede o no haber efecto del jabón líquido antimicótico, lo cual no quiere decir que este pueda causarle algún tipo de daño en la piel, ya que antes de realizar las pruebas en humanos se realizó un estudio de dermatotoxicidad en ratones albinos especie *Mus musculus* cepa balb/c/CNPB

Fuente: Elaboración Propia

ANEXON° 19

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA MEDICA
CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL JABON LIQUIDO AL 0.2 % DE ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon*
(limón).

SOLICITANTE : Bach. HUGO CACERES INOCENCIO
Bach. KARINA YENNY QUISPE BACA
PARA : Tesis de Investigación
MUESTRA : Jabón Líquido al 0.2 % de aceite esencial de *Citrus limon* (limón)
FECHA : 28 /10/10

INDICADORES MICROBIOLÓGICOS

Los indicadores microbiológicos tomados en cuenta para el análisis de la muestra en estudio son:

1. Recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos Viables (RMAMV)
2. Recuento de hongos y levaduras (RHL)

CUADRO: REPORTE DE RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO DEL JABON LIQUIDO AL 0.2 % DE ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limon* (limón)

	Dilución 10 -1	Dilución 10-2	Dilución 10-3
(RMAMV)	Ausente	Ausente	Ausente
(RHL)	Ausente	Ausente	Ausente

METODOLOGIA

Se siguió la metodología recomendada por el Centro Latinoamericano de Enseñanza e Investigación de Bacteriología Alimentaria (CLEIBA)

CONCLUSION:

Por los resultados obtenidos, se tiene que las muestras cumplen con los valores – guía de la OMS, sobre calidad microbiológica.

El Jabón Líquido al 0.2 % de aceite esencial de *Citrus limon* (limón) está libre de contaminación por gérmenes patógenos por lo que permite realizar las pruebas de toxicidad correspondiente, sin ningún tipo de alteración microbiológica en los animales de experimentación al ser administrados por vía tópica.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

- a) Los microorganismos Aerobios Mesófilos (RMAMV) al no encontrarse en la presente muestra indica materias primas no contaminadas, limpieza y desinfección correcta o condiciones adecuadas de tiempo y temperatura durante la producción o conservación, o la combinación de otras circunstancias.
- b) El recuento de hongos y levaduras (RHL) indica que las condiciones de almacenamiento y conservación así como la sanitización de equipos y la calidad higiénica sanitaria del producto en estudio es muy buena

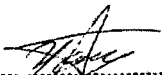
BIBLIOGRAFIA

Centro Latinoamericano de Enseñanza e investigación bacteriología alimentaria-1984 (CLEIBA)

(Ratto Alina Y Garrido Tula UNMSM- Lima 1983, DIGESA- Lima 1998.

Instituto Nacional de Salud 1998 y Centro de Alimentación y Nutrición Lima-1998, OMS 1992.

Atentamente.


Mgt Yanet Mendoza Muñoz
CBP N° 2617
ESPECIALIDADES ANALISIS BIOLÓGICOS
EDUCACIÓN UNIVERSITARIA E INVESTIGACIÓN
UNSAAC 13411 FAC. MEDICINA HUMANA

ANEXON° 20

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA MÉDICA
CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL JABON LIQUIDO AL 0.11 % de Extracto Hexánico de
Ophryosporus peruvianus (Qafra-qafra)

SOLICITANTE : Bach. HUGO CACERES INOCENCIO
Bach. KARINA YENNY QUISPE BACA
PARA : Tesis de Investigación
MUESTRA : Jabón Líquido al 0.11 % de Extracto Hexánico de *Ophryosporus peruvianus*
FECHA : 28 /10/10

INDICADORES MICROBIOLÓGICOS

Los indicadores microbiológicos tomados en cuenta para el análisis de la muestra en estudio son:

3. Recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos Viables (RMAMV)
4. Recuento de hongos y levaduras (RHL)

CUADRO: REPORTE DE RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO DEL JABON LIQUIDO) AL 0.11% DE *Ophryosporus peruvianus* (Qafra-qafra)

	Dilución 10 -1	Dilución 10-2	Dilución 10-3
(RMAMV)	Ausente	Ausente	Ausente
(RHL)	2x10 ² ufc/g	Ausente	Ausente

<2x10² ufc/g = significan negativo

METODOLOGIA

Se siguió la metodología recomendada por el Centro Latinoamericano de Enseñanza e Investigación de Bacteriología Alimentaria (CLEIBA)

CONCLUSION:

Por los resultados obtenidos, se tiene que las muestras cumplen con los valores – guía de la OMS, sobre calidad microbiológica.

El Jabón Líquido al 0.11 % de *Ophryosporus peruvianus* (Qafra-qafra) está libre de contaminación por gérmenes patógenos por lo que permite realizar las pruebas de toxicidad correspondiente, sin ningún tipo de alteración microbiológica en los animales de experimentación al ser administrados por vía tópica.


INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

- c) Los microorganismos Aerobios Mesófilos (RMAMV) al no encontrarse en la presente muestra indica materias primas no contaminadas, limpieza y desinfección correcta o condiciones adecuadas de tiempo y temperatura durante la producción o conservación, o la combinación de otras circunstancias.
- d) El recuento de hongos y levaduras (RHL) indica que las condiciones de almacenamiento y conservación así como la sanitización de equipos y la calidad higiénica sanitaria del producto en estudio es muy buena

BIBLIOGRAFIA

Centro Latinoamericano de Enseñanza e investigación bacteriología alimentaria-1984 (CLEIBA)
(Ratto Alina Y Garrido Tula UNMSM- Lima 1983, DIGESA- Lima 1998.
Instituto Nacional de Salud 1998 y Centro de Alimentación y Nutrición Lima-1998, OMS 1992.

Atentamente.


Yanet Mendoza Muñoz
CBP N° 2617
ESPECIALIDADES ANALISIS BIOLÓGICOS
EDUCACIÓN UNIVERSITARIA E INVESTIGACIÓN
UNSAAC 15411 FAC. MEDICINA HUMANA

ANEXO Nº 21

CERTIFICADOS DE ANÁLISIS DE LOS SOLVENTES QUÍMICOS UTILIZADOS

Certificate of Analysis

1:06009:2500 Methanol GR for analysis ACS;ISO;Reag. Ph Eur

Batch K37846509

	Büch. Verfaß.	
Cr (Chromium)	≤ 0.000002	%
Cu (Copper)	≤ 0.000002	%
Fe (Iron)	≤ 0.00001	%
Ga (Gallium)	≤ 0.000002	%
In (Indium)	≤ 0.000002	%
Li (Lithium)	≤ 0.000002	%
Mg (Magnesium)	≤ 0.00001	%
Mn (Manganese)	≤ 0.000002	%
Mo (Molybdenum)	≤ 0.000002	%
Ni (Nickel)	≤ 0.000002	%
Pb (Lead)	≤ 0.00001	%
Pt (Platinum)	≤ 0.000005	%
Sn (Tin)	≤ 0.00001	%
Ti (Titanium)	≤ 0.000002	%
Tl (Thallium)	≤ 0.000002	%
V (Vanadium)	≤ 0.000002	%
Zn (Zinc)	≤ 0.00001	%
Zr (Zirconium)	≤ 0.000002	%
Evaporation residue	≤ 0.0005	%
Water	≤ 0.05	%

ACS, ISO reagent, Ph. Eur. reagent.

Test date (DD.MM.YYYY): 10.09.2007
 Validity shelf life (DD.MM.YYYY): 30.09.2012

Dr. Michael Savelsberg

responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature



Certificate of Analysis

<http://certificates.merck.de>

Date of print: 27.05.2008

1.06050.1000 Dichloromethane GR for analysis ACS,ISO,Reag. Ph
Eur

Batch K34364450

Batch Values

Purity (GC)	≥ 99.8	%
Identity (IR)	conforms	
Appearance	clear	
Colour	≤ 10	Hazen
Titribic acid	≤ 0.0002	meq/g
Alkalinity	≤ 0.0002	meq/g
Density (d 20 °C/ 4 °C)	1.324 - 1.326	
Boiling point	39 - 42	°C
Free chlorine (as Cl)	≤ 0.00002	%
Chloride (Cl)	≤ 0.0001	%
Matter discoloured by H ₂ SO ₄	≤ 100	Hazen
Chloroform (GC)	≤ 0.005	%
Ethanol (GC)	≤ 0.02	%
Methanol (GC)	≤ 0.1	%
Carbon tetrachloride (GC)	≤ 0.005	%
Fluorescence (as quinine at 365 nm)	≤ 0.002	ppm
Al (Aluminium)	≤ 0.00005	%
B (Boron)	≤ 0.000002	%
Ba (Barium)	≤ 0.00001	%
Ca (Calcium)	≤ 0.00005	%
Cd (Cadmium)	≤ 0.000005	%
Co (Cobalt)	≤ 0.000002	%
Cr (Chromium)	≤ 0.000002	%
Cu (Copper)	≤ 0.000002	%
Fe (Iron)	≤ 0.00001	%
Mg (Magnesium)	≤ 0.00001	%
Mn (Manganese)	≤ 0.000002	%

Fisher Chemical

1 Reagent Lane
Fairlawn, NJ 07410
201.796.7100 tel
201.796.1329 fax

Certificate of Analysis

Fisher Scientific's Quality System has been found to conform to Quality Management System Standard ISO9001:2000 standard by DNV Certificate number CERT-08052-2006-AQ-HOU-ANAB

This is to certify that units of the lot number mentioned below were tested and found to comply with the specifications of the grade listed. Certain data has been supplied by third parties. Fisher Scientific expressly disclaims all warranties, express or implied, including the implied warranties of merchantability and fitness for a particular purpose. Unless otherwise stated, these products are not intended for dialysis, parenteral or injectable use without further processing. The following are the actual analytical results obtained:



Catalog Number H292		Mfg. Date 06/11/2006	
Lot Number 042817		Sample ID H292..042817.B1.	
Description HEXANES, A.C.S.			
Result Name	Units	Specifications	Test Value
APPEARANCE	REPORT	Clear colorless liquid	CLEAR, COLORLESS LIQUID
ASSAY	%	98.5 Minimum	99.9000
COLOR	APHA	10 Maximum	5
DENSITY @ 25 DEG C	GM/ML	0.653 to 0.673	0.6640
EVAPORATION RESIDUE	%	0.001 Maximum	0.0002
IDENTIFICATION	PASS/FAIL	Pass test	PASS
SULFUR COMPOUNDS	%	0.005 Maximum	0.0020
THIOPHENE	PASS/FAIL	Pass test	PASS
WATER-SOL TITR ACID	MEQ/G	0.0003 Maximum	0.00010

CERTIFIED BY

Edgar E Hess
Lab Manager Fair Lawn

Joel Boland
Lab Manager BPF

Note: The data listed is valid for all package sizes of this lot of product, expressed as an extension of the catalog number listed above. If there are any questions with this certificate, please call Chemical Services at 1.800.227.6701.


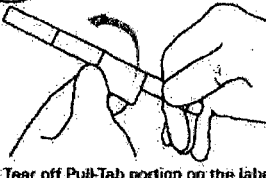

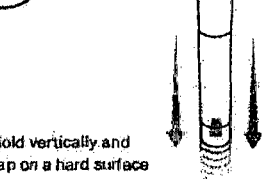

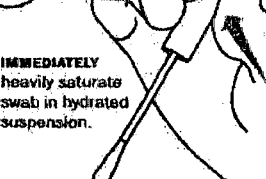

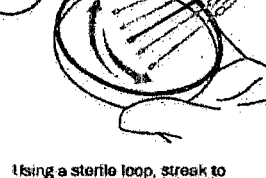

MicroBioLogics® Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specifications and Performance Upon Initial Release		
Specifications Microorganism Name: <i>Trichophyton rubrum</i> Catalog Number: 0444 Lot Number: 44469 Reference Number: ATCC® 28188™ Purity: Pure Recovery: > 100 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4 Expiration Date: 2011/02		Additional Information Release Information: Quality Control Technologist: Karla Fjeld Release Date: 2009-05-06 Disclaimer: Last digit(s) of the Lot Number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The actual Lot Number is the first 5 digits of the printed lot number for Catalog #'s of 0999 or less. The actual Lot Numbers for Catalog #'s 01000 and greater are the first 6 digits of the printed lot number.
Performance Macroscopic Features: Large, white colonies with "fuzzy" appearance and smaller, dark wine-red colonies which turn white with dark wine-red reverse as culture ages, may be present. Microscopic Features: Microconidia are abundant; macroconidia are rare. Microconidia are thin, clavate, borne laterally on undifferentiated hyphae or on short stalks. Macroconidia are typically long, narrow, cylindrical with rounded apices, 3-8 celled with thin smooth walls.		
Vitek Phenotypic Features		Other Features/Challenges: Results Dermatology Test Medium: positive (good growth at 7 days with agar turning deep pink)
Results		 AUTHORIZED SIGNATURE
Note For Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.		
 The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. MicroBioLogics, Inc. is licensed to use those trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.		
© 2010 MicroBioLogics, Inc. All Rights Reserved. 217 Casso Avenue North Saint Cloud, MN 56303		DOC-285 REVISION 2008:February28/ct/ml

KWIK-STIK™ and KWIK-STIK™ Plus microorganism preparations contain a lyophilized pellet of a single strain of microorganism. EZ-COMP™ microorganism preparations contain a defined mixed population of microorganisms.

KWIK-STIK™

Illustrated Instructions

Also for KWIK-STIK™ Plus & EZ-COMP™

<p>1</p>  <p>Tear open pouch at notch and remove the KWIK-STIK™.</p>	<p>2</p>  <p>Tear off Pull-Tab portion on the label and attach it to the primary culture plate or QC record.</p>	<p>3</p>  <p>Pinch (once only) just below the fluid meniscus of the ampule found in the cap to release the hydrating fluid.</p>
<p>4</p>  <p>Hold vertically and tap on a hard surface to facilitate flow of fluid through shaft into bottom of unit containing pellet.</p>	<p>5</p>  <p>Crush the pellet and mix in fluid using a pinching action.</p>	<p>6</p>  <p>IMMEDIATELY heavily saturate swab in hydrated suspension.</p>
<p>7</p>  <p>Inoculate the primary culture plate(s) by gently rolling the swab over one-third of the plate.</p>	<p>8</p>  <p>Using a sterile loop, streak to facilitate colony isolation.</p>	<p>9</p>  <p>Using proper biohazard disposal, discard the KWIK-STIK™.</p> <p>10</p> <p>IMMEDIATELY incubate the inoculated primary culture plate(s).</p>

MicroBiologics®

Page 1 of 1
LIT-045 REVISION 02/03 NOV. 25

ANEXO N° 22



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 264-2010

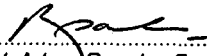
Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M - 47 - 2010	
Especie	: <u>Mus musculus</u>	Cantidad	: 40	
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 25 a 32 días	
Peso	: 15 a 24 gr.	Sexo	: Machos	
B.V. N°	: 004:13071	G.R. 022584	Destino	: Hugo Cáceres Inocencio Cusco
Fecha	: 15-11-10			

El Médico Veterinario, que suscribe, **Arturo Rosales Fernández**, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

*Referencia : P.R.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 15 de Noviembre del 2010
(Fecha de emisión del certificado)

NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.


M.V. Arturo Rosales Fernández
C.M.V.P. 1586