

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA IN VITRO DE
UNA TINTURA ELABORADA CON OLEORRESINA DE EUCALIPTO
(*Eucalyptus citriodora*)

Trabajo de Graduación presentado por:

Romilia Esperanza Martínez Guerrero
Mercedes Tatiana Quinteros Pérez

Para optar al grado de:

Licenciada en Química y Farmacia

Junio 2003

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA



© 2001, DERECHOS RESERVADOS

Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador

SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rectora

Dra. María Isabel Rodríguez

Secretaria General

Lic. Lidia Margarita Muñoz Vela

Facultad de Química y Farmacia

Decana

Lic. María Isabel Ramos de Rodas

Secretaria

Lic. Ana Arely Cáceres Magaña

COMITÉ DE TRABAJOS DE GRADUACIÓN

Coordinadora General de Procesos de Graduación

Lic. María C. Odette Rauda A.

Coordinadora de Area: Gestión Ambiental – Toxicología y Química Legal

Lic. María Luisa Ortíz de López

Coordinador de Area: Aprovechamiento de los Recursos Naturales

M.Sc. Armando Nelson Genovez Leonor

Docente Director

Lic. María Evelyn Sánchez de Ramos

Docente Director

Ing. Sergio Armando Maravilla Miranda

AGRADECIMIENTOS

A nuestros Docentes Directores:

Lic. María Evelyn Sánchez de Ramos e Ing. Sergio Armando Maravilla Miranda. Por su tiempo, apoyo, comprensión y paciencia; por habernos guiado en la realización de este trabajo hasta llevarlo a buen fin.

A la Coordinadora General y Coordinadores de Area:

Lic. María Odette Rauda, Lic. María Luisa Ortíz de López y M.Sc. Armando Nelson Genovez. Por su buena crítica y evaluación, las cuales ayudaron a mejorar este trabajo.

A todas las personas que de una u otra manera colaboraron en esta investigación.

Romi y Tatiana

DEDICATORIA

A Dios:

Por darme vida para realizar uno de mis mayores sueños, y sabiduría para hacer buenas elecciones, mil gracias.

A mis padres:

Matías y Marina, por sus enseñanzas, amor, paciencia y por confiar siempre en mi. Los amo, que Dios los bendiga.

A mi hermanita Marbelli:

Por su amor, paciencia y por estar conmigo en todo momento, que Dios te bendiga.

A mi novio Melvin:

Por todo su amor, apoyo y por hacer de mi vida algo maravilloso.

A Ana María y Jesús:

Por demostrarme su cariño y motivarme cada día a seguir adelante, gracias por sus oraciones.

A Tatiana:

Por su amistad, dedicación y entusiasmo para alcanzar este triunfo.

Romi

DEDICATORIA

A Dios:

Por permitirme la culminación de la carrera, por su paciencia y protección, por estar a mi lado en todo momento.

A mis padres:

María del Carmen Pérez y César Emilio Quinteros. Por el sacrificio de todos estos años. Por su preocupación, paciencia, amor y apoyo constante, sin los cuales nunca hubiera logrado las metas propuestas.

A mi hermana Carmen:

Por su ayuda incondicional en la realización de este trabajo. Mil gracias.

A mi hermano Pavlev:

Por motivarme siempre hacia la superación personal.

A mi novio Olman:

Por su amor, amistad y apoyo constante, por todos esos buenos momentos que te hacen la vida más feliz.

A Cristina:

Por su solidaridad y compañía.

A Romi:

Por su amistad y compañerismo a través de estos años de estudio

A mis profesores:

Por su paciencia y dedicación, por lo mucho que aprendí de ellos.

Tatiana

INDICE

	Página
I. Introducción	i
II. Objetivos	3
III. Marco Teórico	
3.0 El Eucalipto	4
3.1 El kino de Eucalipto	5
3.2 Relación entre la oleoresina de Eucalipto y el propóleos	7
3.3 Tinturas	9
3.4 Análisis Fitoquímico Preliminar	11
3.5 Micosis humanas	15
3.6 Generalidades sobre levaduras. <i>Candida albicans</i>	18
3.7 Generalidades sobre <i>Trichophyton</i> <i>mentagrophytes</i>	19
IV. Diseño Metodológico	
4.0 Investigación Bibliográfica	21
4.1 Metodología de Campo	21
4.2 Metodología de Laboratorio	
4.2.1 Características organolépticas	22
4.2.2 Preparación de la Tintura Madre	22

4.2.3	Parte Fitoquímica	23
4.2.4	Preformulación de tinturas	24
4.2.5	Ensayos microbiológicos	
4.2.5.1	Pruebas de identificación de <i>Candida albicans</i>	27
4.2.5.2	Pruebas de identificación de <i>Trichophyton mentagrophytes...</i>	27
4.2.5.3	Ensayos de susceptibilidad con agentes antifúngicos	28
V.	Resultados	30
VI.	Discusión de Resultados	37
VII.	Conclusiones	41
VIII.	Recomendaciones	43
	Bibliografía	
	Anexos	

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1: Resultados del Análisis Fitoquímico Preliminar	30
Tabla 2: Resultados de las Pruebas de Identificación de <i>Candida albicans</i>	31
Tabla 3: Resultados de la Evaluación Microbiológica en <i>Candida albicans</i>	32
Tabla 4: Diámetros de halos en Tintura al 30% con <i>Candida albicans</i>	33
Tabla 5: Resultados de las Pruebas de Identificación de <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	34
Tabla 6: Resultados de la Evaluación Microbiológica en <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	35

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Clasificación de las micosis humanas encontradas con mayor frecuencia y sus agentes etiológicos.

Anexo 2: Características clínicas de la infección por dermatófitos

Anexo 3: Fotografías de *Eucalyptus citriodora*

Anexo 4: Procedimiento de Pruebas Fitoquímicas

Anexo 5: Preformulación de Tinturas

Anexo 6: Pruebas de identificación de los microorganismos a ensayar

Anexo 7: Método Kirby Bauer Modificado

Anexo 8: Metodología General de Trabajo

Anexo 9: Resultados de Kirby Bauer Modificado en *Candida albicans*

Anexo 10: Fotografías de colonias de *Candida albicans* y

Trichophyton mentagrophytes

Anexo 11: Resultados Kirby Bauer Modificado en *Trichophyton*

mentagrophytes

Anexo 12: Materiales y Equipo

Anexo 13: Glosario

I. INTRODUCCIÓN

El alto porcentaje de incidencia de dermatomicosis y otras enfermedades causadas por hongos en El Salvador, constituye un problema de Salud Pública. En el país son frecuentes los dermatófitos a nivel de piel, pelo y uñas, en humanos y animales, presentando mayor prevalencia los de piel, como es el caso de las tiñas.

Son muchas las investigaciones realizadas sobre el eucalipto, principalmente de su aceite esencial extraído de las hojas, el cual tiene propiedades antifúngicas comprobadas. Sin embargo, la oleorresina exudada del tronco ha sido poco estudiada. Esta investigación aumenta los conocimientos que se tienen sobre una de las especies de eucalipto, el *Eucalyptus citriodora*, aportando información importante sobre la oleorresina que emana de su tronco.

El presente trabajo propone una nueva alternativa en el tratamiento de las dermatomicosis, a través de la comprobación de la actividad antimicótica de una tintura elaborada con oleorresina de Eucalipto (*Eucalyptus citriodora*).

El estudio comprendió el análisis fitoquímico preliminar de la oleorresina y la evaluación microbiológica, por el método Kirby Bauer Modificado, de tinturas de diferentes concentraciones. Se comprobó la acción antimicótica de la oleorresina al 30% con *Candida albicans* y al 30, 15 y 5% con *Trichophyton mentagrophytes*, ambos causantes frecuentes de dermatomicosis.

II. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Comprobar la actividad antimicótica in vitro de una tintura elaborada con oleorresina de Eucalipto (*Eucalyptus citriodora*).

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.1 Obtener una tintura madre al 30 % P/V a partir de la oleorresina de Eucalipto.

2.2 Analizar fitoquímicamente de forma preliminar la oleorresina por medio de pruebas químicas cualitativas realizadas en la tintura madre.

2.3 Preformular tinturas etanólicas de la oleorresina a diferentes concentraciones.

2.4 Evaluar el efecto antimicótico in vitro de las tinturas etanólicas por medio del método microbiológico Kirby Bauer Modificado, utilizando *Candida albicans* y *Trichophyton mentagrophytes*, y así evaluar la concentración inhibitoria a la cual actúa la tintura.

III. MARCO TEÓRICO

3.0 EL EUCALIPTO

El género *Eucalyptus*, que agrupa entorno a 600 especies. Pertenece a la familia *Myrtaceae*, subfamilia *Leptospermoidae*. Se trata de un género botánico muy rico y diverso. El árbol es originario de Australia, Tasmania y diversas islas de la zona. De sus lugares de origen ha sido distribuido artificialmente por todo el mundo, especialmente en zonas de clima mediterráneo, subtropical y tropical.

La altura del eucalipto es muy variable, existiendo eucaliptos arbóreos y otros arbustivos. Los más altos se encuentran en la especie *Eucalyptus regnans*. El tronco de los eucaliptos arbóreos puede ser recto o flexuoso. Muchas especies presentan una cepa fuertemente engrosada, formando un tubérculo leñoso de gran importancia en la regeneración y como reserva de nutrientes. La corteza del tronco adulto es un elemento importante de identificación. Puede ser persistente o caduca, y de diverso color, textura, grosor y constitución. El tamaño y forma de las hojas varían con la edad: cuando jóvenes son opuestas y oblongadas; cuando maduras son lanceoladas, estrechas, encorvadas, con numerosas glándulas oleíferas, las flores son globosas y las semillas negras redondeadas.²⁹

Un gran número de especies producen aceites esenciales. Los cuales tienen diferentes usos: medicinales, industriales y aromáticos, como el del *E.citriodora*.

El aceite medicinal de eucalipto es probablemente el antiséptico más poderoso de su clase. Tiene una gran acción desinfectante y estimulante. Se emplea en pastillas y jarabes para la tos, como antiséptico en gárgaras, pomadas y linimentos, y como ingrediente en inhalaciones usadas para aliviar la bronquitis y el asma.¹³

Eucalyptus citriodora:

Arbol de hoja perenne, de 24 a 40 metros de altura, con tronco recto de entre 0.6 y 1.3 metros de diámetro, de copa escasa y caída. Su tronco es liso, gris y se pela en escamas irregulares y delgadas. Las hojas del *Eucalyptus citriodora* producen un aceite rico en citronela, muy usado en perfumería. Su madera es buena para la construcción en general. El tronco puede contener más de un 12% de taninos. Este árbol ha sido reportado como antiséptico y fumigante.²⁵

3.1 EL KINO DE EUCALIPTO

El kino es el jugo obtenido del árbol por medio de incisiones longitudinales en el tronco, fluye abundantemente, tiene un color rojizo y cuando se seca con el sol se vuelve quebradizo, y es así, en masas irregulares que se recoge para su exportación. El Kino Malabar o del este de la India es el reconocido por la Farmacopea de Los Estados Unidos (USP); su fuente botánica es el *Pterocarpus marsupium* de la familia *Leguminosae*. Pero existen otras muchas exudaciones en el comercio conocidas como kino, derivadas de plantas

pertenecientes a órdenes muy diferentes. Por ejemplo, muchas especies de *Eucalyptus*, *Myristica*, etc. Dentro de las más importantes están el Kino africano, Dhak-tree kino, Botany Bay Kino, Jamaica kino y Kino del sur de América.

El Botany Bay Kino, Kino australiano o Kino de Eucalipto fue descrito por primera vez por White y Smith en 1790, como un jugo astringente procedente del árbol *Eucalyptus resinifera* de la familia *Myrtaceae*. La mayoría de especies de eucaliptos australianos son plantas resinosas, pero solo unas pocas tienen valor comercial, entre ellas el *Eucalyptus rostrata* el cual produce Kino goma roja o Goma roja (Red gum kino o Red gum). Los especímenes comerciales producen cerca del 47% de ácido tánico. La turbidez observada con algunos de los kinos de eucalipto australianos al disolverse en alcohol o agua se debe a la presencia de dos sustancias cristalizables, *eudesmina* y *aromadendrina*.²⁷

Según la Farmacopea Británica (BP), la Goma roja o Goma de eucalipto es la exudación procedente del tronco de *Eucalyptus rostrata* y de otras especies de eucalipto. Siendo el constituyente principal el ácido kinotánico (47% aproximadamente) y usado como astringente en la garganta.²⁶

3.2 RELACION ENTRE LA OLEORRESINA DE EUCALIPTO Y EL PROPOLEOS

Durante la investigación se observó la presencia de abejas *Meliponas*, variedad *Maltatilla*, comúnmente llamadas “Chumelitas”, rondando la oleorresina exudada de los árboles de donde se extrajo la muestra.

Es ampliamente sabido que las abejas recogen el propóleos de los brotes jóvenes terminales de los árboles, entre ellos el Eucalipto²³, y también de las fracturas, golpes y otras lesiones que sufren éstos, de donde brota la resina, la cual es mezclada con la ayuda de sus secreciones salivares, para transformarla en propóleos propiamente dicho.

El propóleos de colmena es una sustancia resinosa, balsámica, gomosa, de consistencia viscosa y color verde, pardo, castaño, rojizo o incluso casi negro (dependiendo de su origen botánico), sabor acre, frecuentemente amarga, y olor agradable y dulce. Este producto es muy apreciado por su propiedad antiinflamatoria, antitóxica, antiséptica, estimulante, antioxidante, bacteriostática, bactericida, anestésica, antifúngica y cicatrizante. Además de su amplio uso en la medicina humana y veterinaria, se le emplea en agricultura, apicultura, ebanistería y conservación de alimentos.¹⁰

Usos por la colmena:

Las abejas utilizan el propóleo con fines múltiples:

- Cerrar las grietas de la colmena
- Reducir al mínimo las vías de acceso
- Embalsamar los cadáveres de los enemigos que se hayan introducido en la colmena.
- Barnizar el interior de la colmena con fines desinfectantes.
- Evitar las vibraciones de los panales.

Composición del propóleo:

Generalmente el propóleo de la colmena está compuesto por:

- Resinas y bálsamos aromáticos: 50-80 %
- Aceites esenciales y otras sustancias volátiles: 4.5 – 15 %
- Ceras: 12 – 50 %
- Sustancias tánicas: 4 – 10.5 %
- Impurezas mecánicas: menos del 15 %
- Polen: 5 – 11 %

En el propóleo hay más de 160 componentes identificados: flavonas, flavonoles, flavononas, dihidroflavononas, derivados del alcohol bencílico, benzaldehído y ácido benzóico, derivados del alcohol cinámico, cumarinas, triglicéridos fenólicos, otros elementos aromáticos, un monoterpeno,

hexaterpenos, triterpenos, esteroides, ácidos grasos o alifáticos, carbohidratos, polisacáridos, vitaminas y otros compuestos. La composición varía con las diferentes regiones geográficas y climáticas, y sobre todo con las fuentes vegetales.

La defensa antimicrobiana de las plantas es el principio general que explica la naturaleza antimicrobiana del propóleo. Las abejas lo utilizan para barnizar el interior de la colmena con fines desinfectantes. El propóleo no es un accidente de la naturaleza, sino un agente protector y medicinal desarrollado por los árboles durante millones de años.¹⁰

De lo anterior se explica la relación entre la acción antifúngica de la oleoresina de Eucalipto y el propóleo. En base a esta acción antifúngica de la oleoresina de Eucalipto se elaboraron tinturas de oleoresina y demostró científicamente.

3.3 TINTURAS

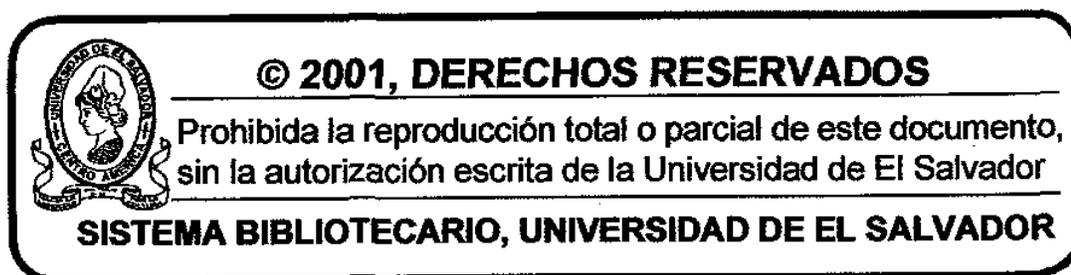
Las tinturas son soluciones alcohólicas o hidroalcohólicas preparadas de materiales vegetales o sustancias químicas.²⁰ Las sustancias contenidas en las drogas se ponen en solución mediante el disolvente y están presentes en las tinturas en diferentes concentraciones. La composición del complejo extractivo se rige por la solubilidad de cada una de las sustancias en el disolvente. La solubilidad de los sólidos crece en la mayor parte de los casos con la

temperatura, por lo que en la preparación debe tenerse en cuenta ésta. Las turbiedades que aparecen en el caso de almacenamiento en frío, no tienen influencia en la mayor parte de los casos sobre la actividad, sino que hay que referirla solamente a la diferencia de temperatura entre la preparación y el almacenamiento.²

Los procedimientos de extracción usuales para la preparación de tinturas son tres, que pueden ser variados en caso de necesidad: la maceración, la percolación y la turboextracción.

La maceración, en frío (a temperatura ambiente) o en caliente, es un contacto prolongado de la droga con el disolvente. A la droga triturada se le añade el disolvente y se macera durante siete días removiendo repetidas veces. El líquido se separa del residuo por filtración y éste se lava con suficiente medio de extracción para que al final se obtenga la cantidad prescrita.²

Las tinturas deben exhibir el contenido prescrito en etanol. Las tinturas deben ser transparentes y han de almacenarse en lugar fresco y protegido de la luz.



3.4 ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

El análisis fitoquímico preliminar se compone de pruebas químicas que consisten en la evaluación cualitativa (por cambios de coloración) de factores antinutricionales (metabolitos secundarios o principios activos) como son los glicósidos saponínicos, flavonoides, antraquinonas, taninos, alcaloides, sesquiterpenlactonas y glicósidos cardiotónicos.

3.4.1. GENERALIDADES DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS

– TANINOS

Los taninos son el resultado de la combinación de un fenol y un azúcar. Tienen gusto amargo y suelen acumularse en las raíces, cortezas y en menor medida en las hojas de las plantas. Tienen la capacidad de precipitar proteínas y por ello son comúnmente usados en la clarificación del vino y en el curtido de pieles. También son conocidos por su poder astringente, usándose en la cicatrización de heridas, sobretodo administrados en forma de cataplasmas. Además los taninos pueden atenuar la toxicidad de un envenenamiento por alcaloides ya que tienen la propiedad de precipitarlos. Estas virtudes se deben a la propiedad que tienen de combinarse con otras sustancias (proteínas, fibras, alcaloides, etc) para originar reacciones fenólicas.

Otros empleos: Antidiarreicos, cicatrizantes, antídotos de intoxicaciones por metales pesados y alcaloides, antisépticos: bactericidas, bacteriostáticos y antifúngicos, hipocolesterolemiantes, antioxidantes.³³

– FLAVONOIDES

Mayoritariamente son O-heterósidos (azúcar y aglicón unidos a través de un oxígeno.) Grupo importante de pigmentos amarillos muy extendidos en la naturaleza. Se distribuyen en quince familias de compuestos, siendo las más importantes las siguientes: flavonas, flavonoles, flavononas, isoflavonas, isoflavononas, chalconas, auronas y antocianinas. Se encuentran de forma general en todas las plantas vasculares, bajo la forma libre o en forma de glucósidos. Estos últimos contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas. Las agliconas son más frecuentes en los tejidos leñosos. Hay poco más de 40 C-glicosilflavonoides que también contribuyen a darle color a numerosos vegetales.⁶ Algunos de ellos son buenos antioxidantes (se usan en la conservación de algunos alimentos), otros tienen propiedades antibióticas, antivirales y antidiuréticas.²

– GLICÓSIDOS SAPONÍNICOS

Se trata de O-heterósidos Son sustancias capaces de formar espuma persistente con el agua y que logran emulsionar el aceite con el agua. Algunas de las plantas que contienen saponinas no son del todo inofensivas, pues pueden llegar a irritar el tubo digestivo. Además debido a su acción hemolítica, también se revelan muy tóxicas si se inyectan directamente al torrente circulatorio. Se utilizan como mucolíticos y expectorantes, pues aclaran el mucus denso facilitando su expulsión y consiguen que el nuevo mucus que se

forme fluya fácilmente. También poseen propiedades diuréticas y depurativas, muy útiles en caso de edemas.³³

– GLICOSIDOS CARDIOTONICOS

También se trata de O-heterósidos. Todos ellos están dotados de una gran actividad biológica, principalmente sobre el corazón y los vasos sanguíneos. La posible toxicidad de este tipo de sustancias dependerá de diferentes factores como su absorción, acumulación, eliminación etc. Se utilizan como cardiotónicos en alteraciones cardíacas diversas.²⁸

– GLICÓSIDOS ANTRAQUINÓNICOS

Incluye O-heterósidos y C-heterósidos (éstos últimos con enlace carbono – carbono entre el azúcar y el aglicón). Su acción más específica es la de estimular la musculatura lisa del intestino, produciendo peristaltismo. A la vez, inhiben la reabsorción de agua a través del intestino grueso, lo cual llega a ocasionar una mayor dilución del contenido intestinal. En conjunto producen un claro efecto laxante que se manifiesta después de unas 6 ó 7 horas. Las plantas que contienen antraquinonas se comportan como laxantes o purgantes según la dosis. Este tipo de laxantes están contraindicados en casos de embarazo, menstruación y hemorroides.²⁸

– SESQUITERPENLACTONAS

Los sesquiterpenos son productos que se sintetizan mediante la condensación de 3 moléculas de pirofosfato de isoprenilo o pirofosfato de isopentilo formando productos de 15 átomos de carbonos. Se han encontrado principalmente en extractos de flores o partes aéreas de las compuestas y en algunas umbelíferas. Algunas sesquiterpenlactonas poseen acción citotóxica, otras son analgésicas o antimicrobianas. Son sustancias amargas, de farmacología poco estudiada.⁶

– ALCALOIDES

Son sustancias heterocíclicas que contienen nitrógeno en su molécula, lo cual les proporciona propiedades básicas. Los alcaloides fueron los primeros principios activos que se lograron aislar de las plantas. Se trata de sustancias biológicamente muy activas. Existe una gran variedad de estructuras químicas dentro de los alcaloides y ésta es la causa de la gran variedad de acciones farmacológicas que pueden ejercer. Los alcaloides son muchos y muy variados. Por ejemplo: morfina, cocaína, teobromina, cafeína, atropina, pilocarpina, ergotamina, colchicina etc.²⁸

3.5 MICOSIS HUMANAS

Se conocen miles de especies de levaduras y mohos, pero solo alrededor de 100 de éstas son patógenas para el hombre o los animales. Los dermatófitos y especies de *Cándida* son los únicos que se transmiten en forma común de un ser humano a otro.¹¹ Las infecciones micóticas humanas se agrupan en micosis superficiales, cutáneas, subcutáneas y profundas o sistémicas.

(Ver Anexo 1)

Las micosis sistémicas son enfermedades producidas principalmente por hongos y algunos actinomicetos; frecuentemente son muy graves o mortales. Los microorganismos invaden tejidos subcutáneos o los pulmones y desde allí se diseminan a otros órganos donde se establecen y producen enfermedad.¹⁴

Las manifestaciones cutáneas de las enfermedades micóticas son variadas. Ciertos hongos afectan solo al estrato córneo y rara vez invaden tejidos más profundos. Lesiones escamosas superficiales, variadas en tamaño, forma y color; localizadas en tórax o espalda sugieren tiña versicolor. Los hongos dermatofíticos superficiales del género *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton* producen más habitualmente prurito y lesiones escamosas conocidas como tiñas (pedis, cruris, corporis, capitis, barbae, unguium etc.). Lesiones costrosas, escamosas confinadas a áreas intertriginosas y húmedas de la piel (entre los dedos de las manos o pies o en los pliegues submamaros)

sugieren infección por levadura con especies de *Candida*. Como los hongos dermatofíticos, la candidiasis causa también lesiones ungueales.¹²

Tinea capitis: Tiña del cuerpo cabelludo. Pueden observarse de varios tipos dependiendo del microorganismo. Lesiones grises por *Microsporum audouini* o *Microsporum canis*. Infección inflamatoria por *Trichophyton mentagrophytes*, de origen animal. Tiña de puntos negros y masas exofíticas fúngicas por *T. tonsurans*.¹²

Tinea corporis: Tiña del cuerpo. *Trichophyton rubrum* y *T. mentagrophytes* son los agentes causales más comunes de lesiones anulares típicas de la piel de las partes lisas del cuerpo, con borde extendido y hemorrágico.

Tinea barbae: Tiña del área barbada. El agente más común es el *Trichophyton mentagrophytes* y las lesiones tienden a ser inflamatorias.

Tinea cruris: Tiña de la ingle. Las lesiones tienden a ser circundadas, con márgenes inflamatorios vesiculares que se extienden, causadas con mayor frecuencia por *Epidermophyton floccosum*.

Tinea pedis: Tiña de los pies. (Pie de atleta). Esta es la infección más común en los humanos; de manera típica se manifiesta con lesiones pruriginosas,

escamosas o secretantes en las plantas de los pies o en los pliegues interdigitales y ocurre con mayor frecuencia durante las épocas calurosas y húmedas del año. Los dermatófitos relacionados más a menudo son *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* y *E. floccosum*.

Tinea unguium: Tiña de las uñas. Producida por los mismos hongos dermatófitos que causan la tiña de los pies. Produciendo engrosamiento y cambio de color en la uña.⁹ (Ver Anexo 2)

Tratamiento: La mayoría de las víctimas de estas enfermedades se automedican con preparados que contienen astringentes (alcohol, ácido tánico etc.), queratolíticos (ácido salicílico, ácido benzoico etc.), sales de ácidos grasos (propionato de sodio, ácido undecilénico, undecilinato de zinc etc.) y antisépticos (violeta de genciana, timol, yodo etc.) Otra opción son los antimicóticos como: clotrimazol, griseofulvina, ketoconazol, miconazol, nistatina etc.¹⁸ En muchas ocasiones los medicamentos antes mencionados no ejercen el efecto deseado o tienen desagradables efectos secundarios que ocasionan el abandono de los tratamientos, por lo que las infecciones se quedan sin curar, empeorando la salud de los pacientes.

3.6 GENERALIDADES SOBRE LEVADURAS. *Cándida albicans*.

Durante muchos siglos el hombre ha utilizado las levaduras para fermentar jugos de frutas o pan. Su importancia es aún mayor en la actualidad porque se utilizan en muchos procesos fermentativos y para sintetizar algunas vitaminas, grasas y proteínas a partir de azúcares simples y amoníaco. También han contribuido al progreso científico, por ser un buen modelo para el estudio de los procesos bioquímicos y metabólicos básicos de las células eucarióticas.¹⁴

Las levaduras se encuentran muy difundidas en la naturaleza y son diseminadas por los insectos o el viento. La mayor parte son saprófitas que viven sobre la materia orgánica muerta, pero algunas son parásitas dependientes de huéspedes vivos o son parásitas facultativas u obligadas que producen enfermedades en las personas, animales o plantas.

Las levaduras al igual que los mohos son hongos, pero se distinguen de los mohos porque su forma dominante es unicelular, por ello se reproducen más rápidamente que los mohos filamentosos. Son microorganismos eucarióticos, con facilidad se diferencian de la mayor parte de bacterias por su tamaño relativamente grande y su morfología microscópica. Generalmente son ovoides, aunque también hay esféricas y alargadas. No tienen flagelos u otros organelos de locomoción. Se reproducen por esporulación, gemación o fisión. Lo más común es por gemación.¹⁴

Cándida albicans

Miembro de la flora normal de las mucosas en los aparatos respiratorio, digestivo y genital femenino. En tales lugares puede ganar dominio y relacionarse con otras enfermedades. Algunas veces produce enfermedad general progresiva en enfermos debilitados o con inmunosupresión. Entre los principales factores predisponentes a la infección por *C. albicans*, se encuentran los siguientes: diabetes sacarina, debilidad general, inmunodeficiencia, cateterismo urinario o intravenoso, la administración de antibioticoterapia (que altera la flora bacteriana normal) y los corticosteroides.¹¹

Tratamiento para las infecciones comunes causadas por C.albicans: El ketoconazol ha producido una notable mejoría en algunas infecciones sistémicas, en especial la candidiasis mucocutánea. Un tratamiento eficaz ampliamente aceptado es la Anfotericina B por vía intravenosa.⁸ En vulvovaginitis se utiliza clotrimazol.

3.7 GENERALIDADES SOBRE *Trichophyton mentagrophytes*

Es un moho dermatofítico que puede infectar piel, pelo y uñas de humanos y animales, produciendo una variedad de infecciones cutáneas, mejor conocidas como tiñas. Es una de las seis especies causantes de casi todas las infecciones dermatofíticas humanas producidas en los Estados Unidos¹, por lo que hay que

prestarle un especial interés. Además es uno de los principales causantes de la tiña de los pies o Pie de atleta.

Morfología colonial: este hongo produce diferentes variantes coloniales, sin embargo, se reconocen solo dos patrones básicos, veloso y granular. El primero tiene mayor tendencia a asociarse con dermatosis inflamatorias en humanos. En general el color es blanco a rosado, algunas cepas producen pigmento rojo-marrón.¹

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.0 Investigación Bibliográfica.

- Se realizaron consultas de libros, tesis, revistas, manuales etc. en las bibliotecas de la Facultad de Química y Farmacia y Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador (UES).
- Investigación en Internet, mediante computadora personal y en la Biblioteca Central, Universidad de El Salvador (UES).
- Consultas a docentes directores, y otros docentes entendidos en la materia, de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador (UES).
- Visita a la Sociedad Cooperativa de Apicultores de El Salvador (SCAES).

4.1 Metodología de campo

La oleorresina se recolectó directamente del tronco de los árboles de Eucalipto localizados en la parte oriente de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador (*Ver Anexo 3*). La muestra se recolectó en frascos de vidrio con tapadera de metal y se almacenó en un lugar fresco, seco y protegido de la luz.

Al mismo tiempo se procedió a la toma de muestras de hojas, flores y fruto de los mismos árboles de donde se recogió la oleorresina, con el fin de investigar la especie del árbol en cuestión. Las muestras recogidas se llevaron al “Jardín

Botánico de La Laguna” (ubicado en la Urbanización La Laguna, Antigua Cuscatlán, La Libertad), donde el herbólogo del centro* determinó que el árbol de donde se extrajo la oleorresina era de la especie *Eucalyptus citriodora*.

4.2 Metodología de laboratorio

4.2.1 Caracterización organoléptica.

Se determinaron las características organolépticas de la oleorresina: color, olor, sabor y consistencia.

4.2.2 Preparación de la tintura madre.

Para la preparación de 1 litro de tintura madre al 30 % P/V se siguió la siguiente técnica:

- Eliminar todo tipo de impurezas (insectos, restos de madera, material vegetal u otras partículas extrañas etc.)
- Pulverizar en un mortero la oleorresina cristalizada
- Pesar 300 g de oleorresina en balanza granataria
- Agregar la oleorresina en un vaso de precipitados previamente calibrado a 1000 mL
- Verter poco a poco el alcohol etílico 93° GL agitando constantemente

* Lic. Rubén Carvallo González

- Llevar a volumen con alcohol etílico 93° GL y agitar bien
- Almacenar en frasco de vidrio ámbar ajustado en un ambiente fresco
- Dejar en reposo durante 7 días, agitando media hora cada día
- Filtrar con papel filtro (Whatman # 4) y envasar en un frasco de vidrio ámbar ajustado, almacenar en un lugar fresco y seco.

4.2.3 Parte Fitoquímica

Se realizaron pruebas químicas cualitativas a partir de la tintura madre al 30% P/V, para identificar la presencia de algunos principios activos:

- Glicósidos saponínicos: Liebermann-Burchard, Salkowski, Método de la espuma.
- Glicósidos cardiotónicos: Legal, Keller Killiani, Kedde, Liebermann-Burchard.
- Glicósidos flavonoides: Shinoda.
- Glicósidos antraquinónicos: Prueba de Bornträger.
- Taninos: cloruro férrico, solución de gelatina, solución de cafeína, agua de bromo, subacetato de plomo, dicromato de potasio y clorhidrato de quinina.
- Alcaloides: Dragendorff, Mayer, Wagner y Hager
- Sesquiterpenlactonas: Legal y Baljet.

(Ver Anexo 4)

4.2.4 Preformulación de tinturas

Obtención de tinturas al 15 % y 5 % (P/V):

Las pruebas microbiológicas se realizaron con tinturas de oleorresina a tres diferentes concentraciones: 30%, 15% y 5%. La tintura al 30% es la misma que la tintura madre, por lo que solo fue necesario preparar las de 15% y 5%.

Procedimiento y Cálculos:

A partir de la tintura madre se procedió a realizar diluciones con alcohol etílico y agua para obtener tinturas al 15% y 5% de oleorresina. Para calcular la cantidad de Tintura Madre de la que se partió se utilizó la fórmula:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

– Tintura al 15 %

Cálculos:

$C_1 = 30\%$ (Concentración de oleorresina en la Tintura Madre)

$V_1 = X$ (Volumen de Tintura Madre necesario)

$C_2 = 15\%$ (Concentración de oleorresina deseada)

$V_2 = 150 \text{ mL}$ (Volumen de Tintura al 15% deseado)

$$C_1V_1 = C_2V_2.$$

$$V_1 = \frac{C_2V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{(15\%)(150 \text{ mL})}{(30\%)} = 75 \text{ mL de Tintura Madre}$$

El porcentaje de alcohol deseado para las tinturas diluidas es de 50% V/V. Para saber la cantidad de agua y alcohol que se debe agregar, primero se debe conocer la cantidad de alcohol que se lleva en los 75 mL de Tintura Madre. Se debe tener en cuenta que el grado alcohólico del alcohol utilizado es 93°.

93 mL de alcohol ----- 100 mL de Tintura Madre

X mL de alcohol ----- 75 mL de Tintura Madre

X = 69.75 mL de alcohol contienen los 75 ml de Tintura Madre

Para tener 50% de alcohol:

50 mL de alcohol ----- 100 mL Tintura

X mL de alcohol ----- 150 mL Tintura

X = 75 ml de alcohol son los necesarios para tener 150 ml de Tintura con 50% de alcohol.

75 mL alcohol - 69.75 mL alcohol = 5.25 mL alcohol se agregarán.

75 mL tintura + 5.25 mL alcohol = 80.25 mL solución

150 mL – 80.25 mL = 69.75 mL de agua destilada

Resumiendo: Volúmenes a usar para la elaboración de 150 ml de Tintura al 15% de oleorresina con 50% de alcohol:

- 75 mL de Tintura Madre
- 5.25 mL de alcohol 93°
- 69.75 mL de agua destilada

Preparación de la tintura al 15%:

- a) Medir 75 mL de Tintura Madre en probeta de 100 ml
- b) Verter en un beaker de 250 mL
- c) Agregar los 5.25 mL de alcohol 93° y mezclar con agitador de vidrio
- d) Incorporar la fase alcohólica sobre los 69.75 ml de agua (fase acuosa) poco a poco y con agitación constante. Previamente a este paso se realizaron microensayos para determinar qué fase se debía agregar sobre cuál, y mantener la transparencia de la solución.
- e) Agitar bien y filtrar en embudo corriente con papel filtro (Whatman # 4)
- f) Envasar en frasco ámbar y almacenar en un lugar fresco y seco

- Tintura al 5 %

Los cálculos y la forma de preparación se realizaron de igual manera que la tintura al 15%. Volúmenes a usar para la elaboración de 150 ml de tintura al 5 % de oleorresina con 50 % de alcohol:

- 25 mL de Tintura Madre
- 51.75 mL de alcohol 93°
- 73.25 mL de agua destilada

4.2.5 Ensayos Microbiológicos

La cepa original de *Candida albicans* (proporcionada por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador) y la cepa original de *Trichophyton mentagrophytes* (proporcionada por la Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador) se resembraron en tubos de agar Sabouraud inclinado, para obtener un mayor crecimiento. De este crecimiento se realizaron las pruebas de identificación.

4.2.5.1 Pruebas de Identificación para *Candida albicans*:

- (1) Morfología de las colonias en agar Sabouraud.
- (2) Morfología microscópica con tinción al Gram y
- (3) Formación de clamidosporas en agar Harina de maíz.¹²

4.2.5.2 Pruebas de identificación para *Trichophyton mentagrophytes*:

- (1) Morfología de las colonias en agar Sabouraud.
- (2) Morfología microscópica y
- (3) Prueba del cebo de pelo.^{12, 1} (Ver Anexo 6)

A continuación se realizó una nueva resiembra de ambos microorganismos para evitar su muerte.

4.2.5.3 Ensayos de susceptibilidad microbiana con agentes antifúngicos.

Método Kirby Bauer Modificado:

Este método se basa en la difusión del antimicótico desde un cilindro vertical hacia el agar solidificado en la caja de petri, en una extensión tal que el crecimiento del microorganismo es inhibido enteramente en un área circular alrededor del cilindro conteniendo la solución.¹⁴

a) Preparación de la suspensión del hongo

Para el ensayo microbiológico se preparó una suspensión de hongo en 10 mL de solución salina con una turbidez comparada al patrón nefelométrico Mac Farland de 0.5%, el cual se preparó así: 0.05 mL de BaCl_2 + 9.95 mL de H_2SO_4 . Obteniéndose una densidad celular aproximada de 1.5×10^8 mo / mL (microorganismos / mililitro).

b) Siembra del microorganismo de prueba

Se siembra por hisopado el hongo en placas de petri con agar Sabouraud, humedeciendo el hisopo en la suspensión previamente preparada y extendiendo el líquido por toda la placa.

c) Inoculación con la solución de prueba

Se colocan 4 cilindros de acero inoxidable en cada placa de petri, a intervalos de 90° entre cada uno, y se llenan con la solución de prueba utilizando una micropipeta.

d) Incubación y lectura

Se incuban las placas a temperatura ambiente por cinco días. Posteriormente se observa la formación de halos de inhibición alrededor de los cilindros; se miden los halos con regla.

El *procedimiento* detallado anteriormente fue aplicado por separado para ambos microorganismos, primero con *Candida albicans* y después con *Trichophyton mentagrophytes*, con el fin de evitar contaminaciones cruzadas. (Ver Anexo 7)

El número de placas a ensayar para cada microorganismo fue el siguiente:

- Tintura al 30%: 10 placas
- Tintura al 15%: 10 placas
- Tintura al 5%: 10 placas
- Solución patrón: 3 placas
- Blanco de alcohol 93°: 3 placas
- Blanco de alcohol 50°: 3 placas
- Placa control del crecimiento: 1 placa

Ver resumen “Metodología General de Trabajo” en (Anexo 8)

V. RESULTADOS

5.0 Resultados del Análisis Fitoquímico Preliminar

A continuación se presentan los datos obtenidos de las pruebas químicas cualitativas realizadas en la tintura madre.

Tabla 1

SUSTANCIA	PRUEBA	RESULTADO
Glicósidos saponínicos	Liebermann-Burchard	+
	Salkowski	+
	Prueba de la espuma	-
Flavonoides	Prueba de Shinoda	+
Glicósidos antraquinónicos	Bornträger	+
Glicósidos cardiotónicos	Keller Killiani	+
	Liebermann-Burchard	+
	Kedde	+
	Legal	+
Sesquiterpenlactonas	Baljet	+
	Legal	+
Taninos	Gelatina	+
	Tricloruro de hierro	+
	Subacetato de plomo	+
	Agua de bromo	+
	Dicromato de potasio	+
	Cafeína	+
	Clorhidrato de quinina	+
Alcaloides	Dragendorff	-
	Mayer	-
	Wagner	-
	Hager	-

5.1 Resultados de la evaluación microbiológica.

Tabla 2: Resultados de las Pruebas de Identificación de *Candida albicans*

Prueba	Resultados
Morfología de las colonias	En agar sabouraud: colonias blandas circulares de color crema y con olor característico a levadura. Con el tiempo se vuelven amarillentas. Prueba (+)
Características microscópicas	Tinción Gram: microorganismos gram + , coloración morada, ovalados y algunos en gemación. Prueba (+)
Otras caraterísticas	En agar Harina de maíz: Formación de clamidosporas típicas de <i>C.albicans</i> . Prueba (+)

Se identificó el microorganismo como *Candida albicans*, por dar positivo en las tres pruebas realizadas, la cepa analizada es pura no contiene contaminación.

Tabla 3: Resultados de la Evaluación Microbiológica: Método Kirby Bauer
Modificado en *Candida albicans*

Solución de prueba	Lectura de placas
Tintura 30 %	Formación de halos de entre 10 y 18 mm de diámetro. MO sensible.
Tintura 15 %	No hay formación de halos. Crecimiento en toda la placa. MO resistente
Tintura 5 %	No hay formación de halos. Crecimiento en toda la placa. MO resistente
Patrón: Yodo 2 %	Inhibición total del crecimiento en toda la placa. MO sensible
Blanco: Alcohol 93°	No hay formación de halos. Crecimiento en toda la placa. MO resistente
Blanco: Alcohol 50°	No hay formación de halos. Crecimiento en toda la placa MO resistente
Placa Control del crecimiento	Crecimiento total de la placa. Colonias color crema circulares.

MO = Microorganismo

SENSIBLE: Formación de halo de inhibición alrededor del cilindro

RESISTENTE: No hay formación de halo de inhibición alrededor del cilindro.

Con la Tintura al 30% se obtuvieron halos de inhibición claros y bien definidos.

Estos son los datos obtenidos de las mediciones de los halos:

Tabla 4: Diámetros de halos en Tintura al 30% con *Candida albicans*

Valores obtenidos de la medición de los halos formados alrededor de los 4 cilindros de cada una de las diez placas utilizadas.

Tabla 4

Placa #	Diámetro de halos (mm) de los 4 cilindros de cada placa			
1	10	10	11	12
2	10	12	12	13
3	12	13	13	14
4	12	10	14	17
5	10	10	15	18
6	16	15	15	15
7	17	17	17	17
8	18	17	10	11
9	12	13	12	14
10	18	18	17	16

Tabla 5: Resultados de las Pruebas de Identificación de *Trichophyton mentagrophytes*

Prueba	Resultados
Morfología de las colonias	En agar Sabouraud: Colonias vellosas color blanco, aspecto de algodón. Prueba (+)
Características microscópicas	Tinción con lactofenol azul algodón: Microconidias en forma de racimo de uva. Prueba (+)
Otras caracteísticas	Prueba de la carnada de pelo: La cutícula del pelo se observa invadida en forma cónica. Prueba (+)

Se identificó el microorganismo como *Trichophyton mentagrophytes*, por dar positivo en las tres pruebas realizadas, la cepa analizada es pura no contiene contaminación.

Tabla 6: Resultados de la Evaluación Microbiológica: Método Kirby Bauer

Modificado en *Trichophyton mentagrophytes*

Solución de prueba	Lectura de placas	Nº colonias encontradas
Tintura 30 %	No hay formación de halos circulares definidos. Se observan grandes zonas de inhibición del hongo en toda la placa, con pequeñas colonias aisladas de <i>T. mentagrophytes</i> en número que varía de una placa a otra. Este crecimiento no homogéneo del hongo se debió a la naturaleza filamentosa de éste.	Entre 1 – 9 colonias / placa
Tintura 15 %		Entre 1 – 6 colonias / placa
Tintura 5 %		Entre 10-15 colonias / placa
Patrón: Yodo 2 %		Entre 1 – 9 colonias / placa
Blanco: Alcohol 93°	No existe inhibición del hongo. Se observa crecimiento de <i>T. mentagrophytes</i> en toda la placa, más abundante contaminación por otros hongos	
Blanco: Alcohol 50°		
Placa Control del crecimiento	Incontables colonias vellosas circulares y de color blanco cubriendo la totalidad de la placa.	

NOTA:

- 1) En las placas de Tintura al 30%, 15% y 5%, de ambos microorganismos, quedaron residuos en el fondo de los cilindros, lo que impidió la total difusión de la tintura sobre el agar.

- 2) Se observó escasa contaminación por otros hongos en las placas con Tintura al 30, 15 y 5 %, de *T. mentagrophytes*, en su mayoría colonias verdes, posiblemente de *Penicillium sp*; también se observaron colonias rojas y amarillas de origen desconocido, en menor cantidad.

- 3) La contaminación de las placas con los dos blancos de alcohol, de *T. mentagrophytes*, fue abundante, encontrando colonias de color verde, amarillo, rojo, rosa y beige.

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La tintura madre al 30% producto de la maceración etanólica de la oleorresina produjo un sedimento con el tiempo, el cual se debió a una sobresaturación de la solución, cierta cantidad de oleorresina no disuelta acompañada de posibles impurezas no retenidas por el papel filtro.

Resultados del Análisis Fitoquímico Preliminar

La solución madre de alta concentración de oleorresina se utilizó para el análisis fitoquímico preliminar, en el que se realizaron pruebas químicas cualitativas para la identificación de sustancias activas:

Glicósidos saponínicos: Las pruebas de Salkowski y Liebermann-Burchard dieron positivas, lo que confirma la presencia de la base esteroideal del ciclopentanoperhidrofenantreno, pero debido a que la Prueba de la espuma dio negativa se confirma la ausencia de saponinas en la oleorresina, por ser ésta prueba clave en la detección de las saponinas. La presencia de la base esteroideal se debe a los glicósidos cardiotónicos encontrados.

Para flavonoides, antraquinonas, glicósidos cardiotónicos, sesquiterpenlactonas y taninos todas la pruebas realizadas dieron positivas, por lo que no hay duda de que se encuentran presentes en la oleorresina de eucalipto, no así para los

alcaloides donde las cuatro pruebas dieron negativas, lo que indica que no hay alcaloides en la oleoresina o que se encuentran en una concentración tan baja que un análisis cualitativo como el realizado no los puede detectar.

Una vez hecho el análisis fitoquímico preliminar se prepararon las tinturas al 15% y 5% de oleoresina (cuyos cálculos ya se explicaron anteriormente, páginas 32 a 35), las cuales junto con la tintura madre se utilizaron en la evaluación microbiológica.

Resultados de la evaluación microbiológica con Candida albicans:

Las tres pruebas de identificación realizadas dieron positivas. En base a la morfología colonial, la Tinción Gram (características microscópicas) y a la formación de clamidosporas típicas se aseguró la identificación positiva de *C.albicans*. No se detectó la presencia de ningún otro microorganismo durante las pruebas por lo que se puede decir que la cepa analizada era pura, no presentaba contaminación.

Según el cuadro de resultados de la evaluación microbiológica por Kirby Bauer Modificado en *C.albicans*, los halos de inhibición alrededor de los cilindros conteniendo tintura al 30%, muestran que el microorganismo fue incapaz de crecer en presencia de tintura, por lo tanto éste es sensible a la tintura al 30%. No así para las tinturas de 15% y 5%, con las que no hay formación de halos, es decir el microorganismo pudo crecer en presencia de estas concentraciones

de tintura por lo que se dice que el hongo es resistente a las tinturas al 15 y 5 por ciento.

A modo de comparación entre la oleorresina y una sustancia de reconocida actividad antifúngica se llevó un patrón de yodo al 2%, en cuyas placas hubo una inhibición total, haciendo notar el alto poder fungicida del yodo en comparación con la tintura.

Por otro lado, para asegurarnos que el efecto antimicótico de la tintura se debió a la oleorresina y no al alcohol contenido en la tintura, se llevaron blancos de alcohol al 93° (ya que la tintura al 30% contenía alcohol de esta graduación) y alcohol al 50° (contenido en las tinturas al 5 y 15%). Ambos blancos presentaron crecimiento abundante en toda la placa, sin zonas de inhibición, por lo que *Candida albicans* es resistente al alcohol etílico, y el efecto antimicótico obtenido con la tintura al 30% se debe únicamente a la acción de la oleorresina y no al alcohol. (Ver Anexo 9)

Resultados de la evaluación microbiológica con Trichophyton mentagrophytes:

Las tres pruebas de identificación realizadas dieron positivas. En base a la morfología de las colonias, la Tinción lactofenol azul algodón (características microscópicas) y a la Prueba de la carnada de pelo se pudo asegurar la identificación de *Trichophyton mentagrophytes*. No se detectó la presencia de

ningún otro microorganismo durante las pruebas por lo que se puede decir que la cepa analizada era pura, no presentaba contaminación de ningún tipo.

Evaluación microbiológica: Según el cuadro de resultados, en las placas de petri de las tres concentraciones de tinturas no hubo formación de halos definidos, las zonas de inhibición no tenían forma circular por lo que no se pudo determinar el diámetro de ningún halo; a diferencia de *Candida albicans* que presentó un crecimiento uniforme en toda la placa, *Trichophyton mentagrophytes* creció de forma no homogénea, esto se debió principalmente a que es un hongo muy filamentososo, con aspecto de algodón. (Ver Anexo 10)

Pero debido a que, sí hubo, una gran inhibición del hongo, pues éste creció muy escasamente en forma de colonias aisladas, en las placas de tintura y de yodo, se puede afirmar que es sensible a las tres concentraciones de tintura y al yodo. Por el contrario, en las placas con alcohol el crecimiento fue abundante en toda la placa, por lo que el hongo es resistente al alcohol, y así se demuestra que el efecto inhibitorio de las tinturas se debió a la oleorresina y no al alcohol. (Ver Anexo 11)

VII. CONCLUSIONES

1. La oleorresina de *Eucalyptus citriodora* contiene los siguientes metabolitos: flavonoides, antraquinonas, sesquiterpenlactonas, glicósidos cardiotónicos y taninos.
2. *Candida albicans* es sensible a la tintura al 30% de oleorresina de *Eucalyptus citriodora* y resistente ante las concentraciones de tintura 15% y 5%.
3. *Trichophyton mentagrophytes* es sensible a la tinturas al 30%, 15% y 5% de oleorresina de *Eucalyptus citriodora*, siendo la más efectiva la de 15%, por ser la concentración de oleorresina a la cual se obtuvo un menor crecimiento del hongo.
4. El patrón de comparación Yodo al 2% es más efectivo contra *Candida albicans* que cualquiera de las concentraciones de tintura, y tiene el mismo efecto contra *Trichophyton mentagrophytes* que la tintura al 30% de oleorresina.

5. El efecto antimicótico de la oleorresina podría ser debido a que contiene taninos con gran poder astringente o a una mezcla de sustancias activas que contiene la oleorresina y que se potencializan unas con otras.

6. El uso adecuado de una tintura de oleorresina de *Eucalyptus citriodora* al 15% se podría usar en dermatomicosis ocasionadas por *Trichophyton mentagrophytes*.

7. El uso adecuado de una tintura de oleorresina de *Eucalyptus citriodora* al 30% se podría usar en dermatomicosis ocasionadas por *Candida albicans*.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Para que la población obtenga beneficio de esta investigación, se debe estudiar más a fondo la oleorresina, normalizar y producir la tintura a nivel industrial.
2. Para la producción a nivel industrial de una tintura de oleorresina de eucalipto es necesario contar con suficiente recurso natural (materia prima), es decir, plantaciones de eucalipto debidamente explotadas.
3. Para crear una plantación de eucalipto con el fin de obtener drogas para la industria farmacéutica han de contemplarse diversos factores que pueden influir en la naturaleza y concentración de los principios activos presentes en la planta, como son: el clima, temperatura, época de recolección, tipo de suelo, desecación y conservación de la droga etc.
4. Es necesario llevar a cabo un desarrollo ordenado y controlado de las plantaciones de eucalipto, por ser un árbol que absorbe mucha agua y que ocasiona la desecación de los suelos, esto con el fin de no provocar un impacto ambiental negativo en la zona de siembra.

5. Se recomienda realizar un estudio cuali-cuantitativo profundo de la oleorresina, que defina sus componentes y concentraciones en las que están presentes, a fin de poder relacionar sustancias y estructuras químicas con el efecto antimicótico ya comprobado, y con otros posibles efectos beneficiosos.
6. Se recomienda estudiar el efecto de la tintura de oleorresina de eucalipto sobre otros microorganismos de interés clínico, y así poder ampliar su utilización para diferentes afecciones.
7. Se sugiere utilizar discos elaborados de papel filtro en condiciones asépticas, e impregnados en tintura y previamente secados antes de su utilización, en lugar de cilindros de acero inoxidable llenos de tintura, para evitar la evaporación del alcohol y la presencia de residuos de oleorresina en el fondo de los cilindros.
8. Una vez estudiada esta droga, se recomienda el desarrollo de nuevas formas farmacéuticas que ayuden en el tratamiento de las diversas enfermedades y así ofrecer a la población nuevas y mejores alternativas medicinales.

9. Se recomienda la investigación de nuevas propiedades y aplicaciones de la oleorresina de *Eucalyptus citriodora*, por haberse encontrado importantes y útiles sustancias activas como los glicósidos cardiotónicos y las antraquinonas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Baron, Peterson y Finegold. "Diagnostic Microbiology". 9ª Edición. Editorial Mosby-Year Book. USA.1994. Páginas:183,710-724 y 772.
2. Dãrr Alfred. "Elementos de Tecnología Farmacéutica" Editorial Acribia. Zaragoza, España. Páginas: 88, 89, 90.
3. Departamento de Bioquímica y Contaminación Ambiental. Sección Microbiología. "Manual de Laboratorio de Microbiología Aplicada III". Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 2001.
4. Departamento de Bioquímica y Contaminación Ambiental. Sección Microbiología. "Manual de Laboratorio de Microbiología y Parasitología". Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 1999.
5. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Sección Farmacognosia. "Manual de Laboratorio de Farmacognosia". Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 2000.
6. Domínguez, Alejandro. "Métodos de Investigación Fitoquímica" 1ª Edición. Editorial Limusa. México. 1973. Páginas: 84 a 153

7. Font, Quer. P. "Diccionario de Botánica". 9ª reimpresión. Editorial Labor SA. España.1985. Página: 941.
8. Gilg, Ernesto. "Farmacognosia". Traducido de la 3ª edición alemana. Editorial Labor S.A. Barcelona. España. 1926. Páginas: 240 y 241.
9. González Guerra, Ana y otros. "Elementos básicos para la caracterización y la normalización de la producción de propóleos". Seminario de Actualización. LARISA (Laboratorios de Referencia para Investigación y Salud Apícola). Cluster de Apicultura. Cuba.
10. Handal, Salomón. "Apicultura". 1ª Edición. Editorial Impresos Urgentes. Mayo 2002 El Salvador. Pág: 137-139.
11. Jawetz y otros. "Microbiología médica".14ª Edición. Editorial El Manual Moderno SA de CV. México DF. 1992. Páginas: 333, 334, 338, 349 y 350.
12. Koneman, Elmer W. y otros. "Diagnóstico Microbiológico" 3ª Edición. Editorial Médica Panamericana. México DF. 1997. Páginas: 657-660, 694-696, 703-705.

13. Mena Zablah, Marina Lilian. "Estudio sobre las propiedades antifúngicas de aceite de Eucalyptus globulus (Eucalipto) en Cándida albicans". El Salvador. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 1997. Páginas: 3,6,20,21,25 y 26.
14. Pelczar, Michael J. y otros. "Microbiología". 4ª Edición. Editorial McGrawHill. México. 1932. Páginas: 271-206, 515,116.
15. Organización de los Estados Americanos (OEA) / Universidad de El Salvador (UES) / Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS). Planter. Volumen 1. "Obtención y Aprovechamiento de Extractos Vegetales de la Flora Salvadoreña".1989. Páginas: 390 y 391.
16. Real Academia Española. "Diccionario de la Lengua Española". Decimonovena edición. Editorial Espasa-Calpe, S.A. Madrid. 1970. Página: 940.
17. Remington. Farmacia.19ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 1998.Tomo I y II. Páginas: 589,1933 y 2334.

18. Spencer, R. Nichols, L y otros. "Clinical Pharmacology and Nursing Management" 4ª Edición. J.B. Lippincott Company. USA..1993. Página:1077-1084.
19. Trease, George E. y Evans, William C. "Farmacognosia" 3ª Impresión. Compañía Editorial Continental S.A. de CV. México.1984. Páginas: 88,149.
20. USP 25. NF 20. 2002. "The Official Compendia of Standards". 25ª Revisión (USP) y 20ª Edición (NF). United States Pharmacopeial Convention, Inc. Canadá. 2001. Páginas: 1883,2221 y 2234.
21. Vásquez Hidalgo. Antonio. "Micosis en El Salvador. Un problema de Salud Pública. Propiedades antimicóticas in vitro de una planta natural *Allium sativum* (XX27). Año 2001". Reporte final de investigación. Facultad de Medicina. Universidad de El Salvador. San Salvador. 2001. Páginas: 1-6.
22. www.aguia.redes.efpe.br/cbq.htm
23. www.beekeeping.com/articulos/salamanca/puntos_criticos_propoleo.htm
24. www.botanical.com
25. www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Eucalyptus_citriodora.html
26. www.ibiblio.org/herbmed/eclectic/bpc1911/main.html

“British Pharmaceutical Codex 1911” Documento publicado por la dirección del Consejo de la Sociedad Farmacéutica de Gran Bretaña 1911.

27. www.ibiblio.org/herbmed/eclectic/kings/pterocarpus_tinc.html

“King’s American Dispensatory 1898” por Harvey Wickes Felter

28. www.inistor.galleon.com/pagina2.htm

29. www.cideu.com (Centro de Investigación y Documentación del Eucalipto)

30. www.merck.de

31. www.mspas.gov.sv

32. www.pfdb.net

33. www.plantasmedicinales.org/farmacognosia

ANEXOS

Clasificación de las micosis humanas encontradas con mayor frecuencia y sus agentes etiológicos ¹²

Micosis profundas	Micosis oportunistas	Micosis subcutáneas	Micosis superficiales
Blastomicosis <i>Blastomyces dermatitidis</i>	Aspergilosis <i>Aspergillus fumigatus</i>	Maduromicosis (micetoma) Subespecies de <i>Acremonium</i>	Piedra negra <i>Piedraia hortae</i>
Coccidioidomicosis <i>Coccidioides immitis</i>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i>	<i>Exophiala jeanselmei</i> <i>Pseudoallescheria boydii</i>	Tiña negra <i>Exophiala wernickii</i>
Criptococosis <i>Cryptococcus neoformans</i>	Candidiasis <i>Candida albicans</i>	Subespecies de <i>Nocardia</i>	Tiña versicolor <i>Malassezia furfur</i>
Histoplasmosis <i>Histoplasma capsulatum</i>	<i>Candida</i>	Cromoblastomicosis <i>Cladosporium carrionii</i>	Dermatomicosis Subespecies de <i>Microsporum</i>
Paracoccidioidomicosis (Blastomicosis sudamericana) <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Geotricosis <i>Geotrichum candidum</i>	Subespecies de <i>Fonsecaea</i> Subespecies de <i>Phialophora</i>	Subespecies de <i>Trichophyton</i> <i>Epidermophyton floccosum</i>
Esporotricosis (poco frecuente) <i>Sporothrix schenckii</i>	Feohifomicosis (Sistémica) Subespecies de <i>Alternaria</i> Subespecies de <i>Curvularia</i> Subespecies de <i>Dreschlera/Bipolaris</i> Subespecies de <i>Exophiala</i> Subespecies de <i>Waniella</i>	Feohifomicosis (Cutánea) Subespecies de <i>Alternaria</i> <i>Cladosporium bantianum</i> Subespecies de <i>Exophiala</i> Subespecies de <i>Phialophora</i>	Queratitis micótica Subespecies de <i>Fusarium</i> Subespecies de <i>Aspergillus</i> Subespecies de <i>Cándida</i>
	Hialohifomicosis Subespecies de <i>Acremonium</i> Subespecies de <i>Fusarium</i> Subespecies de <i>Paecilomyces</i> Subespecies de <i>Penicillium</i> Subespecies de <i>Scedosporium</i> (Subespecies de <i>Pseudoallescheria</i>)	Wangiella dermatitidis	Onicomosis Subespecies de <i>Cándida</i> Subespecies de <i>Aspergillus</i> <i>Trichosporon beigeli</i> <i>Geotrichum candidum</i>
	Cigomicosis Subespecies de <i>Rhizopus</i> Subespecies de <i>Mucor</i> Subespecies de <i>Cunninghamella</i>	Esporotricosis <i>Sporothrix schenckii</i>	Tiña unguium Subespecies de <i>Trichophyton</i> <i>Epidermophyton floccosum</i>
	Nocardiosis Subespecies de <i>Nocardia</i>		

Características clínicas de la infección por dermatófitos ¹¹

Enfermedad cutánea	Localización de las lesiones	Aspecto clínico	Hongo responsable con mayor frecuencia
Tiña corporal	Piel no pilosa, lisa	Parches circulares con bordes rojos vesiculosos crecientes y descamación central. Prurito	<i>Microsporum canis</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i>
Tiña de los pies (Pie de atleta)	Espacios interdigitales de los pies en personas que usan zapatos	Prurito, piel roja vesiculosa en la fase aguda. Prurito, escamas y fisuras en la fase crónica	<i>Trichophyton rubrum</i> ; <i>T. mentagrophytes</i> ; <i>Epidermophyton floccosum</i>
Tiña crural	Ingle	Escamas eritematosas en zona intertriginosa. Prurito	<i>T. rubrum</i> ; <i>T. mentagrophytes</i> ; <i>E. floccosum</i>
Tiña cefálica	Cabello. Endrotis: hongo dentro de diáfisis pilosa. Ectrotix: Hongo sobre la superficie del cabello.	Parches circulares de calvicie con cabellos cortos o rotos centro de los folículos pilosos. Cabellos infectados por <i>Microsporum</i> dan fluorescencia.	<i>Microsporum canis</i> ; <i>Trichophyton tonsurans</i>
Tiña de la barba	Pelos de la barba	Lesión eritematosa, edematosa	<i>T. rubrum</i> ; <i>T. mentagrophytes</i> ; <i>E. floccosum</i>
Onicomycosis	Uña	Uñas gruesas o desmenuzadas distalmente; cambio de color sin lustre. Por lo general asociada con tiña de los pies	<i>T. rubrum</i> ; <i>T. mentagrophytes</i> ; <i>E. floccosum</i>

ANEXO 3



Arboles de Eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). Parte oriente facultad Química y Farmacia, Universidad de El Salvador. (Por Tatiana Q)

ANEXO 3 continuación



Arbol de Eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) emanando oleoresina del tronco. Parte oriente facultad Química y Farmacia, Universidad de El Salvador. (Por Tatiana Q)

ANEXO 3 continuación



Arbol de Eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) emanando oleorresina del tronco. Parte oriente facultad Química y Farmacia, Universidad de El Salvador. (Por Tatiana Q)

ANEXO 3 continuación



Arbol de Eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) emanando oleoresina del tronco. Parte oriente facultad Química y Farmacia, Universidad de El Salvador. (Por Tatiana Q)

Procedimiento de pruebas fitoquímicas ^{5,6}

SUSTANCIA	PRUEBA	PROCEDIMIENTO	RESULTADO (+) *
Glicósidos saponínicos	Prueba de Liebermann - Burchard	10 ml de extracto + 5 ml H ₂ SO ₄ diluido. Hervir 10' y enfriar. Extracto + 20 ml CHCl ₃ y agitar. Concentrar hasta 2 ml el extracto clorofórmico y agregar 1 ml de anhídrido acético + 3 gotas H ₂ SO ₄ []	<i>Saponinas esteroideas</i> : coloración violeta. <i>Saponinas triterpenoides</i> : coloración verdosa
	Prueba de Salkowski	3 ml de extracto + 5 gotas de H ₂ SO ₄ [] gota a gota por las paredes	Cambio de color inmediato o gradual. Formación de un anillo de color rojo.
	Método de la espuma	1 gramo de muestra + 5 ml H ₂ O destilada. Agitar por 30". Y dejar reposar.	Formación de espuma de 3 cm arriba de la superficie del líquido que persiste por más de 15 '
Glicósidos flavonoides	Prueba de Shinoda	5 ml extracto + trocito de Mg ⁰ + 1 ml HCL []	Coloración anaranjada, roja, roja azulosa o violeta
Glicósidos antraquinónicos	Prueba de Bornträger	Evaporar a sequedad 15 ml de extracto + 30 ml de agua destilada. Filtrar. Extracto + 10 ml Benceno. Agitar. Tomar capa bencénica y agregar 5 ml de amoníaco.	Coloración roja, rosa o violeta.

* Los resultados negativos no producen las coloraciones especificadas en el cuadro.

SUSTANCIA	PRUEBA	PROCEDIMIENTO	RESULTADO (+)
Glicósidos cardiotónicos	Prueba de Legal	Llevar a sequedad 1-2 ml de extracto. Agregar 3 gotas de Piridina, 2 gotas de Nitroprusiato de sodio al 0.5 % y 3 gotas de NaOH 2N	Color rojo intenso
	Prueba de Keller-Killiani	Evaporar a sequedad 2 ml de extracto. Agregar 2 ml de Reactivo de Keller y con cuidado gotas del Reactivo de Killiani	Coloración roja
	Prueba de Kedde	Evaporar en Baño de María 2 ml del extracto. Agregar 2 ml de alcohol, 1 ml de sln. alcohólica de NaOH 1N y 2 ml de sln. de ácido 3,5 Dinitrobenzóico en etanol al 2 %	Coloración púrpura
	Prueba de Liebermann-Burchard	A 2 ml del extracto agregar 1 ml de cloroformo, agitar suavemente y añadir 1 ml de anhídrido acético y 3 gotas de H ₂ SO ₄ []	Formación de un anillo violeta
Alcaloides	Reacciones de Precipitación con :		
	Reactivo de Dragendorff	Agregar gotas del reactivo de Dragendorff a 2 ml del extracto	Coloración anaranjada fuerte
	Reactivo de Mayer	Agregar gotas del reactivo de Mayer a 2 ml del extracto	Coloración púrpura
	Reactivo de Wagner	Agregar gotas del reactivo de Wagner a 2 ml del extracto	Coloración marrón

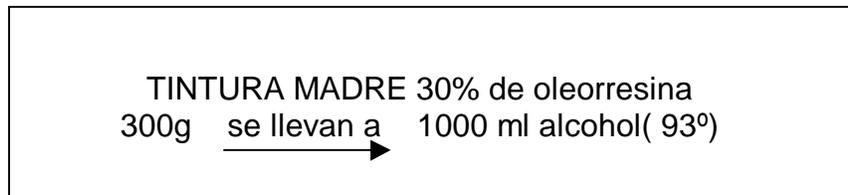
ANEXO 4 continuación

SUSTANCIA	PRUEBA	PROCEDIMIENTO	RESULTADO (+)
Taninos	Cloruro Férrico	2 ml extracto + 3 gotas de Cloruro férrico	Coloración negro azulado o verdoso
	Sln. de Gelatina	2 ml extracto + 2 ml solución de Gelatina	Precipitado beige
	Sln. de Cafeína	2 ml extracto + 2 ml de solución de Cafeína	Turbidez
	Subacetato de plomo	2 ml extracto + 2 ml de Subacetato de plomo	Precipitado coloidal beige
	Dicromato de potasio	2 ml extracto + 2 ml de Dicromato de potasio	Precipitado café pardo
	Clorhidrato de quinina	2 ml extracto + 2 ml de Clorhidrato de quinina	Precipitado beige
	Agua de Bromo	2 ml extracto + 3 gotas de Agua de Bromo	Pirogalotaninos no precipitan Catecólicos si precipitan
Sesquiterpen - lactonas	Prueba de Legal	2 ml extracto + 3 gotas de Piridina + 5 gotas de nitroprusiato de sodio al 0.5% + 5 gotas de NaOH 2 N	Coloración rosa
	Prueba de Baljet	2 ml extracto + 4 gotas de reactivo formado por volúmenes iguales de solución A (Acido pícrico en sln. etanólica) y solución B (Hidróxido de sodio en sln. acuosa)	Coloración anaranjada o roja oscura

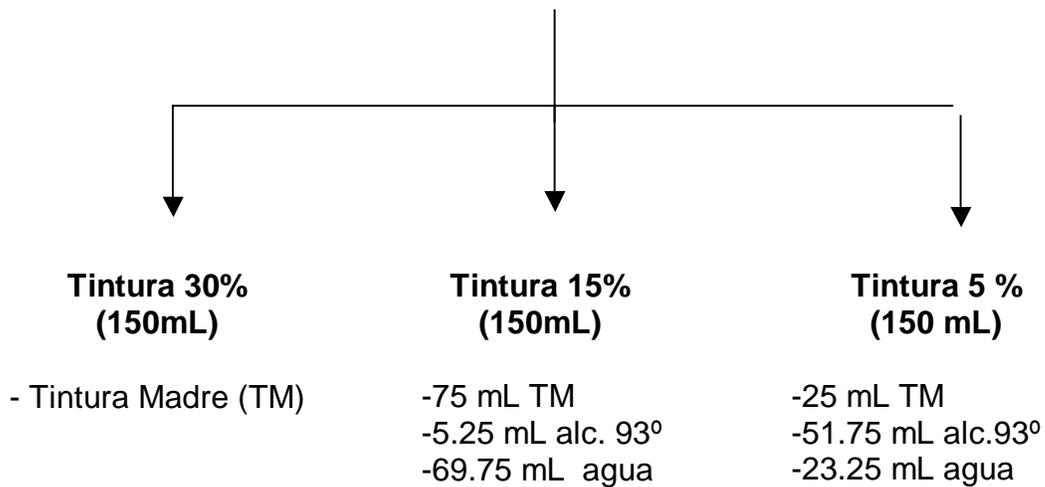
ANEXO 4 continuación

ANEXO 5

“Preformulación de Tinturas”



Diluciones con $C_1V_1 = C_2V_2$

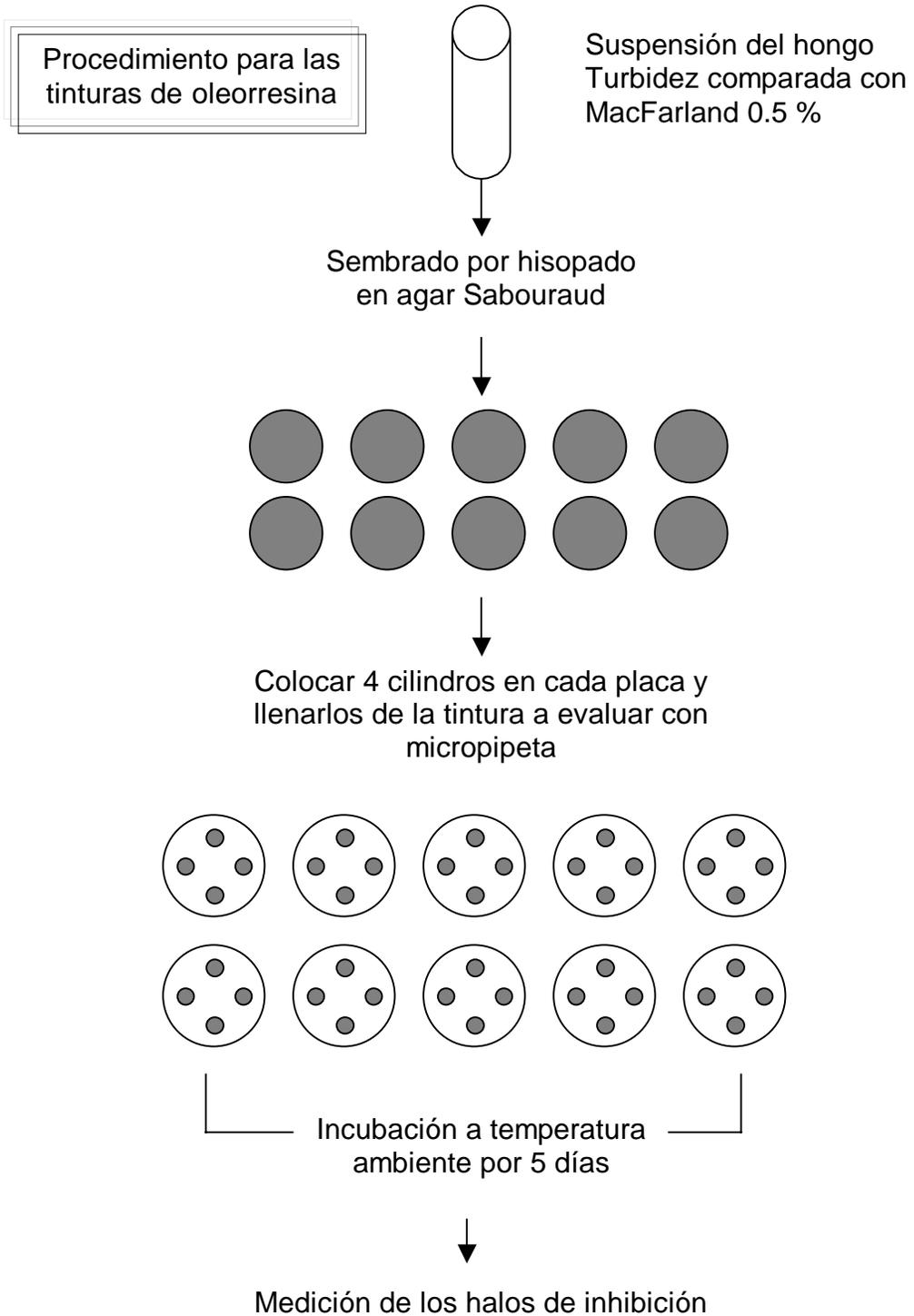


Pruebas de identificación de los microorganismos a ensayar ^{12,4}

HONGO	MORFOLOGÍA DE LAS COLONIAS	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	OTRAS CARACTERÍSTICAS
<i>Cándida albicans</i>	Colonias en forma de araña en agar EMB y colonias blandas de color cremoso en Sabouraud con olor a levadura, incubadas a temperatura ambiente por 24-48 horas	Tinción Gram: Levadura Gram positiva en gemación y pseudohifas.	Formación de clamidosporas en agar Harina de maíz
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	En agar Sabouraud colonias vellosas y/o granulares. Color blanco a rosado. Reverso ante a marrón rojizo. Ocasionalmente con bordes amarillos. Algunas cepas producen pigmentación roja-marrón. Incubar a temperatura ambiente por 24-48 horas	Tinción con lactofenol azul algodón: Microconidias en abundancia, globosas en forma de racimo de uvas. Rara vez se ven macroconidias, si están, son de paredes delgadas, lisas y en forma de lápiz.	Prueba de la carnada de pelo positiva: En una caja de petri conteniendo pelos y agua esterilizados se inocula directamente una porción de la colonia. Incubar a 25°C/10-14 días. Se observa invasión de la cutícula del pelo en forma cónica.

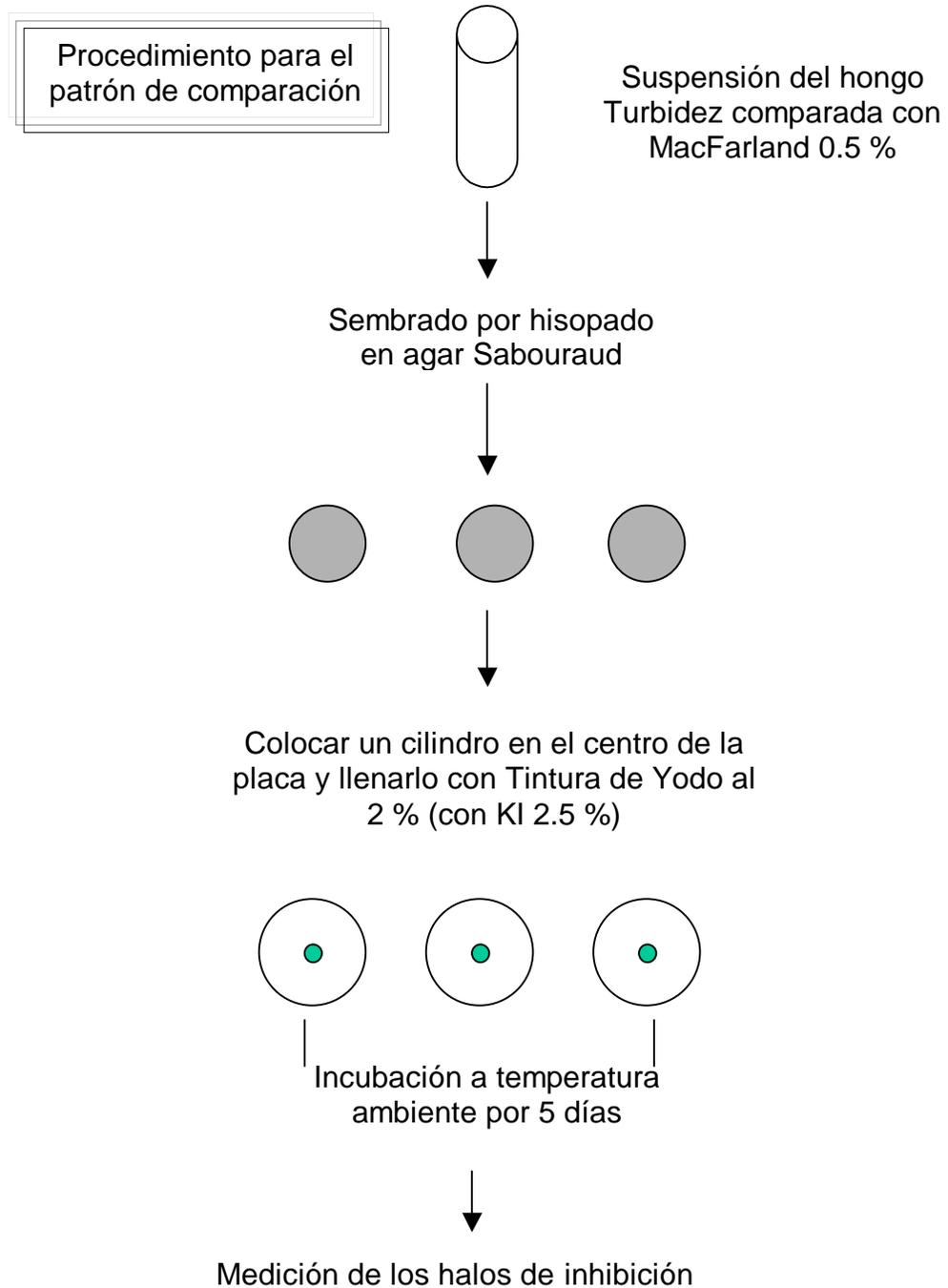
ANEXO 7

“Método Kirby Bauer Modificado”³



ANEXO 7 continuación

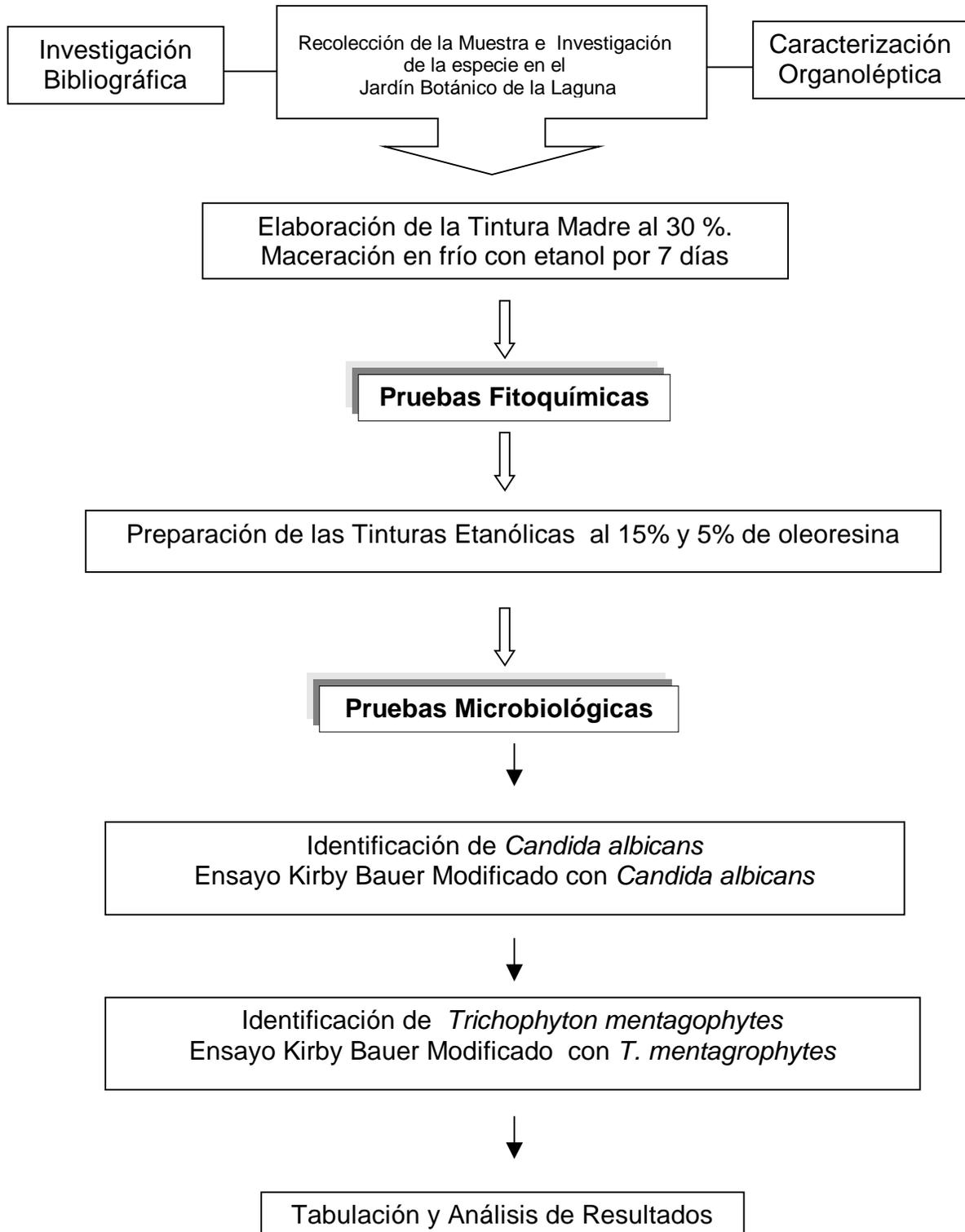
“Método Kirby Bauer Modificado”³



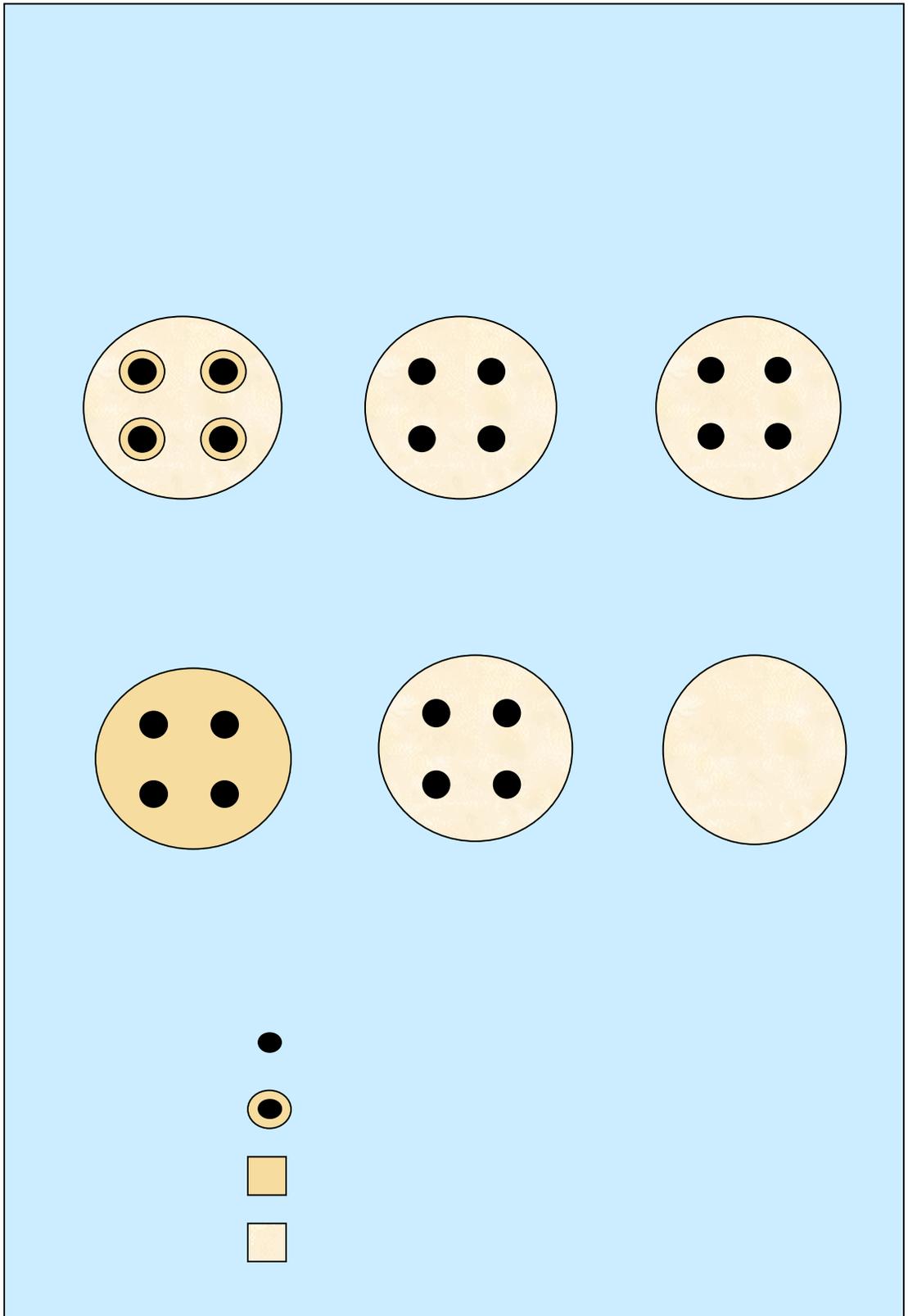
Nota: De igual manera se realiza el ensayo para los blancos

ANEXO 8

“METODOLOGIA GENERAL DE TRABAJO”



ANEXO 9



ANEXO 10

Colonias de *Trichophyton mentagrophytes*



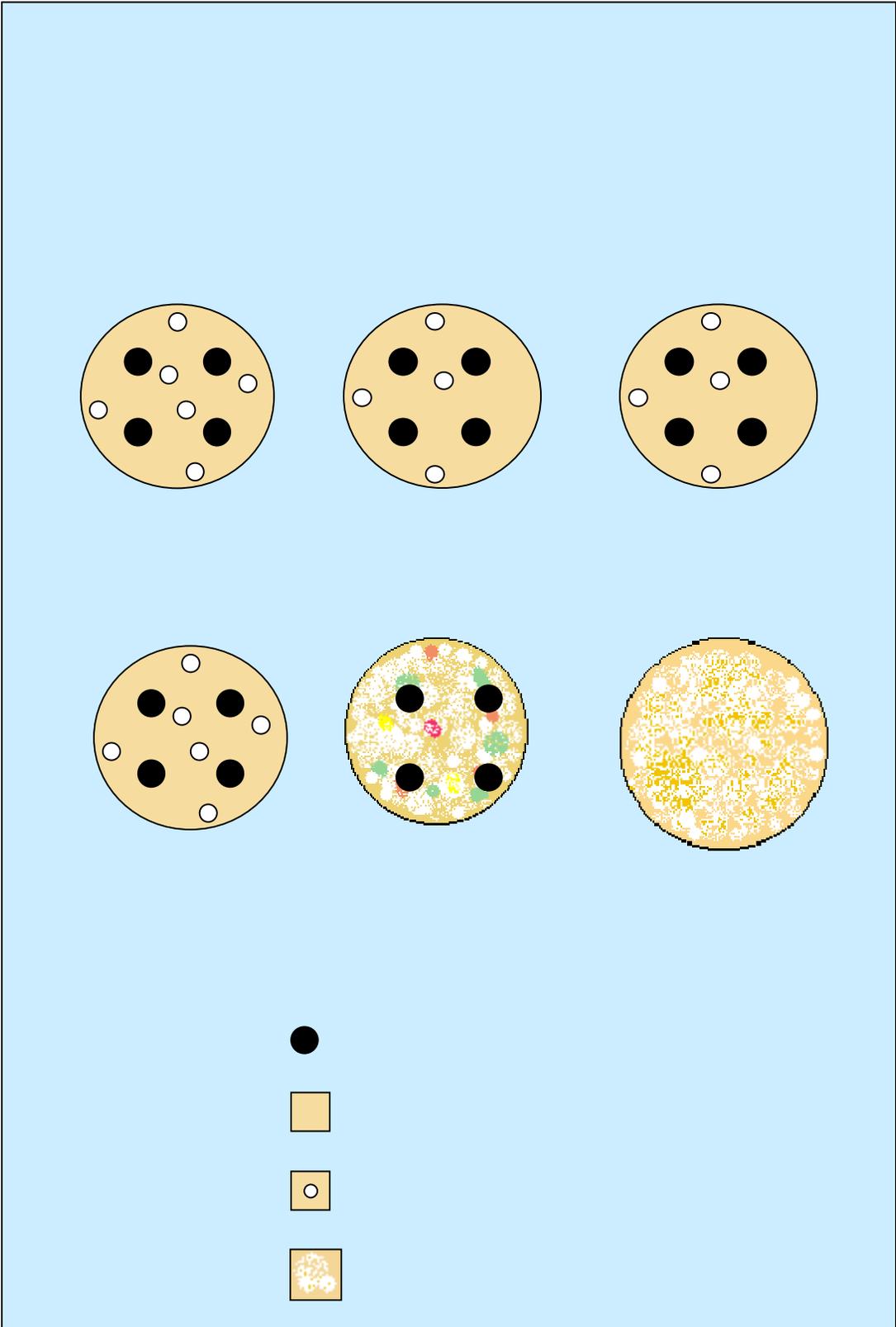
R. Kano. Foto tomada de www.pfdb.net

Colonias de *Candida albicans*



Candida albicans en Agar Sabouraud Dextrosa 4 %
Foto tomada de www.merck.de

ANEXO 11



ANEXO 12

Materiales, Equipo y Reactivos

CRISTALERÍA Y OTROS MATERIALES:

- Vasos de precipitados (10,50,100,250,400,1000 ml)
- Probetas (5,10,25,50,100 ml)
- Embudos de separación (125 y 250 ml)
- Tubos de ensayo y tubos con tapón de rosca
- Tubos de hemólisis
- Agitadores
- Embudos corrientes
- Mortero y pistilo
- Reflujo simple
- Balón de fondo redondo de 1000 ml
- Varilla de vidrio
- Cajas de petri
- Erlenmeyers (100,250,500,1000 ml)
- Pipetas Pasteur y Mohr
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Aro metálico
- Malla de asbesto
- Trípode
- Mangueras para entrada y salida de agua
- Baño María metálico

- 4 Frascos de vidrio ámbar con tapón de rosca de 150 ml
- 1 Frasco de vidrio ámbar con tapón de rosca de 1000 ml
- Cilindros de acero inoxidable
- Pinzas metálicas
- Espátulas metálicas
- Papel filtro
- Algodón
- Asas bacteriológicas
- Gradillas
- Guantes de látex y mascarillas
- Hisopos con mango largo de madera
- Papel aluminio, papel de empaque
- Tirro, etiquetas
- Cordón
- Gasa
- Plumones
- Fósforos
- Engrapadora

EQUIPO:

- Mechero Bunsen
- Hot Plate
- Balanza granataría
- Autoclave

- Microscopio
- Estereoscopio
- Incubadora
- Refrigeradora
- Estufa de calor seco

REACTIVOS:

- Alcohol Etílico 93 °
- Alcohol Isopropílico
- Agua destilada
- Cristal violeta
- Lugol
- Safranina
- Cloruro de bario
- Ácido sulfúrico concentrado
- Ácido sulfúrico diluido
- Lactofenol azul algodón
- Yodo al 2% con yoduro de potasio al 2.5%
- Cloroformo
- Anhídrido acético
- Magnesio sólido
- Ácido clorhídrico concentrado
- Benceno
- Amoníaco

- Solución de cloruro férrico
- Solución de gelatina
- Solución de cafeína
- Agua de bromo
- Solución de piridina
- Nitroprusiato de sodio al 0.5 %
- Hidróxido de sodio 2N
- Hidróxido de sodio en solución acuosa
- Hidróxido de sodio en solución alcohólica 1N
- Ácido pícrico en solución etanólica
- Reactivo de Keller (ácido acético glacial + trazas de tricloruro de hierro)
- Reactivo de Killiani (ácido sulfúrico concentrado + trazas de sulfato ferroso)
- Solución de ácido 3,5 Dinitrobenzóico en etanol al 2%
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner

MEDIOS DE CULTIVO:

- Agar Sabouraud con Dextrosa al 4%
- Agar harina de maíz

CEPAS PURAS DE MICROORGANISMOS:

- *Candida albicans*
- *Trichophyton mentagrophytes*

ANEXO 13

Glosario

Exudados vegetales

Mezclas naturales sólidas o semisólidas químicamente complejas de origen, vegetal, como los bálsamos, las gomas, las oleorresinas y las resinas. La proporción de los componentes puede variar según el clima, la época del año y otros factores.¹⁷

Kino

El nombre de Kino se ha aplicado a numerosos zumos desecados, ricos en flavotaninos y empleados antiguamente por sus propiedades astringentes; comprenden el Kino Malabar, del *Pterocarpus marsupium*, la Goma de Butea o Kino de Bengala, de la *Butea frondosa* y el Kino de Eucalipto o Goma Roja, del *E. Rostrata*.⁸

Resina

Cualquiera de las sustancias de secreción de las plantas con aspecto y propiedades más o menos análogas a las de los productos conocidos vulgarmente con el mismo nombre. En cuanto a su formación pueden resultar del metabolismo normal (resinas fisiológicas) o anormal, producidas las últimas por traumatismos (resinas patológicas). Las resinas se han dividido de varios modos atendiendo a sus caracteres físicos y a su composición, que es muy compleja y variada de unas a otras.⁷

Oleorresina

Jugo líquido, o casi líquido, procedente de varias plantas, formado por resina disuelta en aceite volátil.¹