

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LA SANCIA (*Coriaria
Ruscifolia. L*), COMO TRATAMIENTO IN VITRO EN LA DERMATOFITOSIS
CAUSADA POR *Trichophyton sp.* EN CUYES (*Cavia porcellus*).**

**GETSY TRUJILLO CEBALLOS
DAVID ALEJANDRO CRIOLLO MUÑOZ**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2014**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LA SANCIA (*Coriaria
Ruscifolia. L*), COMO TRATAMIENTO IN VITRO EN LA DERMATOFITOSIS
CAUSADA POR *Trichophyton sp.* EN EL CUY (*Cavia porcellus*).**

**GETSY TRUJILLO CEBALLOS
DAVID ALEJANDRO CRIOLLO MUÑOZ**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Médico Veterinario**

**Presidente:
JUAN MANUEL ASTAIZA MARTÍNEZ
M.Sc. Médico Veterinario Zootecnista**

**Copresidente
ÁNGEL MARÍA ZAMORA BURBANO
MSc. Sistemas de Gestión Ambiental**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2014**

“las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo de grado son responsabilidad exclusiva de los autores”

Artículo 1 del acuerdo 324 de Octubre 11 de 1966, emanado en el honorable consejo directivo de la Universidad de Nariño

Nota de aceptación

JUAN MANUEL ASTAIZA MARTÍNEZ
Presidente

ÁNGEL ZAMORA
Copresidente

SANDRA XIMENA SALAS
Jurado Delegado

BOLÍVAR LAGOS FIGUEROA
Jurado

AGRADECIMIENTOS

JUAN MANUEL ASTAIZA MARTÍNEZ	Médico Veterinario Zootecnista M.Sc.
BOLÍVAR LAGOS FIGUEROA	Médico Veterinario Zootecnista.Esp.
PATRICIA BETANCOURTH CHAVEZ	Médico Veterinario. Esp
LESVY RAMOS OBANDO	Zootecnista. IPA.
SANDRA XIMENA SALAS RUEDA	Médico Veterinario. Esp
GONZALO CARDONA M	Médico Veterinario Zootecnista

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de la Universidad de Nariño, con el objeto de determinar si la planta medicinal (*Coriaria ruscifolia*, L) posee un efecto antifúngico in vitro.

La determinación de la actividad antifúngica se realizó empleando PADS o almohadillas hidrofílicas de aproximadamente 4 cm de diámetro, que se recortaron e impregnaron de los distintos Preparados de *Coriaria ruscifolia*, L., como control positivo se manejó Ketoconazol y como control negativo etanol.

Los resultados fueron negativos para este ensayo In Vitro, ya que no se logró medir los halos inhibitorios, pues a través de esta metodología los cultivos adquirieron una alta carga contaminante que proveía el mismo fruto de estudio. Imposibilitando la lectura de los efectos medicinales esperados.

A través de pruebas complementarias que consistieron en un análisis fitoquímico de la Sancia y una cromatografía líquida de alta eficiencia con detector de arreglo de fotodiodos para polifenoles. Se encontró que los frutos de Sancia (*Coriaria ruscifolia*, L). poseen fenoles, esteroides, flavonoides y antocianinas.

ABSTRACT

This work was carried out at the premises of the University of Nariño, in order to determine if the herb (*Coriaria ruscifolia*, L.) has an antifungal effect in vitro.

Determination of antifungal activity was performed using Absorbent pads or pads of approximately 4 cm in diameter which were cut and soaked in the various preparations *Coriaria ruscifolia*, L., is handled as a positive control and as ethanol Ketoconazole negative control.

The results were negative for this in vitro assay, since it was not possible to measure the inhibitory halos, because through this methodology crops acquired a high pollution load that provided the same result of study. Reading impossible expected medicinal effects.

Through complementary tests consisted of a phytochemical analysis of Sancia and high performance liquid chromatography with fotodioides array detector for polyphenols. It was found that the fruits of Sancia (*Coriaria ruscifolia*, L.) possess phenols, sterols, flavonoids and anthocyanins.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	18
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	19
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	20
3. OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4. MARCO TEÓRICO.....	22
4.1 GENERALIDADES DEL CUY (<i>Cavia porcellus</i>).....	22
4.1.1 Origen y clasificación zoológica	22
4.1.2 Sanidad y enfermedades.....	22
4.2 DERMATOFITOSIS EN EL CUY.....	23
4.2.1 Etiología	23
4.2.2 Transmisión.....	24
4.2.3 Sintomatología.	24
4.2.4 Diagnóstico.....	25
4.2.5 Tratamiento.	27
4.2.6 Identificación.	28
4.3 SANCIA (<i>Coriaria ruscifolia</i> , L.)	30
4.3.1 Descripción botánica <i>Coriaria ruscifolia</i> . L.....	30
4.3.2 Clasificación taxonómica de la Sancia	32
4.3.3 Ecología y adaptabilidad	32
4.3.4 Usos y Aplicaciones	32
4.4 FITOTERAPIA.....	32
4.5 RESIDUOS DE FÁRMACOS EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL	33
4.6 ESTUDIOS ACTIVIDAD ANTIFUNGICA EN PLANTAS.....	34
4.7 PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR EL EFECTO ANTIFÚNGICO.	36
4.8 ANÁLISIS FITOQUIMICO SANCIA (<i>Coriaria ruscifolia</i> , L).....	38

4.8.1	Prueba de Cloruro Férrico para Fenoles. Técnica.....	38
4.8.2	Prueba de Gelatina /Sal para Fenoles.	39
4.8.3	Prueba de Acetato de Plomo.....	39
4.8.4	Prueba de Lieberman.....	39
4.9	CROMATOGRAFIA.....	39
4.9.1	Flavonoides y antocianinas	40
5.	DISEÑO METODOLOGICO	43
5.1	TIPO DE ESTUDIO	43
5.2	LOCALIZACIÓN	43
5.3	RECOLECCIÓN DEL EJEMPLAR VEGETAL.....	43
5.4	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	44
5.5	INSTALACIONES Y EQUIPOS	46
5.6	ELABORACIÓN DE LOS PREPARADOS DE SANCIA <i>Coriaria</i> <i>Ruscifolia. L</i> y Ceniza.....	47
5.6.1	Preparado Sancia y Ceniza.....	47
5.6.2	Preparado de Sancia.....	47
5.6.3	Preparado de ceniza	47
5.7	PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO	48
5.8	REPLICACIÓN DE LA MUESTRA	49
5.9	PORCENTAJE DE MATERIA SECA.....	49
5.9.1	Porcentaje de Humedad.....	49
6.	PRESENTACIÓN Y DISCUSION DE RESULTADOS.....	50
6.1	ENSAYO	50
6.2	ANÁLISIS FITOQUIMICO SANCIA (<i>CORIARIA RUSCIFOLIA, L</i>).....	55
6.3	PORCENTAJE DE HUMEDAD	55
6.4	PORCENTAJE DE CENIZAS.....	56
6.5	CROMATOGRAFIA.....	56
7.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	58
7.1	CONCLUSIONES.....	58
7.2	RECOMENDACIONES	58

BIBLIOGRAFÍA.....60
ANEXOS65

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Animales y muestras usados en el estudio	45
Cuadro 2. Identificación de muestras para siembra	45

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Materiales ensayo	48
Tabla 2. Raspados y lesiones encontradas	50
Tabla 3. Grupos de ensayo.....	51

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Identificación morfológica de Dermatofitos.	30
Figura 2. <i>Coriaria Ruscifolia, L.</i>	31
Figura 3. Servido de Medio de cultivo	36
Figura 4. Cultivos de <i>Trichophyton sp. en Agar saboreud dextrosa.</i>	37
Figura 5. Cultivos en Incubadora	37
Figura 6. Cajas Petri inoculadas con <i>Trychophyton sp.</i> mas la presencia de microdiscos con Sancia y Sancia+ceniza	38
Figura 7. Impronta positiva de <i>Trichophyton sp.</i> Observada en microscopio.....	42
Figura 8. Recolección de fruto	44
Figura 9. Vista de la cara posterior de 4 cajas de Cultivos de <i>Trichophyton, M.</i> en presencia de Sancia (<i>Coriaria Ruscifolia, L.</i>) donde se observan los 4 microdiscos PAD teñidos de rojo por la coloración natural del fruto y parte del micelio vegetativo del hongo.....	51
Figura 10. Vista superior de un Cultivo de <i>Trichophyton, M.</i> en presencia de Sancia (<i>Coriaria Ruscifolia, L.</i>) donde se observa el crecimiento de los hongos contaminantes alrededor de los puntos de siembra.....	52
Figura 11. Cultivo de <i>Trichophyton, M.</i> en presencia de Sancia (<i>Coriaria Ruscifolia, L.</i>) donde se logra diferenciar claramente la presencia de hongos medioambientales como <i>Penicillium</i> de color verdoso y <i>Aspergillus</i> de color negro. Y no se pueden distinguir los microdiscos PAD.....	52
Figura 12. Vista superior de un Cultivo de <i>Trichophyton, M.</i> en presencia de Sancia (<i>Coriaria Ruscifolia, L.</i>) donde se diferencian los microdiscos PAD y se observa en comparación a la Figura 19 la diferencia de tamaño de los puntos de siembra posterior a 7 días de crecimiento.	53
Figura 13. Cultivos <i>Trichophyton, M.</i> en presencia de Ceniza donde se observa que la contaminación es mucho menor en comparación a los cultivos sometidos a la presencia del fruto de Sancia.....	53

Figura 14. Cultivos <i>Trichophyton, M.</i> en presencia de Ceniza y Sancia (<i>Coriaria Ruscifolia, L.</i>) donde se aprecia notablemente la carga contaminante que trae el fruto.	54
Figura 15. Cultivo de <i>Trichophyton, M.</i> despues de 7 días de crecimiento, sin la presencia de ningún preparado. Donde se observa que las colonias crecieron de forma sana y por tanto su tamaño es notablemente superior en comparación a los cultivos expuestos a la presencia de las sustancias preparadas en el ensayo.	55
Figura 16. Preparados de Sancia	56
Figura 17. Control positivo ketoconazol	57

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Resultado cromatografía líquida.....	66
Anexo B. Resultado análisis fitoquímico	71
Anexo C. Poster científico encuentro Ecuador	72
Anexo D. Certificado ponencia Ecuador	73

GLOSARIO

ANTIFÚNGICO: dicho de un medicamento, una sustancia, un procedimiento, etc. Que se utilizan para combatir las infecciones por hongos.

DERMATOFITOS: hongos filamentosos que afectan a la epidermis y anexos cutáneos.

CONIDIOS: espora asexual formada de hifas por abstricción, gemación o división septal.

EXTRAETIQUETA: se refiere aquellas situaciones en las que se utiliza un medicamento fuera de lo establecido en su etiqueta.

FITOTERAPIA: (de Fito y terapia). Tratamiento de las enfermedades mediante plantas o sustancias vegetales.

HALO INHIBITORIO: zona de inhibición del crecimiento de hongos.

HIFAS: filamentos que componen el cuerpo de un hongo.

HOSPEDERO: ser vivo que soporta un parásito de manera temporal o permanente (huésped: animal o vegetal a cuya costa vive un parásito).

IN VITRO: producido en el laboratorio por métodos experimentales.

LESIÓN ENDOTRIX: lesión que ocurre al interior del cilindro piloso.

LESIÓN ECTOTRIX: lesión que ocurre al exterior del cilindro piloso.

MACROCONIDIO: conidios multinucleados, grandes.

MICELIO: malla constituida de hifas entrelazadas.

MICROCONIDIO: conidios de una célula, pequeños, pueden ser esféricos, elípticos u ovales, piriformes colocados entre las hifas.

NECROPSIA: es un procedimiento científico por el cual se estudia un cadáver animal o humano para tratar de identificar la posible causa de la muerte.

PORTADOR ASINTOMÁTICO: es una persona o animal, aparentemente sano, que no presenta enfermedad clínica aparente, que alberga el agente infeccioso y que puede servir de fuente de contagio.

RESISTENCIA: es la capacidad de un microorganismo para resistir los efectos de un medicamento.

RESPUESTA INMUNOLÓGICA: es la forma como el cuerpo reconoce y se defiende a sí mismo contra bacterias, virus y sustancias que parecen extrañas y dañinas.

INTRODUCCIÓN

La gran variedad de especies vegetales diseminadas en Colombia merecen investigación debido a la cantidad de secretos farmacológicos que encierran.

En la región de Nariño se llevan a cabo varias prácticas de medicina natural, provenientes de los conceptos ancestrales de varias comunidades indígenas, que gracias a las tradiciones orales y escritas aún son vigentes y de gran funcionalidad para el manejo clínico y sanitario de animales y plantas.

La relación entre las plantas medicinales y la salud animal, es estrecha y bidireccional, reflejada en los resultados comprobados de preparados o del consumo natural de dichas plantas con componentes antiparasitarios, antiinflamatorios y antibióticos.

Los avances en Etnoveterinaria a nivel de Latinoamérica se han realizado a grandes pasos en los últimos 10 años, con el claro ejemplo de nuestro país hermano Guatemala y el trabajo de un gran equipo resumido en la edición de 2004 *Etnoveterinaria en Guatemala y sus orígenes*, donde se describen de manera muy clara alternativas tradicionales indígenas de producción pecuaria para un desarrollo sostenible. Y el trabajo denominado, Conocimiento ancestral indígena en salud animal, editado en Julio de 2012 con información de propiedad intelectual del Pueblo de los Pastos.

En la región de Nariño, donde aún falta mucho por explorar en el campo de la investigación en Etnoveterinaria, este trabajo quiere fomentar tanto el uso como la profundización en las prácticas etnoveterinarias que surgen como una opción más inteligente y limpia para la agricultura en Colombia.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

La producción cuyícola en la región de Nariño, se ha convertido en una práctica de alto interés económico a nivel familiar y también industrial. Lastimosamente se presentan varias patologías, en un alto porcentaje las de origen micótico, que se combaten con Medicina Tradicional, mediante la cual muchas dosis farmacológicas, son extrapoladas de otras especies, produciendo de esta forma un uso extra etiqueta que debe detenerse en este tipo de explotaciones de productos para consumo humano.

Se observa en las prácticas de Etnoveterinaria una excelente opción para la resolución de este tipo de cuadros patológicos de piel. Ya que se obtiene de las plantas múltiples metabolitos secundarios con propiedades medicinales, que no tienen residuos tóxicos y no necesitan tiempo de retiro.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Tiene la Sancia (*Coriaria ruscifolia*) propiedades antifúngicas útiles para el tratamiento de la dermatofitosis causada por *Trichophyton sp* en cuyes (*Cavia porcellus*)?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar la actividad antifúngica *in vitro* del preparado de Sancia (*Coriaria ruscifolia*, L.) frente al hongo dermatofito: *Trichophyton sp.* en el cuy (*Cavia porcellus*).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto del preparado de Frutos de Sancia (*Coriaria ruscifolia*, L.) sin ningún otro aditivo sobre las colonias de *Trichophyton sp.* Y determinar su efectividad.
- Evaluar el efecto del preparado de Frutos de Sancia (*Coriaria ruscifolia*, L.) y ceniza Sobre las colonias de *Trichophyton sp.* Y comparar la efectividad entre el extracto del Fruto y el preparado con ceniza.
- Evaluar el efecto de la ceniza sin ningún otro aditivo sobre las colonias de *Trichophyton sp.* Y determinar su efectividad.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 GENERALIDADES DEL CUY (*Cavia porcellus*).

4.1.1 Origen y clasificación zoológica. Según Coronado:

“El cuy (*Cavia porcellus*, B.) Es un animal originario de América del sur (Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Paraguay, Perú y Venezuela) donde se utiliza para el consumo humano desde la época precolombina, hace más de 5000 años, siendo el único animal doméstico que los nativos tenían dentro de sus chozas”¹.

Ortegón y Morales afirman que la clasificación zoológica del cuy (*Cavia porcellus*) es la siguiente:

Reino:	Animal
Phylum:	Chordata
Subphylum:	Vertebrata
Clase:	Mamífero
Subclase:	Theria
Infraclase:	Eutheria
Orden:	Rodentia
Suborden:	Histrichomorpha
Familia:	Caviidae
Género:	Cavia
Especie:	Porcellus ² .

4.1.2 Sanidad y enfermedades. Para el instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIA) las consideraciones sanitarias a tener en cuenta son:

- Evitar el ingreso de personas ajenas al criadero, porque además de asustar los animales, pueden ser portadores de enfermedades.
- Control de ratas, ratones y otros animales en las instalaciones y depósitos de alimentos para evitar así el contagio de enfermedades.

¹ CORONADO S. Moisés *et al.* Manual técnico para la crianza de cuyes en el Valle del Mantaro. Asociación de productores de cuyes. Disponible en: [http://www.cooru.org.pe/Manual técnico cuy1.pdf](http://www.cooru.org.pe/Manual_técnico_cuy1.pdf).(Consultado 10 enero 2012)

² ORTEGON, Margarita y MORALES, Fernando. El cuy (*Cavia porcellus*). Pasto, Colombia: s.n. s.f.

- Lavar y desinfectar periódicamente los corrales o instalaciones de manejo con desinfectantes.
- Cuando se suministre agua esta debe estar limpia y fresca, los bebederos deben estar igualmente limpios.
- Tener en observación a los animales que provienen de otros lugares durante ocho días por lo menos y controlar su salud.
- Cuando se desocupen las pozas es conveniente pasar un lanzallamas para desinfectarlas.
- La forma más práctica de apreciar el estado de salud de los cuyes es observando sus cambios de peso, apetito, actividad, y reflejos, color y forma de las heces, la condición de los ojos, orejas, piel, pelo, dientes y extremidades.
- La prevención y el control de las enfermedades más importantes, es más trascendental que el tratamiento curativo. El origen de estos trastornos es por lo general por falta de higiene, demasiado número de animales, ambientes deficientemente ventilados, alta humedad, cambios bruscos de temperatura, alimentación y manejo inadecuado³.

Según Chauca:

“Las causas que predisponen a las enfermedades son los cambios bruscos en el medio ambiente, considerando variaciones de temperatura, alta humedad, exposición directa a corrientes de aire, sobre densidad, falta de limpieza en camas, deficiente alimentación entre otras”⁴.

4.2 DERMATOFITOSIS EN EL CUY

4.2.1 Etiología. Según Moya “las infecciones producidas por los dermatofitos presentan un cuadro anatomoclínico bastante variado. La intensidad de las lesiones depende de la respuesta inmunológica del hospedero, del sitio de la infección y del hábitat natural del hongo. Entre los animales de laboratorio, los

³ INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN AGRARIA (INIA), Tecnologías propuestas por el programa de crianzas familiares. Disponible en: <URL://http://www.perucuy.com/site/modules.php?name=News&file=article&sid=48/> [Consultado el 25 de enero 2012]

⁴ CHAUCA, Lilia, producción de cuyes (*Cavia porcellus*), Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1997. Disponible en : <http://www.fao.org/DOCREP/6562s/6562s00.htm>[Consultado el 28 de enero de 2012]

más afectados son los conejos y cobayos, siendo el principal agente causal *Trichophyton mentagrophytes* (*T. mentagrophytes*)⁵.

4.2.2 Transmisión. Según Foster y Smith:

Las esporas de los animales infectados pueden ser arrojadas en el medio ambiente y viven más de 18 meses. Los gatos, conejos y cobayos son a menudo la fuente de infección debido a que pueden ser portadores asintomáticos y eliminar el microorganismo sin mostrar signos de infección. El hongo se puede transmitir por contacto directo con un animal infectado, o por contacto con un objeto que está contaminado con las esporas. La incidencia de la infección varía con la zona geográfica y el medio ambiente. Los animales jóvenes y los sometidos a niveles de estrés (por ejemplo, el hacinamiento, la alta humedad, la falta de saneamiento, la malnutrición) presentan un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad⁶.

4.2.3 Sintomatología. Samus dice que:

Los síntomas típicos de tiña son zonas alopecias en la cara, manos, orejas y con menor frecuencia en el resto del cuerpo. El mismo autor también asegura que la zona afectada muestra la piel enrojecida, rosada o con una costra fina que no debe confundirse con la sarna que es mucho más gruesa. Pero los primeros síntomas son más importantes, ya que nos permiten hacer un diagnóstico temprano de la enfermedad, muchas veces los gazapos antes del destete muestran un material pastoso, pegajoso en el pelo desde la raíz, en el hocico, cara, orejas, que en pocos días se caerá dejando la zona depilada con forma circular⁷.

Según Lleonart:

Los animales afectados manifiestan clínicamente la enfermedad con alteraciones superficiales, además de causar una reducción del crecimiento. A pesar de las lesiones, los gazapos no muestran los síntomas de prurito ni

⁵ MOYA, Manuel. Dermatofitosis en cobayos de bioterio convencional de la Granja experimental Disponible en: <<http://72.14.209.104/search?q=cache:t8lakh2q97KJ:bibliofcv.veter.ucv.ve/revistafcv/pdf/Moyanew.pdf+dermatofitosis+cobayos&hl=es&ct=dak&cd=28gl=co>>, [Consultado el 28 de enero 2012]

⁶ FOSTER & SMITH. Ringworm in Rabbits & Guinea Pigs. Holly nash, DVD, MS. Veterinary services department. PetEducation.com. Disponible en: <URL:<http://www.peteducation.com/article.cfm?articleid=2494>>[Consultado el 29 enero de 2012]

⁷ SAMUS, Sergio. Dermatofitosis. Revistas de Cabaña Lagunita N° 15. Disponible en: <URL:<http://www.pyme.mendoza.gov.ar/pdf/cursos/conejos%20Lagunita.pdf>>. [Consultado el 28 de febrero 2012].

suelen rascarse con intensidad. Los reproductores soportan mejor la enfermedad, y aparentemente son menos susceptibles a la misma. En ocasiones las dermatofitosis extensas y graves determinan incluso inflamación ganglionar en la zona afectada⁸.

4.2.4 Diagnóstico. Según Foster y Smith:

“El diagnóstico básicamente se constituye de dos elementos fundamentales, la visualización de síntomas y en el diagnóstico de laboratorio donde se realiza un estudio micológico que consta del examen directo y el cultivo”⁹.

Según Rezusta:

“Para alcanzar el éxito en el diagnóstico micológico es fundamental realizar adecuadamente la recogida de la muestra, su transporte y procesamiento, la siembra de la misma en los medios idóneos y a la temperatura adecuada, así como la identificación e interpretación correcta de los aislamientos”¹⁰.

Para Murillo:

Este diagnóstico consta de: examen directo, cultivo y posterior identificación del dermatofito. En el examen directo se hacen montajes microscópicos de las muestras de piel sacadas por medio de raspados, muestras de uñas y pelos con hidróxido de potasio (KOH), la maceración del material queratinizado puede aumentarse con rápidos pasajes sobre el fuego de un mechero o dejándolo reposar por un periodo de 15 a 30 minutos, en el caso de pelos, y 1-2 en el caso de uñas¹¹.

⁸ LLEONART, F. Dermatomicosis. Conejos y algo más. Disponible en : <URL:<http://www.conejosygommas.com.ar/articulos023.asp?ootkey=228&ootest=3>>, [Consultado el 24 de enero 2012]

⁹ FOSTER y SMITH, Op. Cit.

¹⁰ REZUSTA LÓPEZ, Antonio. SÁNCHEZ SOUZA, Aurora y GIL TOMAS, Joaquina. Fundamentos básicos para el diagnóstico micológico. Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. En: Revista iberoamericana de micología. Bilbao, junio del 2006. Cap. 3. Disponible en <URL:<http://www.guia.reviberoammicol.com/cap3.pdf>> ISBN: 84 – 607 -3050 – 6. [Consultado el 22 febrero de 2013]

¹¹ MURILLO NEUFELD, Paulo. Diagnóstico laboratorial de las Dermatofitosis. En: Revista del colegio de microbiólogos. Disponible en: URL:<http://www.colegiomicrobiologoscr.org/revista/2001-5%20Diagn%F3stico%20Laboratorial%20de%20las%20Dermatofitosis.doc>. [citado el 22 febrero de 2013]

Rezusta afirma:

La observación microscópica se realiza con bajo aumento, seguida de alto aumento en seco y, si es necesario, con objetivo de inmersión. Las dos formas observadas habitualmente son levaduras y/o elementos miceliares. Aunque es muy difícil identificar una especie fúngica por la morfología observada en el examen microscópico directo de la muestra, algunas imágenes pueden asociarse a ciertos géneros o especies. Es aconsejable utilizar periódicamente controles positivos y negativos y, si una tinción se emplea ocasionalmente, deben incluirse siempre controles que aseguren su correcta utilización¹².

Según el laboratorio veterinario especializado VetLab®:

La estructura básica de este tipo de hongos incluye un cuerpo o talo vegetativo filamentoso llamado Micelio. Las ramas de este micelio se denominan Hifas, que crecen en todas direcciones. Las Septas o tabiques corresponden a paredes celulares fúngicas entre cuyas cavidades se generan Esporas o células vegetativas hijas. Las Conidias son las esporas asexuales. Las hifas "viejas" presentan septos frágiles que se fragmentan, formando esporas redondeadas o en forma de barriles, denominadas Arthroconidias. Al examen microscópico directo, en la raíz del pelo pueden observarse la posición de las arthroconidias en relación con la estructura capilar. Las arthroconidias pueden encontrarse fuera del hilo del pelo y dispuestas en cadena, o en mosaico (patrón ectotrix), o intracapilarmente, ocupando la médula del pelo (patrón endotrix)¹³.

En cuanto al cultivo de dermatofitos cervantes declara: La piel de los animales esta normalmente contaminada, especialmente por esporas y conidias micóticas y bacterias. Se requiere de paciencia para obtener un aislamiento de dermatofitos que son de lento crecimiento y se requiere de usar medios que ayuden a prevenir el sobre crecimiento de hongos saprófitos o bacterias.

Los micólogos frecuentemente utilizan una receta personal para cultivar dermatofitos, pero existen una buena cantidad de medios comerciales disponibles que contienen los ingredientes básicos. Estos incluyen: 4% de Glucosa, 1% de Peptona, 2% de agar (agar dextrosa Sabouraud o SDA) además de quimioterapéuticos antibacterianos como son cloranfenicol o la

¹² REZUSTA, A. Op. Cit. p. 6

¹³ LABORATORIO VETERINARIO ESPECIALIZADO Vetlab®. Conceptos para el diagnóstico microscópicos de micosis dérmica en medicina veterinaria. Disponible en URL:http://www.vetlab.blogspot.com/2005_09_01_archive.html. [citado el 22 de febrero de 2013].

combinación de penicilina-estreptomina y también cicloheximida esta última sirve para detener el crecimiento de hongos saprófitos de rápido crecimiento¹⁴.

4.2.5 Tratamiento. Los mismos autores afirman que:

“Las lesiones pueden someterse a un tratamiento con champús queratolíticos, povidona-yodo agentes de limpieza, baños de cal, azufre, y/o fungicidas tópicos (por ej., miconazol o clotrimazol crema)”¹⁵.

Tratamiento tópico:

Reduce la cantidad de esporas en la epidermis y porción distal del pelo, disminuyendo el riesgo de contagio. En animales de pelo largo es recomendable el rasurado previo con cuidado de no producir micro traumatismos que puedan extender la infección. La aplicación debe realizarse en forma de baños o pulverizaciones. Abarcando toda la superficie de la piel, no siendo recomendable tratar solo las lesiones localizadas ya que el material infectivo se encuentra presente también en áreas no lesionadas. Sin embargo en lesiones muy localizadas y queriones con frecuencia se usan solo pomadas a base de derivados imidazolicos, como el miconazol o el triconazol¹⁶.

En el caso de aplicar baños, se recomienda cortar previamente el pelo sin llegar a rasurarlo, ya que los pequeños traumatismos en la piel debidos al rasurado favorecen la diseminación de la infección. El mejor producto tópico en dermatofitosis es el enilconazol, aplicado dos veces a la semana, aunque en gatos citan casos de toxicidad, posiblemente por ingesta debido a acicalado. La clorhexidina es menos efectiva que el anterior. También puede usarse la nistatina como tratamiento tópico.

Tratamiento sistémico: La griseofulvina es el tratamiento de primera elección. Solo cuando esta no funciona se puede escoger otro anti fúngico. La griseofulvina se debe administrar conjuntamente a alimentos grasos, ya que así se incrementa su absorción a nivel intestinal. Es importante saber que este

¹⁴ CERVANTES OLIVARES, R. Tiñas (Ringworm) en perros y gatos. Departamento de microbiología e inmunología, laboratorio de micología, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: URL:http://www.ivis.org/advances/infect_dis_carmichael/cervantes_es/ivis.pdf. [Consultado el 22 de febrero 2013]

¹⁵ FOSTER Y SMITH, Op. Cit.

¹⁶ FRAILE OCAÑA, cristeta, ZURUTUZA, ione, Valdivieso, paula, Dermatofitosis en animales de compañía: riesgo zoonótico. Trabajo científico. Disponible en: <URL:http://www.axoncomunicacion.net/centroveterinario/revistas/44/cv_44_Dermatofitosis%20en%20animales%20de%20compania.pdf>. [Consultado el 16 de abril 2013]

fármaco se debe administrar durante un tiempo más o menos largo, y que los efectos secundarios pueden llegar a ser importantes, (vómitos, diarrea, anorexia y otros menos frecuentes) por lo que nunca se debe tratar un animal en el que no se haya diagnosticado certeramente la enfermedad. Además nunca se debe administrar en hembras gestantes durante los dos primeros tercios de la gestación, ya que es teratogenica, es decir que puede causar mal formaciones en los fetos¹⁷.

4.2.6 Identificación. Para la identificación morfológica a partir de aislamientos de dermatofitos se tiene en cuenta las características macroscópicas y microscópicas como lo afirma Cabañez Sáenz:

Características macroscópicas: A partir de los cultivos realizados en medios selectivos para el aislamiento de dermatofitos, se pueden identificar las especies más frecuentes. Los dermatofitos son hongos hialinos que forman colonias que presentan en general colores claros, con gamas de color restringidas a tonos blanquecinos amarillentos y marronaceos. En pocas ocasiones se observan colonias con colores oscuros u otras tonalidades (azules, verdosas, negras, etc.). Si bien la coloración de las colonias y su textura pueden ayudar a identificar estas especies, las características microscópicas son las que determinan su identificación en la mayoría de los casos¹⁸.

Características microscópicas: existen diferentes estructuras microscópicas a tener en cuenta para la identificación de estos hongos (clamidosporas, distintos tipos de hifas, etc.). No obstante, la forma y distribución de macroconidios y microconidios es fundamental a la hora de definir los géneros y especies. Para determinar la presencia de estas estructuras a partir del cultivo, se realiza una preparación entre porta y cubre con un pequeño fragmento de una de las colonias con el fin de observarla al microscopio. Se aconseja líquidos de montaje tipo lactofenol de Amman, lactofenol azul de algodón o lactofucsina¹⁹.

¹⁷ REJAS LÓPEZ, Juan. Dermatología clínica veterinaria. Facultad de veterinaria universidad de León. Disponible en : <URL:<http://www3.unileon.es/personal/wwdmvjrl/dermatopatias/dermatofitosis.html>>[Consultado el 17 de abril de 2013].

¹⁸ CABAÑEZ SÁENZ, Javier. Identificación de hongos dermatofitos. Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. Revista iberoamericana de micología. Disponible en : <http://www.guia.reviberoammicol.com/cap12.pdf>. [Consultado el 22 de febrero 2013]

¹⁹ Ibíd.

Jawetz *et al.* Aseguran:

Características de los dermatofitos: trichophyton, microsporum y epidermophyton, se identifican por sobre todo por lo tipos de macro y microconidias (llamadas también macro y microaleurisporas) que se forman al cultivarse sobre agar saboraud dextrosa o agar de mycosel.

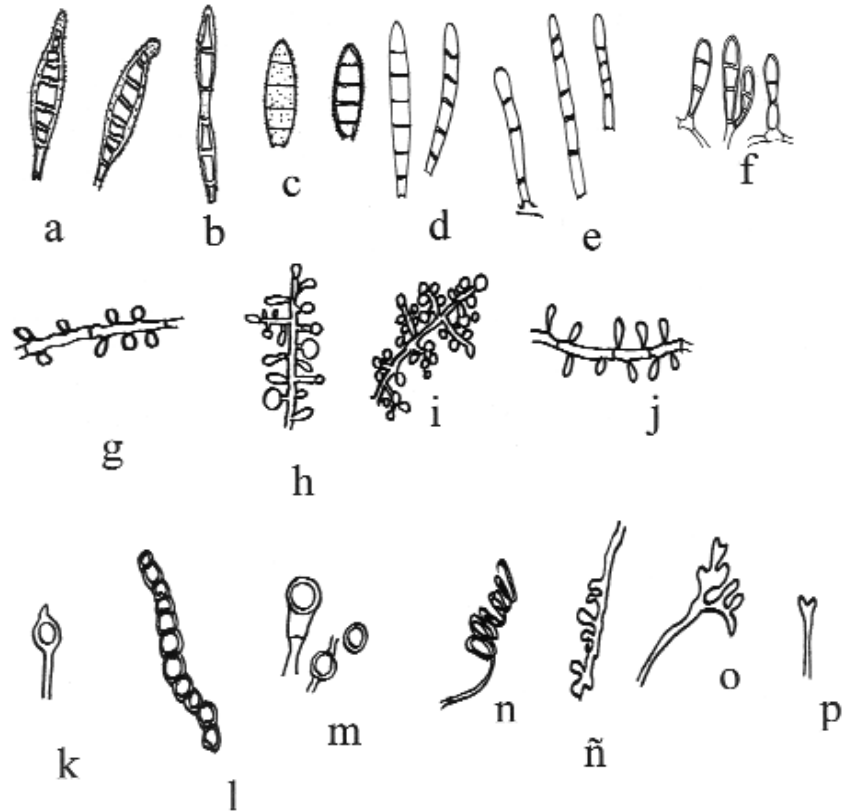
Trichophyton. Las colonias presentan hifas septadas, muchas microconidias y algunas macroconidias largas y delgadas similares a un cigarro, cuando se cultivan con agra saboraud dextrosa la apariencia de la parte inferior de la masa fúngica sobre el agar ayuda a identificar ciertas especies. Ver figura 1(d, e, i, j, l, n, p, o).

Microsporum. Las especies de microsporum se desarrollan como hifas septadas con muchas macroconidas burdas, de gran tamaño y algunas microconidias. Aunque no afectan uñas, si infectan el exterior del cabello. Las especies son microsporum canis, microsporum gypseum y microsporum audouinii ver figura 1 (a, b, c, g, k, ñ).

Epidermophyton. Carece de microconidias y forma macizos de macroconidias lisas de gran tamaño semejante a plátanos. Ver figura 1 (f)²⁰.

²⁰ JAWETZ. MELNICK. Y ADELBERG. Microbiología Médica. México: Manual Moderno, 2002. p. 844

Figura 1. Identificación morfológica de Dermatofitos.



Fuente. Cabañez Saenz Javier

Diferentes tipos de macroconidios (a-f), microconidios (g-j), clamidosporas (k-m) e hifas (n-p)

4.3 SANCIA (*Coriaria ruscifolia*, L.)

4.3.1 Descripción botánica *Coriaria ruscifolia*. L “es una especie que pertenece a la familia *Coriariaceae*. De esta se puede extraer los alcaloides coriamirtina y tutina, la primera es tóxica para el hombre y emborracha a las cabras, pero se habla de que dicha planta genera efectos narcóticos y enteógenos en el hombre, pero algunos reconocen a la planta como venenosa”¹¹.

Figura 2. *Coriaria Ruscifolia*, L.



Es un arbusto o árbol más bien pequeño, hasta de 7 m de alto, con las ramas extendidas; hojas sésiles o subsésiles, las de los tallos principales opuesto-cruzadas, ovadas a cordiformes o suborbiculares, a veces más anchas que largas, abrazadoras en la base, con 5 a 9 nervaduras basales, las de las ramas laterales oblongo-ovadas a elípticas o lanceoladas, de 0,5 a 7,5 cm de largo y de 0,2 a 3,2 cm de ancho, ápice agudo a acuminado o mucronado, base cuneada; racimos con frecuencia largos y delgados, hasta de 25 cm de longitud, pubérulos, originándose en las ramas principales, o bien en las laterales; flores sobre pedicelos delgados, de 2 a 6 mm de largo, acompañados por una bráctea basal; flores de 2 a 3 mm de diámetro, hermafroditas, de color rojizo oscuro con verde, amarillentas o blanquecinas; sépalos ovados, de 1.5 a 2

mm de largo y 1 a 1,5 mm de ancho; pétalos más cortos que los sépalos; fruto subgloboso, de 3 a 4 mm de diámetro, de color oscuro, conteniendo por lo común 5 cocos rodeados por los pétalos carnosos acrescentes.

4.3.2 Clasificación taxonómica de la Sancia. Certificado de identificación taxonómica UDENAR ejemplar de la especie vegetal *Coriaria Ruscifolia* con nombre común "Sancia" número de inclusión en la colección 232, primera fecha de colección Enero de 1952. Colector Mora, L.E

4.3.3 Ecología y adaptabilidad. *Coriaria ruscifolia* crece en forma natural entre México a Sudamérica, también en Nueva Zelanda, Nueva Guinea y otras islas del Pacífico. Es frecuente observarla en lugares húmedos, orillas de esteros y cortes de caminos con afluentes húmedos.

4.3.4 Usos y aplicaciones. El único reporte medicinal en nuestra región está registrado en la cartilla de Conocimiento ancestral indígena en salud animal, editado en Julio de 2012 con información de propiedad intelectual del Pueblo de los Pastos. Donde se describe un preparado de frutos maduros de Sancia y ceniza que se aplica dos veces al día sobre la lesión micótica hasta observar mejoría.

Los demás reportes son de otros países latinoamericanos como Chile, Argentina y Ecuador, donde se han realizado estudios sobre las variedades de este ejemplar y se han encontrado distintas propiedades como: sus propiedades muy tóxicas que sirven para matar roedores y su propiedad alucinógena.

4.4 FITOTERAPIA

Según Varcacel:

"La fitoterapia es la utilización de plantas o partes de ellas con fines terapéuticos y viene siendo utilizada por los animales y el hombre desde la prehistoria, de hecho la mayor parte de los fármacos actuales están basados en los principios activos de las plantas"²¹.

²¹ VARCACEL, María. Fitoterapia. Disponible en : <http://dsalud.com/fitoterapia-numero_17.htm> [Consultado el 14 marzo 2012]

Por otro lado Saz afirma que:

“La fitoterapia se utiliza en dos sentidos: como terapia específica e inespecífica. Específica: por acciones farmacológicas aisladas sobre un órgano. Inespecífica: por la acción general sobre el organismo debido al complejo sistema de reacción de las plantas, donde muchos de los componentes o metabolitos poseen un efecto sinérgico entre sí”²².

Los metabolitos secundarios son los productos del metabolismo que la planta genera para funciones que no son vitales. ¿Cuáles son estas funciones? Pues son todas aquellas funciones destinadas a la relación de la planta con el medio ambiente que la rodea. Del estudio de los metabolitos secundarios se encarga, pues, la farmacognosia. ¿Por qué? Pues porque esos metabolitos secundarios confieren a la planta sus propiedades terapéuticas, convirtiéndose entonces en compuestos medicinales.

En el estudio de los metabolitos secundarios, no debemos pensar en los principios activos de forma aislada, pues esa es una cuestión más propia de la farmacéutica, sino de un concepto muy interesante: la sinergia. La sinergia significa que las propiedades terapéuticas de una planta no provienen de un único principio activo de los que está compuesta, sino de la acción conjunta de todos ellos. El hecho de que nosotros estudiemos los metabolitos secundarios uno a uno es, simplemente, para simplificar su estudio

4.5 RESIDUOS DE FÁRMACOS EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

De acuerdo con los organismos mundiales de referencia, los residuos de fármacos en alimentos de origen animal son considerados como un factor de riesgo en la salud pública y como limitante en el desarrollo económico de cualquier país. Los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal generan productos de baja calidad y constituyen un riesgo para la salud de los consumidores, produciendo toxicidad aguda o crónica, efectos teratogénicos y carcinogénicos, desórdenes en el desarrollo corporal, reacciones alérgicas y fenómenos de resistencia bacteriana, entre otros.² Estos efectos adversos han hecho que organizaciones internacionales regulen con fundamento

²² SAZ, Pablo. Fitoterapia y Medicina Naturista. Disponible en: (<http://www.herbolarilaneu.com/index.php/monograficos/388-monografico-7-por-que-curan-las-plantas-metabolitos-secundarios>). [Consultado el 14 marzo 2012]

científico los residuos de fármacos de uso veterinario potencialmente peligrosos para la salud humana²³.

El Consejo Nacional de Política Económica y Social de la República de Colombia afirma que:

A pesar de la antigüedad de las regulaciones internacionales existentes, sólo hasta hace poco en Colombia, dada la actual situación económica y comercial, se está prestando atención a esta problemática sanitaria y se han comenzado a adoptar nuevas medidas para reconocer la residualidad de fármacos y de otras sustancias en los alimentos de origen animal producidos en el país, con lo cual se pretende lograr mayor competitividad de los productos pecuarios en los mercados internacionales²⁴.

“Según la Asociación Nacional de Laboratorios de Productos Veterinarios tanto el *Codex Alimentarius* como la EMEA han elaborado su propia lista de fármacos regulados, esta incluye los límites de residuos máximos para cada principio activo detallando en qué especie animal, tejido o subproducto de esta se establece dicho límite”²⁵.

4.6 ESTUDIOS ACTIVIDAD ANTIFUNGICA EN PLANTAS

Antonio Sanabria y José Ramón Mantilla en su estudio denominado Actividad antifúngica de plantas superiores colombianas evaluaron la actividad antifúngica de los extractos etanolicos de 56 plantas superiores por el método de difusión en gel, perforación en placa e inoculación en profundidad frente a *Candida* sp., *Aspergillus Niger*, *Mucor* sp., *Penicillium* sp., y *Alternaria* sp. Las plantas *Ageratina Ibaguensis*, *Conyza floribunda*, *Eupatorium af altidifollum*, *E. densum*, *E. mortfollum* y *E. tacotanum* de la familia *compositae* y *Bucquetia Glutinosa*

²³ Lozano María, MV, Arias Diana. Residuos de fármacos en alimentos de origen animal: panorama actual en Colombia, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Disponible en: <<http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/view/337>>[Consultado el 20 de octubre de 2012]

²⁴ CONPES. Consejo Nacional de Política Económica y Social, República de Colombia, Departamento Nacional de Planeación, Documento Conpes 3376: Política Sanitaria de Inocuidad para las Cadenas de la Carne Bovina y de la Leche. Disponible en: <http://www.dnp.gov.co/archivos/documentos/Subdireccion_Conpes/3376.pdf>[Consultado el 22 de octubre de 2012]

²⁵ APROVET (Asociación Nacional de Laboratorios de Productos Veterinarios). Vademécum Veterinario Aprovet. Bogotá: Editorial Aprovet; 2002. p .56

(Melastomaceae) presentan una actividad antifúngica contra por lo menos 3 de los 6 hongos probados.

En la actualidad las fuentes más importantes para la obtención de sustancias con actividad antifúngica son especies de streptomyces, algunos hongos y productos de síntesis orgánica; sin embargo, las plantas superiores han mostrado muy buenas perspectivas con este propósito y se han publicado un buen número de trabajos entre los cuales se pueden mencionar los siguientes: Pitts y col. Demostraron la actividad de un extracto acuoso de los frutos de *solanum carolinense* frente a *Penicillium* sp. Khanna y Nene. Detectaron la acción antifúngica de la planta *Anagallis orvensis*. Se han aislado algunos alcaloides con actividad antifúngica, por ejemplo Ferency y col. determinaron que un alcaloide obtenido de *Cynanchum vincetoxycum* inhibió el crecimiento de levaduras, mohos y dermatofitos en concentraciones inferiores a 1.0 mcg/ml. Igualmente Hufford y col. Informaron de la actividad antifúngica de la Liriodenina y de otros alcaloides con núcleo de la oxoaporfina. Algunos acetilenos aislados especialmente de plantas de las familias Compositae, Umbelliferae, Araliaceae y Campanulaceae presentan actividad antifúngica significativa. El safinol y el dihidrosafinol, obtenidos de Umbelíferas, mostraron actividad contra *Phytophthora drechleri* en concentraciones de 12 y 1.7 mcg/ml respectivamente.

De la compuesta *Artemysa capillaria* se aislaron cetonas acetilénicas como la capillina y de *Aegopodium podagraria* en 1978, Kemp, identifico los poliacetilenos falcarinol y falcarindiol. Sustancias que presentaron una potente actividad antifúngica. De *Vicia faba*, una leguminosa, Fawcett y col. aislaron un cetoéster acetilénico derivado del furano, denominado wyerona y demostraron que este compuesto y algunos de sus derivados inhiben el crecimiento de varias especies de hongos. Por otra parte Jurd y col. demostraron que las cumarinas naturales seselina, xanthiletina, psoraleno y luvangetina inhiben a concentraciones comprendidas entre 30 y 300 mcg/ml, el crecimiento de los hongos *Aspergillus niger* y *Curnularia lanata*. Finalmente vale la pena citar la potente actividad antifúngica de un compuesto con una estructura sencilla, como el p-metoxicinamato de etilo, aislado por Gupta y Banerjee de la *Curcuma zedoira*, el cual fue activo contra 11 hongos en ensayo a una concentración de 50 mcg/ml²⁶.

²⁶ SANABRIA, Antonio y MANTILLA, Jose Ramon. Actividad antifúngica de plantas superiores colombianas. Bogotá: Departamento de Farmacia Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. En: Revista colombiana de ciencias químico farmacéuticas (RCCQF), No. 15, febrero de 1986 Pp. 17 -21, Disponible en Internet URL: <http://www.ciencias.unal.edu.co/unciencias/data-file/farmacia/revista/V15P16-22.pdf> [Citado 20 de abril de 2014]

4.7 PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR EL EFECTO ANTIFÚNGICO.

- Se prepara el medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa, como ya se ha descrito, y se mantiene a una temperatura de 50° C en baño maría.
- Se vierte el medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa en el número de cajas Petri establecido para el ensayo y esperamos a que el medio se solidifique.

Figura 3. Servido de Medio de cultivo



Se procede a hacer la siembra en cajas Petri con un método de punción, método de siembra utilizada para observar el crecimiento de hongos y así más adelante establecer su morfología, así como para la transferencia o subcultivo de cepas previamente almacenadas y/o conservadas. Consiste en tomar parte del micelio con un asa micológica (recta), y por una punción suave en la caja inocular el microorganismo a estudiar. Dependiendo del objetivo, pueden hacerse múltiples picaduras en el agar varios puntos de siembra. Aunque el uso de la cámara de flujo laminar, para la siembra y replica de cepas de hongos, no es necesario, debido a que sus esporas son altamente volátiles y resistentes a las condiciones que provee la cámara. Se utilizó como método para bajar de cierta manera la carga bacteriana contaminante.

Figura 4. Cultivos de *Trichophyton sp.* en Agar saboreud dextrosa.



- Se preparan los microdiscos PAD absorbentes, de un diámetro de 5 mm y se sumergen en los extractos y controles para que se impregnen de las soluciones durante 25 a 30 minutos.
- Posteriormente se llevan a incubadora a 26° C durante 7 días.

Figura 5. Cultivos en Incubadora

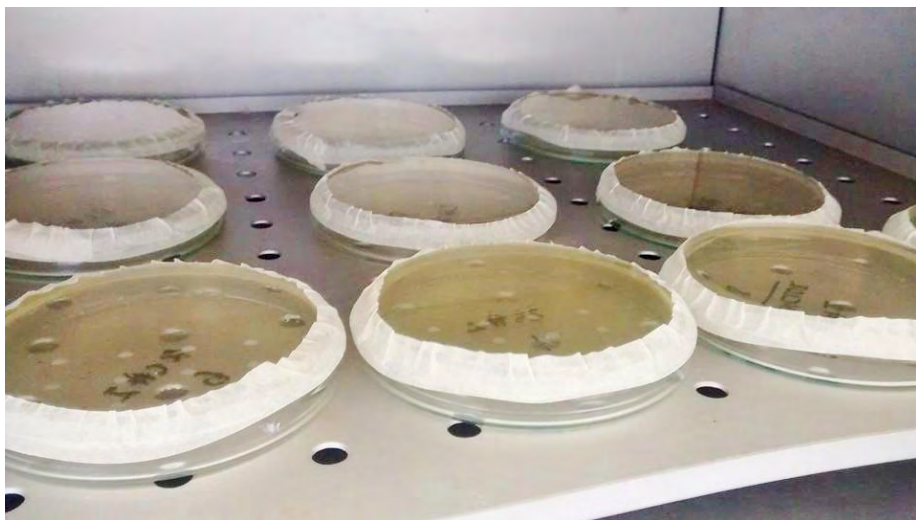


Figura 6. Cajas Petri inoculadas con *Trychophyton sp.* mas la presencia de microdiscos con Sancia y Sancia+ceniza



4.8 ANÁLISIS FITOQUIMICO SANCIA (*Coriaria ruscifolia*, L)

“El análisis fitoquímico tiene como objetivo determinar los metabolitos secundarios presentes en la especie vegetal a estudiar, por ejemplo en las plantas medicinales, aplicando para ello una serie de técnicas de extracción, de separación y purificación y de determinación estructural como las siguientes”²⁷.

4.8.1 Prueba de Cloruro Férrico para Fenoles. Técnica. “La muestra es disuelta en agua, o una mezcla de agua y etanol, y se agrega unas gotas de solución de cloruro de hierro (III) diluido. La formación de una coloración roja, azul, verde, o púrpura indica la presencia de fenoles. Si la muestra es insoluble en agua, puede ser disuelta en diclorometano, con una pequeña cantidad de piridina.

²⁷ LOCK DE UGAZ, Olga. Análisis fitoquímico y metabolitos secundarios. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú [Citado 20 de abril de 2014], disponible en internet URL <http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap4.pdf>

Los fenoles forman un complejo con Fe(III), que es intensamente coloreado. Esto es el fundamento de la prueba²⁸.

4.8.2 Prueba de Gelatina /Sal para Fenoles. “Se agregó 1 mL del extracto etanólico en un tubo de ensayo, 1 mL de solución acuosa de gelatina-sal, y 100 g de cloruro de sodio por litro. Se empleó solución de ácido tánico al 10% como patrón para comparar los resultados (Calle y Jiménez, 2002). La formación de un precipitado al agregar el reactivo de gelatina, y la aparición de colores o precipitados verdes, azules o negros es prueba positiva a la presencia de taninos que son sustancias fenólicas²⁹.”

4.8.3 Prueba de Acetato de Plomo. “Esta prueba se realizó con el fin de identificar fenoles, en caso de haberlos. Los taninos reaccionan con solución de acetato de plomo, produciendo turbidez o precipitado blanco (Calle y Jiménez, 2002)³⁰.”

4.8.4 Prueba de Lieberman. “Corresponde a una reacción de sustitución aromática electrófila, en donde el fenol reacciona con el ión nitrosonio (NO⁺), el cual se forma al mezclar el nitrito de sodio (NaNO₂) con ácido sulfúrico (H₂SO₄). El ión nitrosonio que reacciona con el fenol se forma según la siguiente reacción³¹:

4.9 CROMATOGRAFIA

La cromatografía es un método físico de separación basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija o estacionaria y otra móvil. En la cromatografía líquida, la fase móvil es un líquido que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija. La cromatografía líquida “clásica” se lleva a cabo en una columna generalmente de vidrio, la cual está rellena con la fase fija. Luego de sembrar la muestra en la parte superior, se hace fluir la fase móvil a través de la columna por efecto de la gravedad. Con el objeto de aumentar la eficiencia en las separaciones, el tamaño de las partículas de fase fija se fue disminuyendo hasta el tamaño de los micrones, lo cual generó la necesidad de utilizar altas presiones para lograr que fluya la fase móvil. De esta manera, nació la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), que requiere de instrumental

²⁸ Ibíd.

²⁹ Ibíd.

³⁰ Ibíd.

³¹ Ibíd.

especial que permita trabajar con las altas presiones requeridas. Para el presente estudio se utilizó esta técnica, pues en la actualidad ha llegado a ser una de las más importantes como herramienta analítica para separar y detectar compuestos químicos³².

4.9.1 Flavonoides y antocianinas. “Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. Desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer”³³.

Se han reportado en diferentes estudios el efecto antimicótico de flavonoides reportados en la cromatografía realizada en esta investigación, según Rodríguez-Garza, González-González, Verde-Star, MoralesRubio, Rivas Morales, Oranday Cárdenas, Núñez González, Treviño-Neávez: en su estudio determinaron la actividad antifungica in vitro de extractos metanolicos de *Ariocarpus kotschoubeyanus* y *Ariocarpus retusus* plantas xerófitas usadas en la medicina tradicional sobre los hongos dermatofitos *Trichophyton tonsurans*, *Microsporum canis* y *Microsporum cookei* Los extractos resultaron positivos para flavonoides entre otros compuestos.

Según Chiriboga:

“En su investigación fitoquímica, tomaron en cuenta la actividad antibacteriana y antimicótica de plantas medicinales investigadas pertenecientes a 28 familias, 49 géneros y 63 especies Encontrando así, alcaloides en 20, esteroides en 46, flavonoides en 23, taninos en 35, saponinas en 24”³⁴.

³² MARTÍNEZ-FLÓREZ, S; GONZÁLEZ-GALLEGO, J; CULEBRAS, JM y. TUÑÓN, M.^a . Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. México: Departamento de Fisiología, Universidad de León y *Hospital de León. España , revista nutrición hospitalaria volumen 271-278, 2002. [Citado 30 de abril de 2014] disponible en internet <URL www.aulamedica.es/gdcr/index.php/nh/article/download/3338/3338

³³ Ibíd.

³⁴ CHIRBOGA, Ximena. Investigación fitoquímica de plantas con actividad antibacteriana y antimicótica. Quito: Universidad Andina Simon Bolivar, 1995.

Según Chang Huerta y Carbonell, Morales León:

“Concluyeron que los Flavonoides, isoflavonoides y otros representantes de este grupo han demostrado tener propiedades antibacterianas, antivirales y antifúngicas”³⁵

MESA; MONTIEL; MARTÍNEZ; ZAPATA; PINO; BUENO y STASHENKO, evaluaron que:

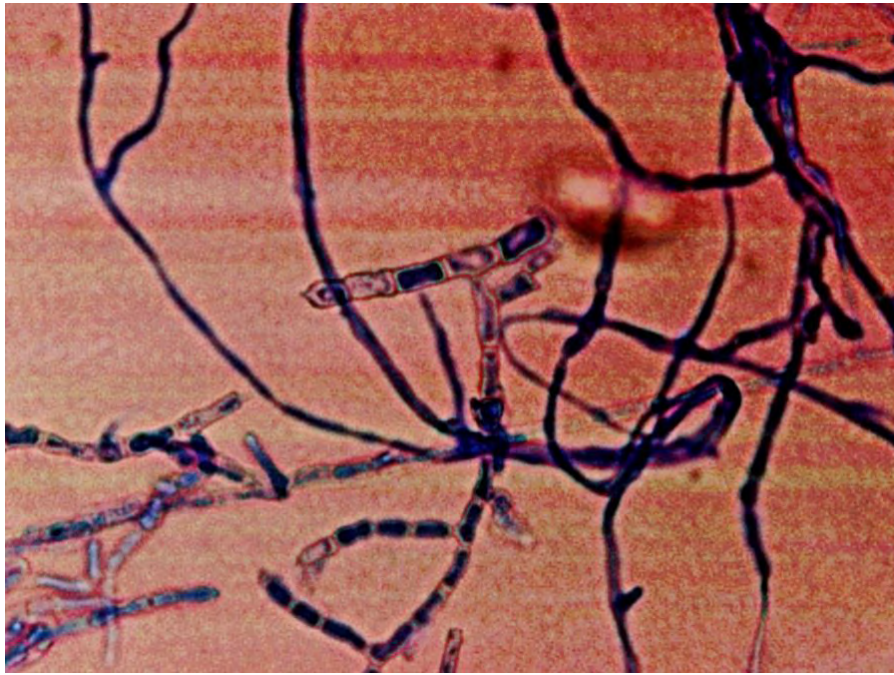
“La actividad antifúngica in vitro de 10 aceites esenciales provenientes de especies del genero Piper. Aquí reportan que estudios previos reportaron su utilidad como antiviral, antibacteriano y particularmente como antimicótico. Estas propiedades biológicas son atribuidas a la presencia de lignanos y flavonoides en los extracto”³⁶.

Criterios de inclusión. Animales positivos a dermatofitosis por *Trichophyton sp.* A través de examen microscópico de improntas cultivo teñidas con KOH.

³⁵ CHANG HUERTA, Lorenzo; CARBONELL, Yeisa Rosalba y MORALES LEON, Jose Angel. Composición fitoquímica de los tallos y hojas de la especie *Solanum nigrum L.* que crece en Cuba. Cuba: Universidad de Granma. Bayamo, Cuba, Revista Cubana de Plantas Medicinales, vol.18 no.1 Ciudad de la Habana ene.-mar. 2013 [Citado 30 de abril de 2014] disponible en internet <URL http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962013000100003&script=sci_arttext

³⁶ MESA, Ana Cecilia, MONTIEL, Jehidys, MARTINEZ, Catalina, ZAPATA, Bbiana, PINO, Nayive, BUENO, Juan Gabrie y STASHENKO, Elena. Actividad in vitro anti-candida y anti-aspergillus de aceites esenciales de plantas de la familia piperaceae, revista scientia et technica. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira, volumen 1 número 33 del 2007, [Citado 30 de abril de 2014] disponible en internet <URL revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/File/6089/3283

Figura 7. Impronta positiva de *Trichophyton sp.* Observada en microscopio



5. DISEÑO METODOLOGICO

5.1 TIPO DE ESTUDIO

- Se realizó un estudio de tipo experimental

5.2 LOCALIZACIÓN

La recolección del fruto se realizó en la vereda Machines del municipio de Cumbal localizada a 0° 55" de latitud norte y 77° 48" de longitud Oeste a una altura promedio de 3.050 m.s.n.m, en el departamento de Nariño. Debido a la amplia presencia de este ejemplar vegetal en la zona. El ensayo de laboratorio se realizó en las instalaciones de la Universidad de Nariño de la Ciudad de San Juan de Pasto, departamento de Nariño, Colombia, la cual se encuentra a una altitud de 2640 msnm, con una precipitación promedio de 850 mm por año, humedad relativa del 70% y una temperatura promedio de 14° C.³⁷.

5.3 RECOLECCIÓN DEL EJEMPLAR VEGETAL

Con la ayuda de guantes se comienza recolectando el fruto de su rama con delicadeza y posteriormente se guarda en bolsas plásticas para poder transportarlo hasta la ciudad de Pasto.

³⁷ FAJARDO, Rota y CIFUENTES, Jorge. Diccionario geográfico de Colombia. Santa Fe de Bogotá. D.C.: Instituto geográfico "Agustín Codazzi". p. 350.

Figura 8. Recolección de fruto



Luego se realiza un lavado con agua destilada y tres más con Hipoclorito de sodio al 5.25% para retirar cualquier impureza y microorganismos que no forman parte de la naturaleza del fruto. Finalmente se entregaron las muestras lavadas y pesadas para dar continuidad a los estudios químicos.

5.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

Con el fin de obtener cultivos de *Trichophyton sp* se seleccionaron los cuyes que presenten signos de dermatofitosis de la Granja Experimental Botana propiedad de la Universidad de Nariño y se escogieron aleatoriamente 8 de estos.

Los animales con signos de Dermatofitosis fueron muestreados mediante un raspado de piel de las zonas afectadas, también se tomaron pelos de alrededor de la zona alopecica y se hicieron impresiones de la piel afectada con cinta adhesiva. Estas muestras se colocaron entre portaobjetos para su traslado al Laboratorio. Las muestras se sometieron a examen directo para identificar dermatofitos haciendo montajes al microscopio de las muestras de piel y pelos

tomadas de los cuyes, entre un portaobjetos y un cubreobjetos con hidróxido de potasio (KOH) al 10 %, se flamea la muestra, e inmediatamente se pasa al microscopio para su análisis. Las muestras que dieron resultado positivo a dermatofitos al examen directo, se condujeron posteriormente a su cultivo en cajas de petri en el medio agar Sabouraud Dextrosa.

Los cuyes muestreados fueron los siguientes:

Cuadro 1. Animales y muestras usados en el estudio

Cuy N°.	Sexo	Muestras
028 D	Hembra	Raspado de miembro posterior derecho
4123 D	Hembra	Raspado de zona lumbar
4131 F	Hembra	Raspado de zona escapular
022 D	Hembra	Raspado de región torácica
4134 C	Hembra	Raspado de zona ventral
4161 C	Hembra	Raspado de cara
4165 F	Hembra	Raspado de oreja

Cuadro 2. Identificación de muestras para siembra

Muestra N°.	Cuy N°.	Examen directo
1	028 D	Lesión endotrix
2	4123 D	Lesión endotrix y exotrix
3	4131 F	Lesión endotrix y exotrix
4	022 D	Lesión endotrix
5	4134 C	Lesión endotrix
6	4161 C	Lesión endotrix y exotrix
7	4165 F	Lesión endotrix

5.5 INSTALACIONES Y EQUIPOS

Toma de muestras en la Granja experimental Botana y su procesamiento y el análisis antifúngico se efectuó en el Laboratorio de Ciencias pecuarias de la UDENAR.

Los equipos usados en el estudio fueron:

- Cámara de flujo laminar
- Incubadora
- Refrigerador
- Microscopio
- Autoclave

Materiales para la toma de muestras (raspado de piel y muestras de pelo):

- Cuchillas de bisturí estériles
- Guantes de látex
- Portaobjetos
- Cinta adhesiva

Materiales para la preparación del medio de cultivo:

- Agar Sabouraud Dextrosa
- Balanza
- Agua destilada
- Estufa
- Autoclave
- Erlenmeyer
- Cajas de Petri estériles
- Mechero
- Hojas de papel
- Papel aluminio
- Cuchara plástica

Materiales para la preparación de los tratamientos:

- Frutos de Sancia (*Coriaria ruscifolia*, L.)

- Etanol de 90°
- Balanza
- Guantes
- Agua destilada y desionizada

5.6 ELABORACIÓN DE LOS PREPARADOS DE SANCIA *Coriaria Ruscifolia. L* y Ceniza

5.6.1 Preparado Sancia y Ceniza. Se tomaron frutos frescos y maduros de *Coriaria Ruscifolia L*, previamente lavados Luego se procedió a llevarlos a un mortero, donde se añadió ceniza en partes iguales hasta lograr una mezcla con textura y consistencia igual a la de una pomada. Para una mejor aplicación al medio de cultivo que contiene los Hongos *Trichophyton sp.* Se utilizaron microdiscos PAD utilizados por lo general en laboratorios de aguas, pero que por su material y facilidad de uso y absorción recortaremos e impregnaremos con las distintas sustancias preparadas.

5.6.2 Preparado de Sancia. Se tomaron frutos frescos y maduros de *Coriaria Ruscifolia L*, previamente lavados Luego se procedió a llevarlos a un mortero y se procedió a molturar dichos frutos hasta obtener un preparado de consistencia acuosa donde se puedan sumergir los microdiscos PAD durante 25 min para su posterior traslado a las cajas de petri.

5.6.3 Preparado de ceniza. Se recolecto la ceniza de manera artesanal, retirándola de un fogón casero donde anteriormente se había incinerado carbón vegetal y/o madera, se cirnio tres veces para eliminar restos grandes de madera no incinerada. Se pesaron 150 gr luego se llevaron a un mortero y se añaden partes iguales de agua, hasta lograr una mezcla homogénea que permita su absorción en los microdiscos PAD. Para descartar, que las propiedades básicas y alcalinas de la ceniza sean la causa por la que In Vivo la planta actué de forma positiva

Controles positivo y negativo. Se tomaron ketoconozol de 200 mg para control positivo y etanol al 95 % como control negativo. De la misma forma que los preparados se impregnaron los discos PAD con las sustancias control y luego se procedió con el ensayo.

Con los siguientes Materiales se realizaron los ensayos y preparados correspondientes.

Tabla 1. Materiales ensayo

<ul style="list-style-type: none"> • 4 morteros 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada
<ul style="list-style-type: none"> • 1 crisol • 60 ml de etanol 	<ul style="list-style-type: none"> • 4 pastillas de Ketoconazol 200 mg • 5 ml Etanol al 95%
<ul style="list-style-type: none"> • Mechero 	<ul style="list-style-type: none"> • 150 mg Ceniza
<ul style="list-style-type: none"> • Aza recta • 2300 mg de material vegetal • 30 placas con raspado de lesiones micóticas 	<ul style="list-style-type: none"> • Pinza o portaagujas • Cajas Petri de vidrio • Cajas Petri desechables

En cada recipiente 4 a 5 microdiscos PAD y con la ayuda de una pinza mosquito los impregnamos con cada preparado lo suficiente para que el sensidisco absorba el contenido durante 25 minutos y pueda así ser colocado en su respectiva caja Petri con el cultivo ya preparado.

5.7 PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

Se pesan 13 gr del medio Agar Sabouraud Dextrosa en un pesa sustancias y se mezcla con 200 ml de agua destilada en un erlenmeyer, utilizando una cuchara plástica y se tapa con papel aluminio. Esta mezcla se calienta en una estufa, agitando frecuentemente y se deja hervir por un minuto, con el fin de homogeneizarla y posteriormente, para esterilizar, se la lleva a autoclave a 121° C por 45 minutos.

A continuación se deja enfriar el medio, ya preparado, al aire libre y enseguida se distribuye en las cajas de petri, teniendo encendidos los mecheros alrededor, para evitar posibles contaminaciones y se dejan enfriar para que solidifique.

5.8 REPLICACIÓN DE LA MUESTRA

En este procedimiento se utilizan las técnicas y utensilios adecuados descritos para un óptimo resultado, ya que la destrucción completa de todos los microorganismos presentes sobre cualquier material o dentro de él, es indispensable en todos los procedimientos analíticos como la preparación de medios de cultivos y otros materiales. Posterior a los 7 días de crecimiento micótico se realiza la replicación de la muestra positiva, usando la técnica de punción que es utilizada para la transferencia o subcultivo de cepas previamente almacenadas y/o conservadas. Consiste en tomar parte del micelio con un asa micológica (recta), y por una punción suave en la caja inocular el microorganismo a estudiar. Dependiendo del objetivo, pueden hacerse múltiples picaduras en el agar varios puntos de siembra³⁸.

5.9 PORCENTAJE DE MATERIA SECA

“El método más utilizado para determinar la materia seca es el de la eliminación del agua libre por medio del calor, seguida por la determinación del peso del residuo, siendo necesario someter las muestras a temperaturas que aseguren un secado rápido para eliminar pérdidas por acción enzimática y respiración celular”³⁹.

5.9.1 Porcentaje de Humedad. Se entiende por humedad el agua libre que contiene el material vegetal. Para una buena conservación ha de ser inferior al 10%, para evitar los procesos enzimáticos, y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca. Existen varios métodos para la determinación de la humedad: Método gravimétrico, Método volumétrico, Método Karl-Fisher. En este caso se utilizó el método Gravimétrico que consiste en pesar una cantidad exacta de material vegetal seco, pulverizado o troceada y se pone en estufa a unos 110 °C, pesándola cada media hora hasta adquirir el peso constante. “La diferencia entre el peso inicial del material vegetal húmedo y su correspondiente peso final, es el contenido en agua o humedad aparente. Pueden perderse sustancias volátiles, por lo que en ocasiones este método no puede utilizarse”⁴⁰.

³⁸ ROJAS TRIVIÑO, Alberto. Conceptos y prácticas de microbiología general. Palmira: Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, 2011.

³⁹ BATTEMAN, J. V. Nutrición Animal. Manual de métodos analíticos. México: Herrero Hermanos, S. A., 1970. p. 468.

⁴⁰ ARRAIZA BERMUDEZ, Maria. Uso industrial de plantas aromáticas y medicinales. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid, [Citado 20 de abril de 2014] disponible en internet: URL: <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema12.pdf>

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 ENSAYO

Los resultados de este ensayo fueron negativos, debido a la alta carga contaminante del fruto. No se lograron medir halos inhibitorios ni tampoco leer otro tipo de variantes sobre el efecto de la exposición del hongo dermatofito ante la presencia del fruto de Sancia (*Coriaria ruscifolia. L.*)

Estadística: Estas 7 muestras positivas se sembraron en Agar Saboraud Dextrosa y de los cultivos principales se realizaron replicas para no perder el material inoculado (Tabla 1)

Tabla 2. Raspados y lesiones encontradas

Identificación	Muestra	Resultado
028D	Raspado de miembro posterior derecho	Lesión endotrix
4123D	Raspado de zona lumbar	Lesión endotrix y exotrix
4131F	Raspado de zona escapular	Lesión endotrix y exotrix
022D	Raspado de región torácica	Lesión endotrix
4134C	Raspado de zona ventral	Lesión endotrix
4161C	Raspado de cara	Lesión endotrix y exotrix
4165C	Raspado de oreja	Lesión endotrix

En total se realizaron un total de 5 ensayos (Tabla 2) con 5 réplicas en cada ensayo para un total de 30 cultivos de los cuales el 80% se contaminaron. El 20% restante no presento agentes micóticos, este corresponde al grupo de control positivo Ketoconazol. (Grafico 1)

Tabla 3. Grupos de ensayo

No Ensayo	Contenido de las cajas de Petri
1	Sancia
2	Ceniza – Sancia
3	Ceniza
4	Ketoconazol
5	Etanol – Control negativo

Figura 9. Vista de la cara posterior de 4 cajas de Cultivos de *Trichophyton, M.* en presencia de Sancia (*Coriaria Ruscifolia, L.*) donde se observan los 4 microdiscos PAD teñidos de rojo por la coloración natural del fruto y parte del micelio vegetativo del hongo.

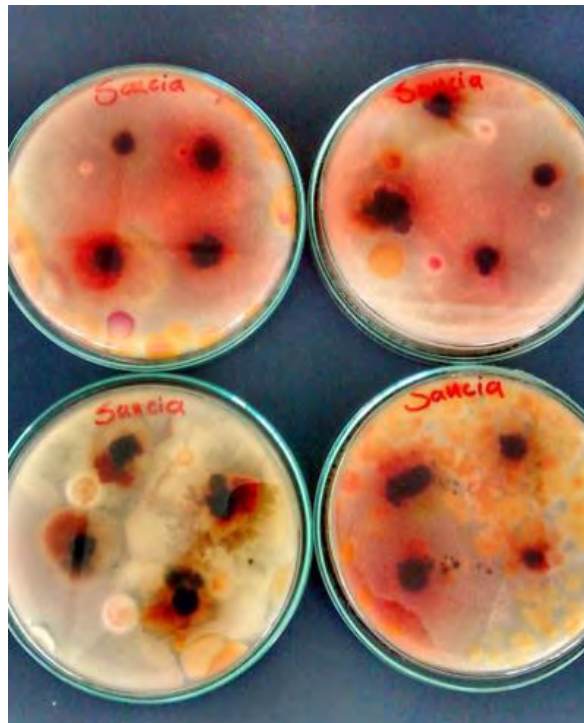


Figura 7. Vista superior de un Cultivo de *Trichophyton, M.* en presencia de Sancia (*Coriaria Ruscifolia, L.*) donde se observa el crecimiento de los hongos contaminantes alrededor de los puntos de siembra.



Figura 11. Cultivo de *Trichophyton, M.* en presencia de Sancia (*Coriaria Ruscifolia, L.*) donde se logra diferenciar claramente la presencia de hongos medioambientales como *Penicillium* de color verdoso y *Aspergillus* de color negro. Y no se pueden distinguir los microdiscos PAD.

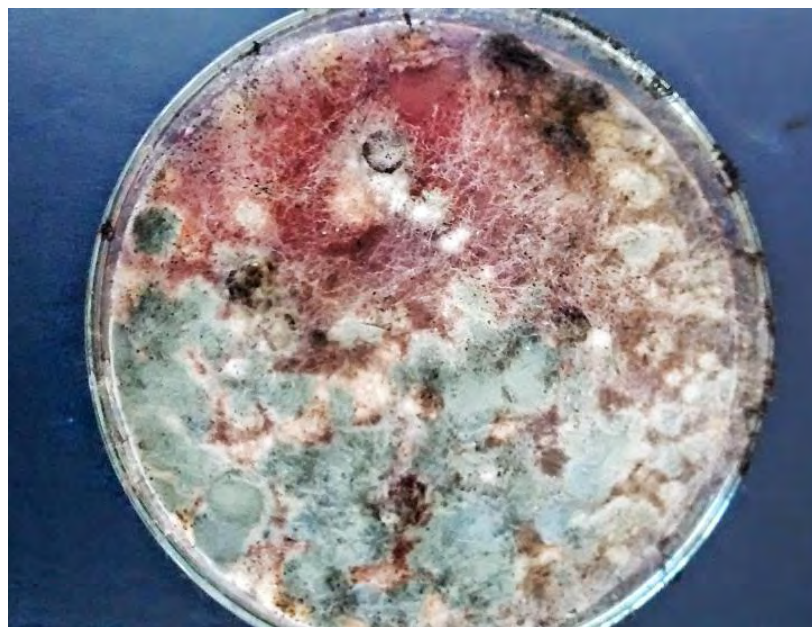


Figura 12. Vista superior de un Cultivo de *Trichophyton, M.* en presencia de Sancia (*Coriaria Ruscifolia, L*) donde se diferencian los microdiscos PAD y se observa en comparación a la Figura 19 la diferencia de tamaño de los puntos de siembra posterior a 7 días de crecimiento.

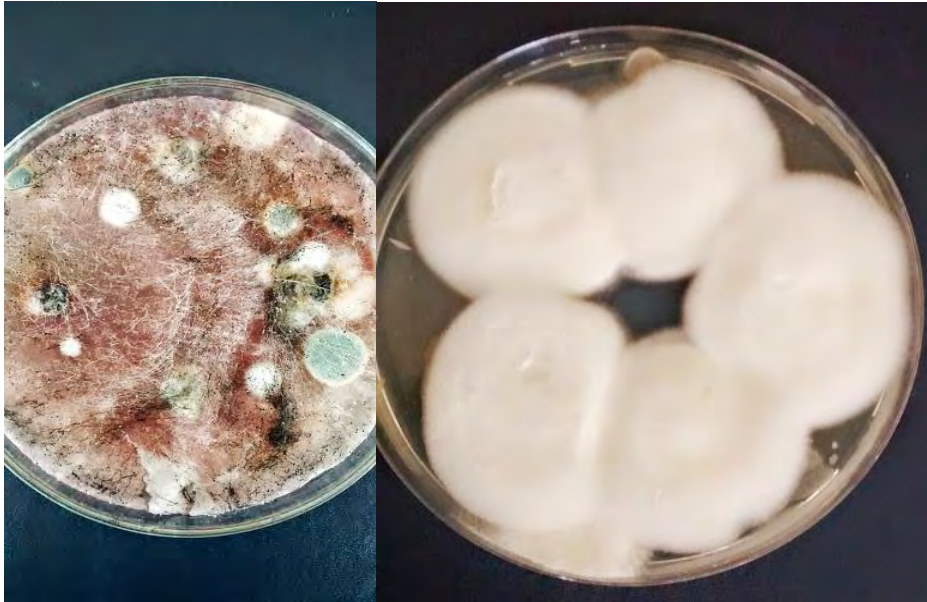


Figura 13. Cultivos *Trichophyton, M.* en presencia de Ceniza donde se observa que la contaminación es mucho menor en comparación a los cultivos sometidos a la presencia del fruto de Sancia.



Figura 14. Cultivos Trichophyton, M. en presencia de Ceniza y Sancia (*Coriaria Ruscifolia, L.*) donde se aprecia notablemente la carga contaminante que trae el fruto.



Figura 15. Cultivo de *Trichophyton, M.* después de 7 días de crecimiento, sin la presencia de ningún preparado. Donde se observa que las colonias crecieron de forma sana y por tanto su tamaño es notablemente superior en comparación a los cultivos expuestos a la presencia de las sustancias preparadas en el ensayo.



6.2 ANÁLISIS FITOQUÍMICO SANCIA (*CORIARIA RUSCIFOLIA, L*)

Resultados: Hallazgo de fenoles por prueba de Cloruro férrico (+++) y Gelatina sal (++) y Acetato de plomo (+). Hallazgo de esteroides por prueba de Liebermann (++)

6.3 PORCENTAJE DE HUMEDAD

Resultado: 5.49%

6.4 PORCENTAJE DE CENIZAS

Resultado: 7.12%

6.5 CROMATOGRAFIA

RESULTADOS: Hallazgo de antocianinas y flavonoides

Figura 16. Preparados de Sancia

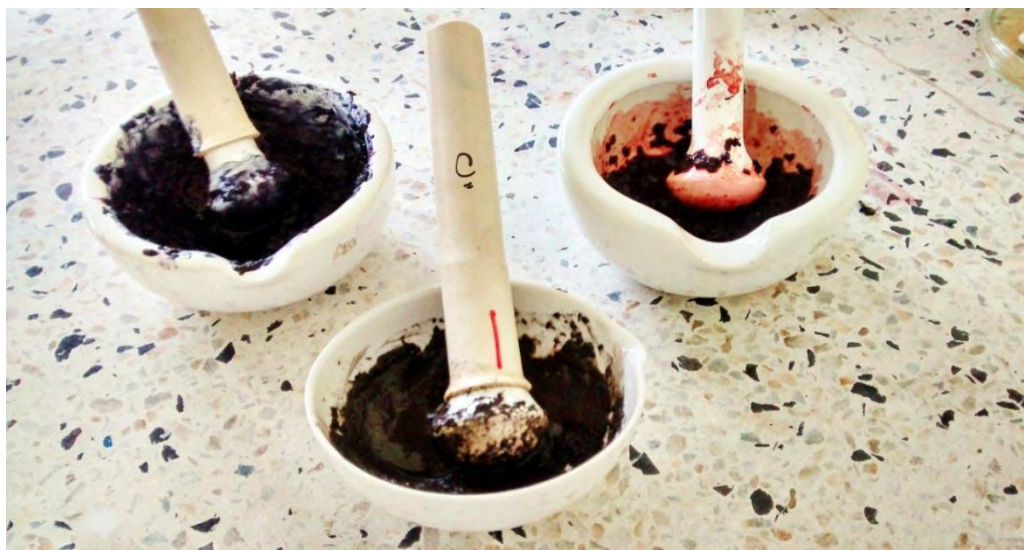


Figura 17. Control positivo ketoconazol



7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

El hallazgo de fenoles y esteroides como metabolitos secundarios tras un análisis fitoquímico de los frutos de Sancia (*Coriaria ruscifolia*, L.) es un indicativo útil para propiedades antimicrobianas en estudios posteriores de esta planta.

Tras la implementación de una Cromatografía líquida de alta definición para polifenoles encontrados en los frutos de Sancia, se encuentran Flavonoides y Antocianinas. Lo que significa que el fruto posee propiedades antibacterianas, antifúngicas y antioxidantes. Aparte de sus propiedades antiinflamatorias, cardiotónicas, antitrombóticas, hepatoprotectoras y analgésicas, que han sido estudiadas en humanos solamente.

El uso del fruto de Sancia (*Coriaria ruscifolia*, L.) para experimentos o ensayos de laboratorio no es viable, debido a su alta carga contaminante que se hace visible al entrar en contacto con el medio de cultivo, el cual le brinda nutrientes a sus distintos patógenos de flora bacteriana y micótica normal. Dificultando así la medición de halos u otros efectos de estudio que deben hacerse en condiciones óptimas.

7.2 RECOMENDACIONES

Se recomienda comprobar IN VIVO a través de ensayos, que incluyan la misma metodología que se utilizó para conseguir dichos objetivos In Vitro y así determinar si la planta actúa positivamente con ayuda de constantes biológicas del portador, como la temperatura y la presencia de flora bacteriana y micótica normal de la especie *Cavia Porcellus*.

Debido a la observación realizada durante este ensayo, se recomienda implementar otro diseño metodológico que disminuya la contaminación de los cultivos por hongos medioambientales y del mismo fruto. Para que de esta manera permita medir los halos de inhibición, logrando así establecer datos estadísticamente significativos para el estudio profundo de los efectos in vitro de esta planta medicinal.

Para fines benéficos y de avance en el campo de la etnoveterinaria en nuestra región, se recomienda continuar estudiando la planta, a través de distintos análisis químicos y preparados de sustancias, provenientes de los frutos, hojas y tallos de esta planta, como por ejemplo la extracción de fenoles al fruto de Sancia (*Coriaria ruscifolia, L.*) con el fin, de comprobar si su extracto concentrado, actúa in vitro de manera eficaz sobre cepas de distintos hongos, que afecten a varias especies animales de crianza común en nuestra región. También se podrían realizar una extracción de aceites esenciales o la fabricación de tinturas en distintas diluciones.

Se recomienda realizar una espectrofotometría de masas para identificar cada una de las partículas de flavonoides y así conocer de manera exacta la identidad de las moléculas medicinales.

BIBLIOGRAFÍA

APROVET (Asociación Nacional de Laboratorios de Productos Veterinarios). Vademécum Veterinario Aprovet. Bogotá: Aprovet; 2002. <http://www.cumbalnarino.gov.co/presentacion.shtml> disponible en internet.

CABAÑEZ SÁENZ, Javier. Identificación de hongos dermatofitos. Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. Revista iberoamericana de micología [on line]. Bilbao, 2001. Cap. 12 [citado 17 DE ABRIL 2014] disponible en internet <URL: <http://www.guia.reviberoammicol.com/cap12.pdf>>

CANO PEREZ Carlos Alfredo, actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *minthoschys mollis* “muña”, facultad de farmacia y bioquímica, Universidad Mayor de San Carlos Lima Peru 2007, . [Citado 20 de abril de 2014] disponible en internet: URL: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2573/1/cano_pc.pdf

CARDONA CLAVIJO Natalia, SALAZAR OSORIO Melina, actividad alelopática y antibacteriana de fracciones polares f1-c, f1-d y f1-f obtenidas de *henriettella trachyphylla* Triana (melastomataceae), universidad tecnológica de Pereira facultad de tecnología escuela de química grupo polifenoles Pereira, noviembre de 2012, [Citado 20 de abril de 2014] disponible en internet: URL: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/3143/1/58376C268.pdf>

CERVANTES OLIVARES, R. Tiñas (Ringworm) en perros y gatos. [on line]. Departamento de microbiología e inmunología, laboratorio de micología, Universidad Nacional Autónoma de México. México DF, México, 2 marzo de 2004. [citado 22 febrero 2013] Disponible en internet <URL:http://www.ivis.org/advances/infect_dis_carmichael/cervantes_es/ivis.pdf> pág. 4

CORONADO S. Moisés *et al.* Manual técnico para la crianza de cuyes en el Valle del Mantaro. Asociación de productores de cuyes [citado enero 2014] Disponible en internet URL: http://www.cooru.org.pe/Manual_técnico_cuy1.pdf

CHAUCA, Lilia, producción de cuyes (*Cavia porcellus*), [On line], La Molina, Perú., Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1997.

[Citado 28 de enero de 2014] Disponible en Internet:
<<http://www.fao.org/DOCREP/6562s/6562s00.htm>>

CONPES. Consejo Nacional de Política Económica y Social, República de Colombia, Departamento Nacional de Planeación, Documento Conpes 3376: Política Sanitaria de Inocuidad para las Cadenas de la Carne Bovina y de la Leche. 2005; [Agosto 2006] URL:
<http://www.dnp.gov.co/archivos/documentos/Subdireccion_Conpes/3376.pdf. >

DAVICINO Roberto, MATTAR Aida Maria, CASALI Yolanda Angelina, CORREA Silvia Graciela, PETTENATI Elisa Margarita, MICALIZZI Blass, Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina, facultad de ciencias biológicas Universidad Nacional Mayor de San Marcos, revista peruana de biología, volumen 14 n° 2, págs. 247-251, diciembre 2007. [Citado 20 de abril de 2014] disponible en internet: URL:
<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/1784>

DOMINGO D, BREA LOPEZ M, Plantas con acción microbiana, Sociedad Española de Quimioterapia, Revista Española de Quimioterapia, volumen 16 numero 4 , pags 385- 393, diciembre del 2003. [Citado 20 de abril de 2014] disponible en internet: URL: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/16/4/385.pdf>

FAJARDO, Rota y CIFUENTES, Jorge. Diccionario geográfico de Colombia. Santa Fe de Bogotá. D.C.: Instituto geográfico “Agustín Codazzi”. P. 350.

FRAILE OCAÑA, cristeta, ZURUTUZA, ione, Valdivieso, paula, Dermatofitosis en animales de compañía: riesgo zoonótico. Trabajo científico [on line]. [citado 16 abril 2014] disponible en internet
<URL:http://www.axoncomunicacion.net/centroveterinario/revistas/44/cv_44_Dermatofitosis%20en%20animales%20de%20compania.pdf>

FOSTER & SMITH. Ringworm in Rabbits & Guinea Pigs. Holly nash, DVD, MS. Veterinary services department. PetEducation.com [On line] 2007. [Citado 20 enero de 2014] Disponible en internet:
<URL:<http://www.peteducation.com/article.cfm?articleid=2494>>

GONZALEZ PRIETO Sylvia, GARRIDO GARRIDO Gabino, GONZALEZ LAVAUT Jose Antonio, TORRES MOLINA Jorge, Actualidad de la medicina tradicional

herbolaria, Centro Nacional de Investigación Científica, Ciudad de la Habana, Cuba, revista CENIC, ciencias biológicas volumen 35 n° 1 Enero – abril, 2004, pags 19-36, [Citado 20 de abril de 2014] disponible en internet: URL: <http://www.redalyc.org/pdf/1812/181226086004.pdf>

GARCIA AVALOS Adolfo, PEREZ Helena, CARRIL Urria, Metabolismo secundario de las plantas Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid, REDUCA (Biología) serie fisiología vegetal, volumen 2 numero 3 pags 119 -145, 2009. [Citado 20 de abril de 2014] disponible en internet: URL: <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/798/814>

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN AGRARIA (INIA), Tecnologías propuestas por el programa de crianzas familiares [On line] Perú. Diciembre 2004. [Citado 15 de enero 2014] Disponible en internet: <[URL://http://www.perucuy.com/site/modules.php?name=News&file=article&sid=48/](http://www.perucuy.com/site/modules.php?name=News&file=article&sid=48/)>

JAIMES DE PINO Mercedes, Aspectos químicos y farmacológicos de la coriaria thymifolia colombiana, Departamento de Farmacia Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, revista colombiana de ciencias químico farmacéuticas (RCCQF, volumen 2, numero 1 de julio de 1972, pags 110-121 [Citado 20 de abril de 2014], disponible en internet URL: <http://www.ciencias.unal.edu.co/unciencias/data-file/farmacia/revista/V2N1P110-121.pdf>

JAWETZ. MELNICK. Y ADELBERG. Microbiología Médica. México: Manual Moderno. 2002. Pag. 844

LABORATORIO VETERINARIO ESPECIALIZADO Vetlab®. Conceptos para el diagnostico microscópicos de micosis dérmica en medicina veterinaria. [on line] Santiago, chile. Septiembre de 2005 [citado 22 febrero de 2014]. Disponible en internet URL:http://www.vetlab.blogspot.com/2005_09_01_archive.html

LOZANO MARÍA, MV, Arias Diana. Residuos de fármacos en alimentos de origen animal: panorama actual en Colombia, [On line], Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia, 2008. [Citado 20 de febrero de 2014] Disponible en Internet: <<http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/view/337> >

LLEONART, F. Dermatomicosis. Conejos y algo más [On line] Buenos Aires (Argentina) [Citado 20 de FEBRERO 2014] Disponible en internet: <URL:<http://www.conejosyalgommas.com.ar/articulos023.asp?ootkey=228&ootest=3>>

MOYA, Manuel. Dermatofitosis en cobayos de bioterio convencional de la Granja experimental "La Torcaz" [On line]. Agosto de 2005 [Citado 20 de enero 2014] p. 84 Disponible en internet: <<http://72.14.209.104/search?q=cache:t8lakb2q97KJ:bibliofcv.veter.ucv.ve/revistafcv/pdf/Moyanew.pdf+dermatofitosis+cobayos&hl=es&ct=dak&cd=28gl=co>>

MURILLO NEUFELD, Paulo. Diagnostico laboratorial de las Dermatofitosis. Revista del colegio de microbiólogos. [on line]. Rio de janeiro, Brasil, 2001 [citado 22 febrero de 2014] disponible en internet URL:<http://www.colegiomicrobiologoscr.org/revista/2001-5%20Diagn%F3stico%20Laboratorial%20de%20las%20Dermatofitosis.doc>

PEDROSO RODRIGUEZ Aida Tania, ARREBATO RAMIREZ miguel, BAÑOS BAUTISTA Silvia, TRIANA CRUZ Ariel, RIVERO Deyanira, Actividad antifúngica de extractos de *Acacia farnesiana* sobre el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* Universidad de Oriente (UDO Agrícola), revista científica de la escuela de ingeniería agronomía volumen 12, número 1, pags 91 -96 2012. [Citado 20 de abril de 2014] disponible en internet: URL: <http://www.bioline.org.br/request?cg12011>

REZUSTA LÓPEZ, Antonio. SÁNCHEZ SOUZA, Aurora. Y GIL TOMAS, Joaquina. Fundamentos básicos para el diagnóstico micológico. Guía práctica de identificación y diagnostico en micología clínica. Revista iberoamericana de micología. [on line]. Bilbao, junio del 2006. Cap. 3. [citado 22 febrero de 2014] disponible en internet <URL:<http://www.guia.reviberoammicol.com/cap3.pdf>> ISBN: 84 – 607 -3050 – 6

REJAS LÓPEZ, juan. Dermatología clínica veterinaria. Facultad de veterinaria universidad de león. [on line]. España, 2003. [citado 17 abril 2014]. Disponible en internet URL:<http://www3.unileon.es/personal/wwdmvjrl/dermatopatias/dermatofitosis.html>

ROJAS TRIVIÑO Alberto, manual de conceptos y práctica de microbiología general, Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, 2011, pags: 13- 22,


49- 51. [Citado 20 de abril de 2014] disponible en internet: URL: <http://www.bdigital.unal.edu.co/4999/1/albertorojastrivino.2011.pdf>

SAMUS, Sergio. Dermatofitosis. Revistas de Cabaña Lagunita N° 15. [On line] Jujuy, Argentina 2006. [Citado el 15 de febrero 2014]. Disponible en internet: <URL:<http://www.pyme.mendoza.gov.ar/pdf/cursos/conejos%20Lagunita.pdf>>

SANABRIA Antonio, MANTILLA Jose Ramon, actividad antifungica de plantas superiores colombianas, Departamento de Farmacia Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, revista colombiana de ciencias quimico farmacéuticas (RCCQF), número 15 de febrero de 1986 pags 17 -21, [Citado 20 de abril de 2014], disponible en internet URL: <http://www.ciencias.unal.edu.co/unciencias/data-file/farmacia/revista/V15P16-22.pdf>

ANEXOS

Anexo A. Resultado cromatografía líquida

 Universidad de Nariño	SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS CROMATOGRAFIA	Código: LBE-PRS-FR-165
		Página 66 de 3
		Versión: 01
		Vigente a partir de : 2013/01/11

FECHA: 04/06/2014

REPORTE No LC-R-019-14

1. DATOS DEL USUARIO

Solicitante(s): Getsy Trujillo Ceballos

Identificación: 1085245699

Dirección:

Teléfono: 3166241538

Correo Electrónico: getsytrujillo@hotmail.com

2. DATOS DE LAS MUESTRAS

Número de Muestras Solicitadas: una (1)

No de inyecciones: Una (1)

Tipo de Muestra: Frutos de Sancia (*Coriaria ruscifolia*)

Descripción de la(s) Muestra(s): Frutos frescos de *Coriaria ruscifolia*

Análisis Solicitado: Flavonoides por HPLC-DAD

Código Muestras: LC-CL-098-14

Fecha del Análisis: 24-05-2014



3. DESCRIPCION DEL ANÁLISIS

3.1 Equipo: Cromatografo Líquidos HPLC Waters – Bomba Binaria 1525

3.2 Columna: C18 (X terra Waters 100mm x 4,6 mm)

3.3 Detector: PDA 2998 a 250 y 280nm Scan (200-600nm)

3.4 Inyector: Rheodyne Loop de 20µL

3.5 Fase Móvil: Modo de separación gradiente

Composición: A (Agua: Ac Acético 98:2) B (Agua: Acetonitrilo: Ac Acético 78:20:2)

3.5 Análisis de las Muestras:

Se realizó extracción alcohólica de los frutos de la especie *Coriaria ruscifolia*, el extracto obtenido se llevó a sequedad en un rota-evaporador heildoph, posteriormente se tomó 10mg del extracto seco se disolvió en 1mL de la fase móvil A y se pasó por filtros de jeringa de GHT, Pall de 0,45µm. La identificación tentativa de los flavonoides se realizó mediante el análisis de los espectros UV de los picos integrados que se detectaron mediante el sistema de detección PDA.

	INFORME DE RESULTADOS CROMATOGRAFIA	Versión: 01
		Vigente a partir de : 2013/01/11

4. RESULTADOS

La grafica 1 y la tabla 1 presentan los resultados obtenidos del análisis del extracto crudo de Sancia. Se determinó la presencia de 16 compuestos, los cuales presentan espectros de absorbancia típicos de la familia de los flavonoides. Los dos componentes mayoritarios presentan espectros de absorbancia (Figuras 2 y 3) típicos de un tipo de flavonoides conocidos como antocianinas.

Figura 1: Cromatograma del extracto etanólico a 520nm

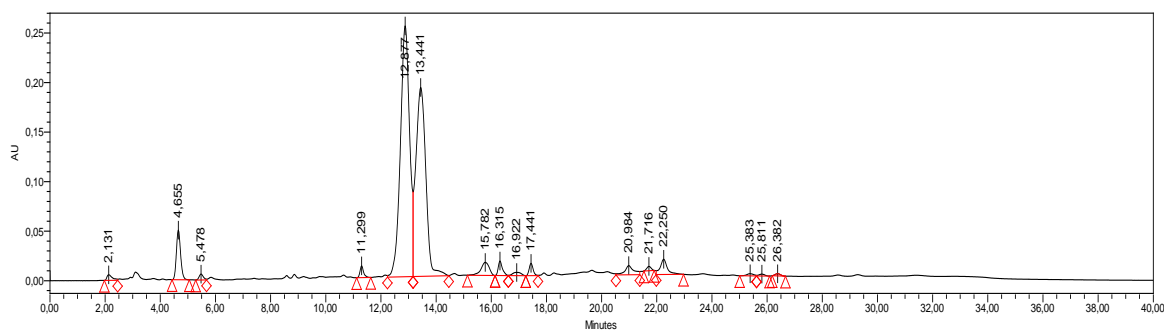


Tabla 1: Compuestos detectados en el extracto de *Coriaria ruscifolia*,

Señal	Tiempo de retención minutos	Área	% Área	Identificación Tentativa
1	2,131	77138	0,61	Flavonoide
2	4,655	531991	4,18	Flavonoide
3	5,478	63347	0,50	Flavonoide
4	11,299	106754	0,84	Flavonoide
5	12,877	5869158	46,15	Flavonoide tipo



Universidad de
Nariño

SECCION DE LABORATORIOS
INFORME DE RESULTADOS CROMATOGRAFIA

Código: LBE-PRS-FR-165

Página 3 de 3

Versión: 01

Vigente a partir de :

2013/01/11

				antocianina
6	13,441	4807502	37,80	Flavonoide Tipo antocianina
7	15,782	275805	2,17	Flavonoide
8	16,315	155752	1,22	Flavonoide
9	16,922	70644	0,56	Flavonoide
10	17,441	123699	0,97	Flavonoide
11	20,984	214073	1,68	Flavonoide
12	21,716	48013	0,38	Flavonoide
13	22,250	279794	2,20	Flavonoide
14	25,383	37510	0,29	Flavonoide
15	25,811	26913	0,21	Flavonoide
16	26,382	30580	0,24	Flavonoide

5. OBSERVACIONES

- La identificación realizada en el presente análisis es tentativa. Para una confirmación de los análisis se requieren técnicas espectrométricas que determinen la identidad de las moléculas.

-
- Los resultados de los análisis consignados en el presente informe aplican únicamente para las muestras entregadas por los usuarios al Laboratorio.
 - Los resultados del presente informe son confidenciales y de propiedad del solicitante.
 - Prohibida su reproducción parcial o total sin previa autorización de las partes.

Cordialmente,

Original firmado

JUAN PABLO JIMENEZ MORA


Químico- Laboratorio Cromatografía

Universidad de Nariño

Revisó: David Arturo Perdomo— Laboratorio de Cromatografía

FIN DEL REPORTE

Anexo B. Resultado análisis fitoquímico

 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS REPORTE DE RESULTADOS	Código: LBE-PRS-FR-76 Página: 1 de 1 Versión: 2 Vigente a partir de: 2014-01-15
---	--	---

LABORATORIO						BROMATOLOGÍA - ABONOS ORGÁNICOS						
DATOS USUARIO			DATOS MUESTRA			REPORTE No. LB-R-			005-14			
Solicitante: Getsy Trujillo, David Criollo			Muestra Fruto Sancia. <i>Coriaria ruscifolia</i>			Código muestra			023			
Dirección: Mz F Casa 7. B/ Madrigal II Pasto			Procedencia Cumbal									
cc / nit: 1.085.274.901			Responsable del Muestreo ^a			Getsy Trujillo, David Criollo						
Teléfono: 301 567 3730			Fecha de Muestreo ^a			AA	13	MM	12	DD	10	
e-mail alejocrinu@gmail.com			Fecha Recepción Muestra en Laboratorio			AA	14	MM	01	DD	15	
			Fecha de Emisión del Reporte			AA	14	MM	02	DD	18	
FECHA DE EJECUCIÓN DEL ENSAYO			2014-01-21 a 2014-02-05									
ANÁLISIS SOLICITADO			Metabolitos secundarios. Pruebas fitoquímicas preliminares									
PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	Fruto Sancia								
SAPONINAS	Espuma	Cualitativa	-	-								
	Rosenthaler (Vainillina - HCl)	Cualitativa	-	-								
	Antrona	Cualitativa	-	-								
FENOLES	Cloruro Férrico	Cualitativa	-	+++								
	Gelatina - Sal	Cualitativa	-	++								
	Acetato de Plomo	Cualitativa	-	+								
ESTEROLES	Liebermann Burchard	Cualitativa	-	++								
	Rosenheim	Cualitativa	-	-								
	Salkowski	Cualitativa	-	-								
ALCALOIDES	Dragendorff	Cualitativa	-	-								
	Wagner	Cualitativa	-	-								
	Mayer	Cualitativa	-	-								
OBSERVACIONES												
Nota a		Información suministrada por el usuario										
Análisis		Mínimo dos pruebas positivas para un metabolito, se interpreta como positivo el parámetro										
Convención: -		Resultado: Negativo										
Convención: +		Resultado: Bajo										
Convención: ++		Resultado: Moderado										
Convención: +++		Resultado: Abundante										
RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA												
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL SIN PREVIA AUTORIZACIÓN DEL LABORATORIO												

Original firmado

Téc. Laboratorio Bromatología - Abonos Orgánicos
Elaboración del Reporte

Aprobación del Reporte

Revisó: GSE 2014-02-18

FIN REPORTE DE RESULTADOS

Anexo C. Poster científico encuentro ecuador



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE SANCIA (*Coriaria Ruscifolia*, L.), COMO TRATAMIENTO IN VITRO EN LA DERMATOFITOSIS CAUSADA POR *Trichophyton sp.* EN CUYES (*Cavia porcellus*).



Getsy Trujillo C¹, David Criollo M², Juan Manuel Astaiza M., Angel M. Zamora B¹
¹ MVZ, MSc, Departamento de Salud Animal, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia
² MSc, Departamento de Química, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.
 Estudiante MV, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.
 Grupo de Investigación en Medicina Interna y Farmacología MFARVET
 Universidad de Nariño, Pasto, Colombia

Descripción Botánica

Sancia Especie que pertenece a la familia *Coriariaceae*. De esta se puede extraer los alcaloides coniamitina y tutina, la primera es tóxica para el hombre y emborracha a las cabras, pero se habla de que dicha planta genera efectos narcóticos y entógenos en el hombre, pero algunos reconocen a la planta como venenosa. Es un arbusto o árbol más bien pequeño, hasta de 7 m de alto, con las ramas extendidas, hojas sésiles o subsésiles, crece en forma natural entre México a Sudamérica, también en Nueva Zelanda, Nueva Guinea y otras islas del Pacífico. Es frecuente observarla en lugares húmedos, orillas de esteros y cortes de caminos con afluentes húmedos.



Arbusto de *Coriaria Ruscifolia* encontrado en la vereda Macuines, Municipio de Cumbal - Nariño

Usos y Aplicaciones

El único reporte medicinal en nuestra región está registrado en la cartilla de **CONOCIMIENTO ANCESTRAL INDÍGENA EN SALUD ANIMAL**, editado en Julio de 2012 con información de propiedad intelectual del Pueblo de los Pastos. Donde se describe un preparado de frutos maduros de Sancia y ceniza que se aplica dos veces al día sobre la lesión micótica hasta observar mejoría. Los demás reportes son de otros países latinoamericanos como Chile, Argentina y Ecuador, donde se han realizado estudios sobre las variedades de este ejemplar y se han encontrado distintas propiedades como: sus propiedades muy tóxicas que sirven para matar roedores y su propiedad alucinógena.

Inoculación de *Trichophyton sp.*



Con el fin de obtener cultivos de *Trichophyton sp.* se seleccionaron los cuyes que presentan signos de dermatofitosis de la Granja Experimental Botana propiedad de la Universidad de Nariño y se escogieron aleatoriamente 8 de estos. Fueron muestreados mediante un raspado de piel de las zonas afectadas, también se tomaron pelos de alrededor de la zona alopecica y se hicieron impresiones de la piel afectada con cinta adhesiva. Estas muestras se colocaron entre portaobjetos para su traslado al Laboratorio.

Las muestras que dieron resultado positivo a dermatofitos al examen directo, se condujeron posteriormente a su cultivo por medio de punción con asa recta o micológica en el medio agar Sabouraud Dextrosa.

ANÁLISIS DE RESULTADOS	
IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO	IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO
1. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO	1. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO
2. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO	2. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO
3. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO	3. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO
4. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO	4. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO
5. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO	5. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO
6. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO	6. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO
7. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO	7. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO
8. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO	8. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO
9. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO	9. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO
10. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO	10. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO

El hallazgo de fenoles y esteroides en el análisis fitoquímico de los frutos de Sancia (*Coriaria ruscifolia*, L.) es una prueba química positiva de las bondades medicinales de la planta, cuyas biomoléculas son agentes que actúan en contra de microorganismos de origen bacteriano y micótico. Esta capacidad antimicrobiana en extractos, se encuentra disponible en una serie de componentes de variadas estructuras, incluidos los de funcionalidad aldehído y fenoles. Las combinaciones naturales de estos compuestos son a menudo sinérgicos, dando lugar a una mayor actividad antimicrobiana en los extractos crudos que en los compuestos puros individuales.

Cromatografía líquida de alta eficiencia con detector de arreglo de fotodiódos

La cromatografía es un método físico de separación basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija o estacionaria y otra móvil. Técnica que se utilizó sobre los frutos de esta planta medicinal, encontrando a través de esta prueba, clara presencia de *Flavonoides* y *Antocianinas*. Lo que significa que el fruto posee propiedades antibacterianas, antifúngicas y antioxidantes. Los isoflavonoides, furanocumarinas y estilbenos han demostrado tener propiedades antibacterianas, antivirales y antifúngicas. Aparte de sus propiedades antiinflamatorias, cardiotónicas, antitumorales, hepatoprotectoras y analgésicas, que han sido estudiadas en humanos solamente. Existe la posibilidad de realizar una espectrofotometría para identificar cada uno de las partículas de los flavonoides.

Resultados



Estas son imágenes del ensayo final donde podemos observar la alta contaminación de hongos medioambientales como: *Aspergillus* y *Penicillium*.

También se observan las colonias de *Trichophyton*, M. En presencia del PAD impregnado de Sancia, 7 días después de crecimiento post-siembra.

El crecimiento de las colonias es considerablemente disminuido, en comparación con las colonias que no fueron expuestas a la presencia del fruto.



Debido a los resultados negativos de este estudio. Se recomienda continuar con los análisis de la planta. Implementando otras metodologías, que permitan leer y medir los halos inhibitorios In Vitro.

Implementar métodos que bajen drásticamente la carga contaminante del fruto de Sancia.

No descartar que las pruebas In Vivo puedan ser positivas debido a factores fisiológicos propios del hospedador.

Anexo D. Certificado ponencia ecuador

