



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**VALORACION "IN VIVO" DE LA CAPACIDAD
ANTIMICOTICA DE DOS NUEVOS PRODUCTOS
DE ORIGEN VEGETAL**

TRABAJO RECEPCIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACOBIOLOGO
P R E S E N T A
PATRICIA TREVIÑO DELGADO

765

SAN LUIS POTOSI, S. L. P.

1994



T
RL
T7
C. 1

卷之二

765

1



1080075682



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**VALORACION "IN VIVO" DE LA CAPACIDAD
ANTIMICOTICA DE DOS NUEVOS PRODUCTOS
DE ORIGEN VEGETAL**

TRABAJO RECEPCIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A

PATRICIA TREVIÑO DELGADO

SAN LUIS POTOSI, S. L. P.

1994



T
R 765
T 7



**VALORACION "IN VIVO" DE LA CAPACIDAD
ANTIMICOTICA DE DOS NUEVOS PRODUCTOS DE ORIGEN
VEGETAL**

A DIOS:

**Por darme la oportunidad
de vivir, por estar siempre a mi lado
y mostrarme el camino correcto.**

A MIS PADRES:

**Por todo su cariño, apoyo y
dedicación que me han brindado en
todo momento para llegar a cumplir
una más de mis metas.**

A MIS HERMANAS:

Por ser como son.

A MIS MAESTRAS:

Q.F.B. Alicia Zavalza Stiker.
Q.F.B. María Genoveva Alvarez Ojeda.
Q.F.B. Blanca Ortiz Saldivar.
Q.F.B. Magdalena Castillo.

Por su dedicación y cariño.

A RAUL:

Con todo mi amor y cariño,
por todo lo que hemos compartido
juntos.

A todas y cada una de las personas
que colaborarán en la realización de este
trabajo.

INDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCION	2
	2.1 Dermatofitosis	2
	2.2 Componentes vegetales de los productos	3
III.	GENERALIDADES	4
	3.1 Definición	4
	3.2 Aspectos epidemiológicos	4
	3.2.1 Tiña de los pies	4
	3.2.2 Tiña de las uñas	5
	3.3 Patogenia	5
	3.4 Aspectos clínicos	6
	3.4.1 Tiña de los pies	6
	3.4.2 Tiña de las uñas	6
	3.5 Tratamiento de las dermatofitosis	8
	3.6 Propiedades terapéuticas de algunas de las plantas de los productos	10
	3.6.1 <i>Allium sativum</i> (ajo)	10
	3.6.2 <i>Allium cepa</i> (cebolla)	11
	3.6.3 <i>Citrus aurantifolia</i> (limón)	11
	3.6.4 <i>Psidium guajava</i> (guayaba)	12
IV.	OBJETIVOS	13
V.	MATERIAL Y REACTIVOS	14
VI.	METODOLOGIA	15
	6.1 Criterios en la selección de pacientes	15
	6.1.1 Inclusión	15
	6.1.2 Exclusión	15
	6.1.3 Eliminación	15
	6.1.4 Criterios para la clasificación de las lesiones en la tiña de los pies	16
	6.2 Diagnóstico de laboratorio	16
	6.2.1 Toma de muestras	16
	6.2.2 Examen directo	17
	6.2.3 Cultivo	18
	6.3 Tratamiento	20
	6.4 Valoración "in vitro" de la acción antimicótica del shampoo y la loción	21

6.4.1	Técnica de difusión radial	21
6.4.2	Técnica de placa con el extracto del shampoo a las concentraciones del 50% y 25%, así como de la loción al 50%	22
VII.	RESULTADOS	23
7.1	Valoración "in vitro" de la acción antimicótica del shampoo y la loción	23
7.1.1	Método de difusión radial	23
7.1.2	Técnica de placa con el extracto del shampoo a las concentraciones del 50% y 25%, así como de la loción al 50%	23
7.2	Valoración de la efectividad del tratamiento en estudio	24
7.2.1	Características de los pacientes	24
7.2.2	Resultados del examen directo y del cultivo	26
7.2.3	Evolución del cuadro clínico de la tiña de los pies	28
7.2.4	Comparación estadística entre el tratamiento en estudio y uno comercial a base de Ketocozazol	28
7.3	Etiología determinada en la tiña de los pies y de las uñas	30
7.3.1	Primera etapa	30
7.3.2	Segunda etapa	31
VIII.	CONCLUSIONES	37
IX.	DISCUSION	38
X.	APENDICE	40
10.1	Medio de Agar Saubouraud Dextrosa	40
10.2	Medio de Agar Micosel	40
10.3	Medio de Agar Papa-Zanahoria-Dextrosa al 1%	40
10.4	Medio de Borelli	41
10.5	Agar Urea de Christensen	41
10.6	Solución de KOH al 20%	41
10.7	Azul de Lactofenol	42
10.8	Azul AlgodónAcético	42
10.9	Alcohol isopropílico al 70%	42
XI.	BIBLIOGRAFIA	43

INDICE DE TABLAS

Tabla No. 1 Agrupación por sexo	24
Tabla No. 2 Cuadros clínicos	25
Tabla No. 3 Variedades clínicas en la tiña de los pies	25
Tabla No. 4 Período de evolución	25
Tabla No. 5 Tratamientos anteriores	26
Tabla No. 6 Evolución del examen directo en la tiña de los pies	27
Tabla No. 7 Evolución del examen directo en la tiña de las uñas	28
Tabla No. 8 Evolución el cuadro clínico en la tiña de los pies	28
Tabla No. 9 Primera revisión	29
Tabla No. 10 Segunda revisión	29
Tabla No. 11 Tercera revisión	29
Tabla No. 12 Etiología de la tiña de los pies y de las uñas Primera etapa	30
Tabla No. 13 Etiología de la tiña de los pies y de las uñas Segunda etapa	31

INDICE DE GRAFICAS

Gráfica No. 1	Resultados del examen directo en la tiña de los pies y/o de las uñas	32
Gráfica No. 2	Etiología de la tiña de los pies Primera etapa	33
Gráfica No. 3	Etiología de la tiña de las uñas Primera etapa	34
Gráfica No. 4	Etiología de la tiña de los pies Segunda etapa	35
Gráfica No. 5	Etiología de la tiña de las uñas Segunda etapa	36

RESUMEN

La tiña de los pies comúnmente conocida como "pie de atleta", así como la tiña de las uñas, son hoy en día la localización más frecuente de los dermatofitos, la primera es una de las diez dermatosis más comunes en toda la consulta privada o institucional y la segunda casi siempre es secundaria a otras localizaciones de estos microorganismos. Los dermatofitos se adquieren preferentemente de sitios húmedos como baños, clubes deportivos, albercas, etc., y pueden parasitar a un gran número de personas ya que en esas condiciones se facilita su desarrollo.

El principal objetivo de este trabajo, fue demostrar la acción antimicótica de dos productos en presentación de shampoo y loción, que ofrecían una nueva opción de tratamiento natural a base de extractos vegetales como: *Citrus aurantifolia*, *Allium cepa*, *Psidium guajava*, *Allium sativum*, etc., algunos de ellos con propiedades antisépticas, antibióticas y antimicóticas bien establecidas.

Este proyecto se llevó a cabo en los laboratorios de Micología y Análisis Clínicos con Servicio al Público. Para realizarlo se seleccionaron 26 pacientes con tiña de los pies y/o de las uñas a los que se aplicó el tratamiento, en forma de un lavado diario de los pies con el shampoo, seguido de la administración tópica de la loción. El tratamiento se prolongó por un período de tres meses, a través del cual se practicaron revisiones que permitieron evaluar la evolución de la micosis, usando como parámetros de referencia cuadro clínico, examen directo y cultivo.

Aunque los resultados obtenidos no fueron tan favorables como se esperaban, se observó que estos productos presentaron cierta actividad antimicótica, actuando como fungistáticos, ya que en la mayoría de los casos la infección no se erradicó y solo se presentó una mejoría notable en el cuadro clínico y disminución de las molestias que este producía.

En las pruebas in vitro que se realizaron, tanto los extractos vegetales, como los productos preparados a partir de ellos mostraron una actividad inhibitoria moderada del desarrollo de dermatofitos en los cultivos. Para demostrarlo se usaron las técnicas de difusión radial y de placa.

Como un objetivo secundario se determinó la etiología de estos padecimientos en la población analizada obteniendo los siguientes resultados: en la tiña de los pies predominó en un 75 % *T. rubrum*, seguido de *T. mentagrophytes* con un 14.6 %, *E. floccosum* 3.6 %, *Candida* sp. 3.6 %, asociación de *T. rubrum* con *E. floccosum* en un 3.6 %, y *T. rubrum* con *Candida* sp. en un 3.6 %.; en el caso de la tiña de las uñas predominó *T. rubrum* con un 80.8 %, seguido de *T. mentagrophytes* en un 7.7 %, *Candida* sp 3.8 %, asociación de *T. rubrum* y *Candida* sp en un 7.7 %. coincidiendo con los datos mencionados en la bibliografía.

INTRODUCCION

2.1 Dermatofitosis:

Las infecciones cutáneas del hombre incluyen una gran variedad de enfermedades que afectan piel, pelo y uñas, parte de éstas son producidas por un grupo homogéneo de hongos queratinofílicos denominados "dermatofitos", hongos que se relacionan íntimamente y que causan gran variedad de cuadros clínicos limitados generalmente a las capas córneas de la piel y sus anexos (uñas y pelos), estos procesos inducen cambios patológicos en el huésped por la presencia del agente infeccioso y sus productos, y suelen ser más molestas que graves. Los dermatofitos se encuentran entre los agentes infecciosos más frecuentes del hombre, por lo que casi no existe pueblo o área geográfica que no presente un cuadro de dermatofitosis o "tiña".(3,22)

La *Tinea pedis* o tiña de los pies es la infección por dermatofitos, que afecta sobre todo la piel de los dedos de los pies y las plantas. Las lesiones son de diversos tipos, las cuales varían de ligeras a crónicas y descamativas a enfermedad aguda, exfoliativa, ampular y ampollosa. En la actualidad la tiña de los pies está presente en todo el mundo, y su distribución es igual en varones y en mujeres. (22)

La *Tinea unguium* o tiña de las uñas, es la invasión de las láminas ungueales por un dermatofito, su diferencia con la onicomycosis es que la infección en esta última es causada por hongos que no son dermatofitos. Existen por lo menos dos tipos de tiña de las uñas :1) leuconiquia micótica (onicomicosis superficial blanca), en la cual la infección se reduce a manchas o depresiones en la superficie de la uña; y 2) Dermatofitosis invasiva subungueal (tiña de la uña), en la cual los bordes laterales o distales de la uña son los primeros afectados, y después se establece la infección debajo de la lámina ungueal. (3,22).

La tiña de las uñas es muy común y constituye una de las causas principales de deformación de las uñas; comparada con otras micosis superficiales esta entidad es más difícil de tratar, persistente y las remisiones espontáneas son raras.(21).

En los últimos años, la incidencia de estos dos tipos de infecciones ha ido en aumento a pesar del desarrollo de agentes quimioterapéuticos potentes y con una acción de amplio espectro. Esto pudiera deberse al enorme reservorio ambiental de estos agentes patógenos y la incrementada susceptibilidad de la población.

El tratamiento de las dermatofitosis plantea problemas específicos según el agente causal y su localización. Debe basarse, además, en los siguientes principios generales: En primer lugar evitando terapias que produzcan alivio sintomático pero no curación total de la enfermedad, pues los síntomas reaparecen en cuanto coinciden una serie de circunstancias como son condiciones de temperatura, humedad etc. En segundo lugar, en ocasiones se desconocen las posibilidades de la vía tópica y se recurre excesivamente a terapias sistémicas que deberían reservarse a los casos generalizados de la infección, por inducirse con ellas mayores efectos adversos.(8,22)

Tomando en cuenta los inconvenientes ya mencionados en cuanto al tratamiento de las dermatofitosis, y teniendo antecedentes de la acción antimicótica de uno de los componentes de los productos (5, 6, 10, 17), se estudió la posibilidad de valorar esa actividad en dos productos de origen vegetal, shampoo y loción los cuales forman parte de un proyecto solicitado a la Facultad de Ciencias Químicas, que pretende demostrar científicamente la capacidad que estos tienen para inducir crecimiento de pelo y de manera paralela comprobar sus propiedades antifúngicas.

Para llevar a cabo el proyecto se seleccionó un grupo de pacientes con un cuadro clínico bien establecido de tiña de los pies y / o de las uñas, con base en criterios previamente establecidos, que se mostraran con disponibilidad a recibir el tratamiento respetando las indicaciones que se les dieran, y con el compromiso de acudir a las revisiones subsecuentes.

2.2 Componentes de los productos:

Los productos son preparados a base de extractos vegetales, obtenidos por procedimientos al vacío y bajas temperaturas, sus principales componentes son los siguientes:

<i>Allium sativum</i>	(Ajo)	<i>Allium cepa</i>	(Cebolla)
<i>Apium graveolens</i>	(Apio)	<i>Capsicum annum</i>	(Chile)
<i>Citrus aurantifolia</i>	(Limón)	<i>Daucus carota</i>	(Zanahoria)
<i>Juglans cinerea</i>	(Nogal)	<i>Psidium guajava</i>	(Guayaba)
<i>Jatropha dioica</i>	(Sangre de grado)	<i>Marrubium vulgare</i>	(Marrubio)
<i>Matricaria chamomilla</i>	(Manzanilla)	<i>Olea europea</i>	(Aceite de oliva)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	(Romero)	<i>Ruta graveolens</i>	(Ruda)
<i>Solanum lycopersicum</i>	(Jitomate)	<i>Taxoclium mucronatum Ten.</i>	(Sabino)

El aceite de oliva solo forma parte de la fórmula del shampoo.

El pH final es de 7.3 para el shampoo y de 5.6 para la loción.

GENERALIDADES

3.1 DEFINICION

Las dermatofitosis, comunmente llamadas tiñas, son un conjunto de micosis superficiales que afectan los tejidos queratinizados como; uñas, pelo y estrato córneo de la piel. Estas son causadas por un grupo de hongos parásitos de la queratina denominados "dermatofitos" que comprenden tres géneros; *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*. (3,4)

Las manifestaciones clínicas de estas infecciones se les conoce con más frecuencia como tiñas, palabra que procede del latín "*Tinea*" que significa gusano o polilla, estas pueden afectar diferentes localizaciones anatómicas (p. ej. *Tinea pedis*, pie; *Tinea capitis*, cuero cabelludo; *Tinea manuum*, manos; *Tinea unguium*, uñas; *Tinea corporis*, cuerpo; etc.) . Estas enfermedades reciben a veces una denominación especial en función del agente etiológico como el Favismo, Tokelau, etc. (18)

3.2 ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS

Las micosis cutáneas constituyen una de las enfermedades humanas más comunes. Se estima que representan la tercera enfermedad cutánea más frecuente en niños menores de 12 años y la segunda en las poblaciones de mayor edad. Su incidencia varía con la edad, sexo, grupo étnico, costumbres culturales y sociales de la población, así como de factores predisponentes como: humedad, calor, tratamiento con glucocorticoides, diabetes, y uso de calzado cerrado o de material sintético. Esto se puede relacionar con una mala higiene y la costumbre de no secarse adecuadamente después del baño. (3,4,18)

Los dermatofitos tienen una distribución geográfica conocida, algunas especies con zonas muy restringidas, y otros que se pueden encontrar en todos los continentes, como en el caso de *Trichophyton rubrum*, que es una de las cepas que se reportan mundialmente. (23)

3.2.1 Tiña de los pies:

Esta predomina en adultos, su incidencia en México es de un 20 a 51%, pero puede alcanzar un 30 a 70% de la población en general. Se encuentran portadores sanos en un 13.5 %. Este tipo de tiñas se presentan esporádicamente en niños, aunque durante el último decenio ha aumentado la incidencia, al parecer sin predilección por el sexo.

Las especies que se aíslan con más frecuencia en la tiña de los pies son: *T. rubrum* (60 %), *T. mentagrophytes* (20 %), y *E. floccosum* (15 %), esporádicamente se aíslan *M. canis*, *M. gypseum* y *T. tonsurans*. En algunos casos se aíslan también algunas levaduras. (3,12,22)

3.2.2 Tiña de las uñas:

Son las onicopatías más frecuentes; el 54 % de estas dependen de dermatofitos. Entre las enfermedades de la piel ocupan cifras de 2 a 13 %, predominan de los 20 a los 40 años de edad (48 %); en niños se observa en un 8%.

Este tipo de infecciones se inician casi siempre por autoinoculación a partir de tiñas crónicas de los pies y manos, o bien como consecuencia del rascado de tiñas del cuerpo, ingle o cabeza, de manera que las esporas se depositan entre el borde libre de las uñas e inician la infección. Se presentan en cualquier sexo y es ligeramente predominante el masculino, sobre el femenino en relación 2:1. Los factores predisponentes de más importancia, son la existencia de una tiña previa, el uso de zapato cerrado o algún traumatismo. La tiña de las uñas es frecuente en grupos que usan baños comunitarios como soldados, obreros y deportistas.

Los dermatofitos más aislados son *T. rubrum* (65 %), *T. mentagrophytes* (15 %), excepcionalmente se aíslan *T. tonsurans*, *M. gypseum* y *M. canis*. Con poco menos frecuencia que los dermatofitos se aíslan levaduras como *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, etc. (3,4,18)

3.3 PATOGENIA

Para adquirir la enfermedad se necesita estar en contacto con la fuente: suelo, animales, o puede transmitirse de una persona a otra o por fomites, aunque para que las dermatofitosis se presenten, se requieren de un grado de susceptibilidad del huésped, de la adaptación y virulencia del hongo. También el papel del huésped es importante para que la infección se instale, existen factores genéticos o fisiológicos como el pH, depósitos de ácidos grasos, etc. que influyen en el desarrollo de la infección.

La tiña de los pies, se inicia cuando las esporas se depositan en la superficie de la piel, se reproducen en la capa córnea; inicialmente origina una lesión en forma de pápula o vesícula eritematosa, pruriginosa, que se forma en un tiempo promedio de 8 a 10 días. Por el crecimiento y digestión de la queratina, se da origen a placas, o anillos bien delimitados. (3,22)

En el caso de la tiña de las uñas, se originan de manera secundaria a tiñas de pies y manos, por el constante contacto de las esporas, estas se depositan con facilidad en los espacios libres de las uñas o bordes distales, donde inician un ataque a nivel de la base y a la uña misma; como la queratina de la uñas es una estructura sumamente rígida y compacta, el padecimiento es por lo regular crónico. (3,4,22)

3.4 ASPECTOS CLINICOS

Muchas de las especies de dermatofitos provocan diversas manifestaciones clínicas bien definidas, las cuales varían según la localización y dependen del agente causal. El período de incubación es variable, normalmente de 7 a 15 días. (3)

3.4.1 Tiña de los pies:

Afecta pliegues interdigitales, plantas y bordes de los pies. Las cuatro formas más comunmente observadas son:

- **Intertriginosa**; que es la más común, que se manifiesta por escamas, maceración, grietas y fisuras. Es poco pruriginosa y es crónica.
- **Vesiculosa**; está constituida por la presencia de pequeñas vesículas, que se localizan en la planta y dorso del pie, sobre todo en áreas de no apoyo. Al romperse estas, dejan zonas de escamas y costras melicéricas, también es altamente pruriginosa.
- **Hiperqueratósica**; es una forma crónica, que se caracteriza por extensas zonas de hiperqueratosis y escamas, predominando en la zona plantar.
- **Ulcerativa aguda**; se presentan lesiones vesiculopustulosas, el líquido vesicular es purulento y se presenta ulceración de la epidermis.

Las personas con tiñas de los pies, pueden presentar algunas complicaciones, las más comunes son; dermatitis por contacto, infecciones secundarias bacterianas e ides. (3,4,22)

3.4.2 Tiña de las uñas:

Este padecimiento predomina en uñas de los pies (70 %) en especial de los primeros dedos, en un 27% afecta uñas de las manos y sólo en un 3% de manos y pies. Este tipo de micosis por lo menos es de dos tipos:

- **Leuconiquia micótica** (onicomicosis superficial blanca).- La invasión se reduce a manchas o depresiones en la superficie de la uña.

- **Dermatofitosis invasiva subungueal**.- Los bordes laterales o distales de la uña son los primeros afectados y despues se establece la infección debajo de la lámina ungueal. Este es un padecimiento crónico asintomático. Se presentan con pequeñas estrías longitudinales, que van extendiendose lentamente, hasta que las uñas se vuelven opacas, amarillentas, quebradizas, polvosas y se pierde la consistencia del borde. La uña puede llegar a engrosar de 3 a 4 veces su tamaño original. En casos crónicos suelen tomar ciertas tonalidades oscuras y hay que diferenciarlas de la onicomicosis por candida u hongos dematiáceos. (3,21,22)

3.5 TRATAMIENTO DE LAS DERMATOFITOSIS

En general, el tratamiento de todas las dermatofitosis es el mismo independientemente del agente causal, aunque en ocasiones éste puede influir sobre todo en la duración del mismo. Por ejemplo, las lesiones producidas por *T. rubrum* son más resistentes a los tratamientos y no son raras las recidivas.

El tratamiento de las tiñas se puede dividir en dos períodos, antes de 1958 y después de esta fecha. Antes de ese año no existía tratamiento sistémico, sólo el tópico a base de soluciones yodadas, ácido undecilénico, salicílico y benzoico, con buenos resultados para la tiña de la piel lampiña, medianas para las tiñas de la región crural y de los pies, y nulas para las localizaciones en piel cabelluda y uñas. (3,4)

Durante muchos años se tuvo que realizar en miles de niños la depilación temporal a base de acetato de talio y rayos X, condición indispensable para que actuaran los fungicidas tópicos, ya que el pelo estaba invadido hasta la matriz. En el caso de las uñas, simplemente no había ningún tratamiento eficaz; la extirpación de la uña o uñas enfermas, no solucionaba nada ya que la uña estaba invadida también hasta su matriz y volvía a crecer enferma. (3)

En 1958 aparece la griseofulvina, antibiótico obtenido a partir de *Penicillium griseofulvum*, que administrada por vía oral es eliminada por la capa córnea. El descubrimiento de este medicamento desencadenó la búsqueda de nuevos productos propios del metabolismo antagónico de hongos y actinomicetos, así se obtuvo a finales de la década de los cincuenta la nistatina y anfotericina B; y si bien es cierto que estos antibióticos tienen gran efectividad y amplio espectro, presentan también muchos efectos colaterales y su absorción es deficiente. (20)

En la actualidad el tratamiento de las dermatofitosis se divide en tópico y sistémico.

El tratamiento tópico puede darse de manera aislada en el caso de la tiña de piel lampiña, ingles y pies, o bien combinándose con el sistémico cuando se desea una acción más rápida y duradera. Sigue siendo eficaz la solución yodada al 1 % con ácido salicílico al 2 o 3 % (ungüento de Withfield), el ácido undecilénico, tolnaftato, haloprogin, pirrolnitrina y los más recientes, eficaces y costosos derivados imidazólicos: clotrimazol, miconazol, ketoconazol, etc. (4,18)

En las tiñas generalizadas y profundas, el tratamiento tiene que ser sistémico y sobre todo cuidar el estado general del enfermo, en los casos de sujetos inmunodeprimidos o diabéticos.

Los corticosteroides están totalmente contraindicados por cualquier vía, pues si bien disminuyen el estado inflamatorio producido por los dermatofitos y por ende el prurito consecuente, favorecen a la larga el desarrollo de hongos, cambian la morfología de las lesiones haciéndolas irreconocibles y dificultan los tratamientos.

Para el tratamiento sistémico se cuenta con medicamentos como; la griseofulvina, eficaz sólo para dermatofitos en todas sus localizaciones, y derivados imidazólicos como: ketoconazol, e itraconazol que tienen acción polivalente contra dermatofitos, levaduras y otros hongos. (4)

La griseofulvina, además de costosa, no es inocua y puede producir importantes efectos indeseables como cefaleas, fotosensibilidad, erupción tipo lupus eritematoso y porfirias. El ketoconazol es un medicamento con amplio espectro antifúngico y aunque es bien tolerado, en algunos casos se ha señalado que durante el uso prolongado de este produce gastritis y hasta daño hepático.

El itraconazol, de acción similar al ketoconazol presentan muy pocos efectos colaterales (0.1-1%) produciendo ocasionalmente nauseas, diarreas, vómito, erupciones cutáneas y leucopenias. (4,20)

En resumen, los dermatofitos no han ganado ni perdido la batalla, siguen parasitando al hombre y a los animales, viven en la piel y sus anexos produciendo problemas que si bien no son graves, sí por su frecuencia pueden constituir, en ocasiones, problemas ocupacionales o de salud pública en México y en cualquier parte del mundo. Razón por lo que se ha seguido buscando nuevos tratamientos como por ejemplo:

- El ungüento de bifonazol-urea, único tratamiento tópico eficaz de la onicomycosis, con el que se ha obtenido una curación clínica del 80.15 % de los pacientes, mejoría en un 15.5% y fracaso en solo el 4.35 % con un seguimiento de cuatro meses. Los efectos adversos que se pueden presentar durante su uso son eritema, descamación leve y dolor de moderado a severo debido al desprendimiento ungueal. El fracaso observado en algunos casos fué atribuido a desordenes circulatorios y número de uñas afectadas, ya que para obtener buenos resultados no deben de tener más de tres uñas afectadas ya sea de manos o pies para ser tratadas al mismo tiempo. (2)

3.6 PROPIEDADES TERAPEUTICAS DE ALGUNAS DE LAS PLANTAS DE LOS PRODUCTOS

El uso de las plantas con fines curativos se remonta al principio de la historia de la humanidad. En México, las plantas medicinales aparecen como uno de los recursos más sobresalientes del arsenal del terapeuta tradicional y ocupan un lugar predominante en el cuerpo etnomédico.

3.6.1 *Allium sativum* :

Es una planta bulbosa de hojas cintiformes. El bulbo esta compuesto por pequeños bulbos de sabor acre. No es originario de México, pero es fácilmente cultivable en todo tipo de clima. Contiene alicina, hormonas, ácido sulfanílico, yodo, uranio, vitamina A, B y C, selenio y azufre. (11,16)

La propiedad bactericida del ajo es atribuida a un aceite incoloro de olor penetrante llamado alicina, el cual es un compuesto azufrado: dialil tiosulfonato (2-propenil-2-propenetiolo sulfonato), el compuesto es relativamente inestable, lábil al calor, estable en medios ácidos, soluble en agua (2.5% a 10° C aproximadamente); miscible en alcohol, benceno y éter. (6)

El ajo se emplea como estimulante, febrífugo, vermífugo, rubefaciente y aun como cáustico, vesicante y emético. Su zumo se ha usado también contra la sarna, tiña, sordera y callos de los pies. Es un antiséptico popular. No se debe abusar de su uso ya que es muy irritante. (10,16,19).

Como se ha venido mencionando, las propiedades del ajo son tantas que puede comprenderse el espectro de acción tan amplio del principio activo (alicina), o bien del extracto como tal.

Las propiedades que actualmente han sido comprobadas en trabajos de investigación, son muy variadas, de entre las cuales podemos mencionar: antibacteriana, antiviral, procoagulante, fibrinolítica, hipoglicémica, anticarcinogénica, antihelmíntica e insecticida entre otras; además de la acción antifúngica que nos es de interés en el presente trabajo. (5)

Existen antecedentes de varios estudios realizados sobre la acción antimicótica del ajo por ejemplo:

Fué utilizado un extracto concentrado de ajo fresco , para curar una dermatofitosis por *T. mentagrophytes* inducida en 5 ratones de experimentación, los cuales fueron tratados tópicamente con el extracto , obteniendo la curación de todos los ratones en un tiempo de 3 a 4 semanas. (10)

Se evaluó la actividad antifúngica de la alicina "in vitro". Esta fué efectiva contra los siguientes géneros: *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* y *Microsporum*. La concentración mínima inhibitoria contra éstos fué de 3.13 a 6.25 mg/ml por el método de dilución en agar ; la concentración mínima inhibitoria resultó afectada considerablemente por diferencias en las condiciones experimentales como: tiempo de incubación, tamaño de inóculo, tipo del medio y su pH. (25)

Pudo demostrarse que la alicina presentó actividad antidermatofítica "in vitro" para las siguientes cepas: *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *E. floccosum*, *M. canis*, *M. gypseum* y *T. mentagrophytes*. Encontrando una concentración mínima inhibitoria contra estas cepas de aproximadamente 5 mg/ml para todos, excepto para *T. mentagrophytes* que fué de 50 mg/ml. (25)

Por otra parte se comprobó la actividad "in vivo" de la alicina (extracto acuoso de ajo) en crema al 1 % con dos aplicaciones al día, en pacientes con tiña del cuerpo y/o de la ingle, dando como resultado la curación micológica de un 90 % de los casos, y presentando dermatitis por contacto en un 10 % a esta concentración. (17)

3.6.2 *Allium cepa* :

Planta herbacea, raíz bulbosa de forma ovoide, tamaño variable, olor picante y penetrante. Sus hojas largas y huecas radicales, con flores blancas o rosas. Se cultiva en tierra caliente o templada. Contiene ácido tánico, silicatos, fosfatos de sodio, y un alcaloide muy tóxico llamado veratrina, aceite volátil sulfurado acre, ácido fosfórico y acético.

Se usa como diurético, sudorífico, estimula la articulación, sana dolores musculares de origen reumático, estimula la transpiración, auxiliar en el tratamiento del acné y heridas superficiales. Su jugo es antiséptico. (11,16)

3.6.3 *Citrus aurantifolia* :

Arbolillo espinoso de hojas elípticas crenadas, flores blancas aromáticas. La fruta es ovalada de color verde y muy jugosa, se cultiva en climas templados. Contiene aceite esencial de olor agradable, ácido cítrico, málico, acético, fólico, un glucósido llamado hesperidina y vitamina C.

Es un excelente antiescorbútico, refrescante, diurético y sudorífico. El jugo es un magnífico desinfectante para llagas e irritaciones exteriores y ojos. (7,19)

3.6.4 *Psidium guajava* :

Arbusto de 4 a 8 m. de altura de corteza rojiza y escamosa, de flores blancas, fruto en forma de pera pequeña, de sabor dulce y olor penetrante, con muchas semillas. Crece en clima cálido.

Contiene ácido cítrico, vitamina C, y se usa como astringente, se ha usado para, calmar la diarrea, eliminar algunos parásitos intestinales y como cicatrizante de heridas ligeras. (11,16)

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad terapéutica de un shampoo y una loción de aplicación tópica, ambos preparados a partir de un mismo extracto de origen vegetal y comparando su acción con un producto comercial antimicótico a base de ketoconazol.

OBJETIVOS PARTICULARES

Valorar "in vitro" la actividad antimicótica de los mismos productos, utilizando las cepas recuperadas a partir de los pacientes .

Determinar la etiología responsable de la tiña de los pacientes en estudio.

MATERIAL Y REACTIVOS

MATERIAL:

Cajas de Petri de 5 cm de diámetro
Cajas de petri de 10 cm. de diámetro
Pipetas serológicas graduadas de 10ml
Pipetas serológicas graduadas de 5 ml.
Pipetas serológicas graduadas de 1ml
Pipetas serológicas graduadas de 0.1 ml
Pipetas Pasteur
Matraces volumétricos de 250 ml.
Portaobjetos
Cubreobjetos
Varillas de vidrio para espatulación
Vasos de precipitado de 250 ml
Vasos de precipitado de 500 ml
Matraz Erlenmeyer de 250 ml
Matraz Erlenmeyer de 500 ml.
Asas de cultivo
Algodón

EQUIPO:

Estufa de cultivo Felisa Mod. FE
Autoclave

REACTIVOS:

Medio de Agar Sabouraud Dextrosa *
Medio de Micosel *
Medio de Borelli *
Medio de Papa Zanahoria *
Medio de Urea de Christensen *
Solución de KOH al 20% *
Azul de Lactofenol *
Azul Algodón Acético *
Alcohol isopropílico al 70% *

*Vease su preparación en Apéndice.

METODOLOGIA

6.1 CRITERIOS PARA LA SELECCION DE PACIENTES

Para llevar a cabo el estudio de estos productos, la selección de los pacientes (hombres y mujeres) se llevó a cabo tomando en cuenta los siguientes criterios:

6.1.1 Inclusión:

- Individuos que clínicamente presenten tiña de los pies y/o de las uñas.
- Que acudan por propia voluntad y con la mayor disposición para llevar a cabo el tratamiento.
- Mayores de edad.
- Personas que hayan estado en tratamiento con antimicóticos pero que lo hayan suspendido , con 15 días de anticipación si se trataba de un medicamento tópico, o dos meses antes en el caso de un medicamento sistémico, antes de comenzar con el tratamiento en estudio.

6.1.2 Exclusión:

- Individuos que presenten alguna enfermedad concomitante como: Diabetes, tuberculosis, SIDA o cualquier enfermedad que altere la respuesta inmunológica.
- Personas que hayan recibido radioterapia y/o quimioterapia.
- Individuos que refieran alergias respiratorias o cutáneas por alimentos (de acuerdo a los ingredientes de los productos) o que hayan presentado pruebas positivas de sensibilidad dérmica a cualquiera de los dos productos.
- Mujeres embarazadas.

6.1.3 Eliminación:

- Personas que estén recibiendo actualmente tratamiento antimicótico de cualquier índole.
- Individuos que no acudan a las revisiones subsecuentes al estudio.
- Individuos a los que no se les haya demostrado mediante el examen de laboratorio la infección micótica.

6.1.4 Criterios para la clasificación de las lesiones en la tiña de los pies

Con el fin de evaluar su evolución, los cuadros clínicos de los pacientes con tiña de los pies se clasificaron por su extensión de la siguiente manera:

Lesiones extendidas en toda la planta del pie y en espacios interdigitales entre todos los dedos se consideraron de (++++).

Lesiones semejantes pero con pequeñas áreas libres de descamación en la planta del pie y en tres espacios interdigitales o más se consideraron de (+++).

Lesiones distribuidas en aproximadamente la mitad de la superficie de la planta del pie, con lesiones interdigitales limitadas a uno o dos espacios, o sin ellas se consideraron de (++).

Lesiones escamosas limitadas aproximadamente al 25% de la superficie del pie o menos; y/o lesiones intertiginosas entre el cuarto y quinto dedo se consideraron de (+).

6.2 DIAGNOSTICO DEL LABORATORIO

6.2.1 Toma de muestras:

Este es sin duda uno de los pasos más importantes en el diagnóstico de la infección, ya que la selección de la muestra por examinar determina en gran medida la eficacia del procedimiento, por lo que la limpieza de la zona muestreada es indispensable, en la tiña de los pies, los desechos externos y tejidos macerados deben ser quitados de la planta y de los espacios interdigitales, al igual que en las uñas.

Localizadas las lesiones, la toma de muestra se realizó de la siguiente manera:

- Se practicó asepsia con alcohol isopropílico al 70%.
- En la tiña de los pies las muestras se obtuvieron raspando la parte escamosa de la piel con la ayuda de portaobjetos estériles, principalmente en los bordes de las lesiones.

- En la tiña de las uñas el raspado se llevó a cabo por la parte interna del borde distal de la uña, desechando la primera porción, para así obtener la muestra de la parte más profunda.(4,22)
- Las escamas se colocaron directamente entre los dos portaobjetos y fueron envueltos perfectamente en papel para facilitar su manipulación.
- Cada muestra fue rotulada con el nombre del paciente, área topográfica muestreada y fecha correspondiente.

6.2.2 Examen directo:

El diagnóstico de laboratorio requiere la visualización del hongo en las muestras clínicas extraídas de la lesión. Los raspados de la piel y uñas se estudian al microscopio, tratadas previamente con una solución de KOH al 20%, el cual aclara la muestra, al digerir los desechos proteicos, blanquea los pigmentos y afloja el material escleroso sin dañar el hongo. Las hifas no son afectadas por este tratamiento quedando como filamentos tabicados, ramificados, ondulantes, largos y sumamente refringentes. (4,18)

Se realizó el examen directo de la manera siguiente:

- Se colocó una pequeña porción de la muestra sobre un portaobjetos y se mezcló con una gota de KOH al 20%.
- Se colocó encima un cubreobjetos.
- Se paso suavemente el portaobjetos a través de la llama baja de un mechero Bunsen para facilitar el aclaramiento (sin alcanzar temperatura de ebullición).
- Se dejó reposar a temperatura ambiente, durante aproximadamente 15 minutos para permitir que la potasa actuara y clarificara, facilitando la observación .
- Se procedió a hacer la observación microscópica de la muestra, en busca de las formas parasitarias que en los dermatofitos corresponden a artrosporas y/o filamentos tabicados y ramificados.

Normalmente este examen se utiliza solamente bajo los criterios de positivo o negativo, expresando la presencia o ausencia de infección, sin embargo en este proyecto como se ignoraba si realmente se lograría la curación clínica o solo se obtendría efecto parcial, se decidió evaluar también la evolución de el grado de parasitación de las escamas mediante este examen y así relacionarlo con la evolución clínica.

Para este fin y considerando que los examen directos en realidad son apreciativos, que dependen de la agudeza de observación del analista que los realiza, y buscando que los datos obtenidos por los diferentes observadores fueran semejantes, se determinó que cada preparación debería tener una cantidad de escamas suficiente para observar un mínimo de 40 campos con objetivo de 45X, estableciendo en forma aproximada los siguientes criterios de clasificación :

Ligeramente positivo (+).- Menos del 25 % de la superficie de escamas está parasitada.

Moderadamente positivo (+ +).- Del 25 al 50 % de la superficie de las escamas está parasitada.

Muy positivo (+ + +).- Del 50 al 75 % de la superficie de las escamas está parasitada.

En vista de la importancia que para el estudio tiene el examen directo se decidió llevar a cabo la validación del mismo aplicando un análisis estadístico de datos no paramétricos que permitiera evaluar la variabilidad observacional, tanto intraobservador como interobservadores. (13,14,15). Con este fin, se usó el programa de computadora Minitab versión 7.1 (Minitab Inc. 1989) mediante el método de Friedman, Pearson y Spierman.

6.2.3 Cultivo

La piel alberga en su superficie, gran cantidad de especies bacterianas y hongos saprófitos que forman parte de la flora normal o la colonizan de manera transitoria, por lo que el cultivo primario requiere la utilización de medios añadidos de antibióticos, antibacterianos e inhibidores de hongos contaminantes, ya que estos microorganismos se hacen predominantes e inhiben el crecimiento de los dematofitos, de desarrollo más lento. (18)

Una vez establecido el diagnóstico mediante el examen directo, con una segunda porción de las escamas se efectuaron los cultivos.

Los medios de cultivo utilizados para el primo-aislamiento fueron: Agar Micosel, y el Agar Sabouraud Dextrosa (ASD) , que se usó principalmente para la recuperación de levaduras (siendo estas más frecuentes en las uñas).

Se inocularon las escamas por picadura con asa micológica, incubándose posteriormente a una temperatura constante de 28 °C por un período de 8 días a 3 semanas.

Una vez desarrollados los primocultivos fueron resembrados en medio de Agar Papa-Zanahoria (APZ) o en medio de Borelli para favorecer el desarrollo de pigmentos y la morfología característica facilitando así la identificación de los diferentes dermatofitos.

De los dermatofitos más comunmente aislados podemos mencionar los siguientes:

- *Trichophyton rubrum*:

La colonia es de aspecto vellosa, algodonosa o granulosa, blanca, seca, algunas veces con micelio rosado, al reverso presenta un pigmento difusible color rojo-vino. Microscopicamente presenta abundantes hifas delgadas, tabicadas de aproximadamente 2 micras de diámetro. Presenta muchas microconidias que nacen directamente de la hifa, de aspecto piriforme de 2-4 micras de largo y regularmente se disponen en forma alterna. Produce pocas macroconidias o estan ausentes, las cuales son de forma alargada con un extremo redondeado con aspecto de puro de 15-20 micras de largo y 4-6 micras de ancho. Es un organismo incapaz de producir ureasa. (23)

- *Trichophyton mentagrophytes*:

Su colonia es de aspecto pulverulento o polvoso, plana, seca, ilimitada de color blanco o blanco-amarillento, raras veces produce pigmentos. Microscopicamente presenta abundante micelio delgado y tabicado en el cual se observan abundantes zarcillos e hifas en espiral. Tiene gran cantidad de microconidias libres redondas o piriformes, presenta escasas macroconidias en forma de puro de paredes lisas con 2-4 tabique y miden de 20-40 micras de largo y 6-8 micras de ancho. Es un organismo capaz de producir ureasa, lo que permite diferenciarlo de *T. rubrum*. (23)

***Epidermophyton floccosum*:**

Las colonias colonias son ilimitadas, aterciopeladas, de color blanco-beige, en ocasiones toma aspecto crateriforme o cerebriforme y desarrolla al reverso un pigmento difusible amarillo-verdoso. Microscópicamente presenta micelio delgado y tabicado, sólo presenta macroconidias en forma de clavos o bastos; con una base delgada y un extremo romo, que mide de 20-40 micras de largo y 8-10 micras de ancho. (4,23)

Ocasionalmente se cultivó en el medio Agar Urea de Christensen que permite diferenciar cepas de *T. rubrum* (ureasa negativa) y *T. mentagrophytes* (ureasa positivo).

6.3 TRATAMIENTO

Una vez establecido el diagnóstico mediante el examen directo de cada paciente, se procedió a dar el tratamiento con el shampoo y la loción, los cuales fueron únicamente de uso tópico dándose las siguientes indicaciones para su aplicación:

- Efectuar un lavado diario de los pies, introduciendolos en agua tibia añadida de aproximadamente cinco ml. del shampoo, por espacio de 10 a 15 minutos.
- Proporcionar un tallado enérgico de la piel y en las uñas afectadas llevar a cabo un cepillado suave.
- Enjuagar ligeramente con agua limpia.
- Aplicar la loción dejando secar antes de proceder a calzarse.

El tratamiento se prolongó por tres meses, los pacientes fueron citados cada mes para evaluar la evolución clínica y micológica de las lesiones, tomando en cuenta el resultado del examen directo, cultivo y cuadro clínico en cada revisión.

Al mismo tiempo se trabajó con un grupo control de cinco personas, tres hombres y dos mujeres con tiña de los pies, tratados con ketoconazol en crema para aplicación tópica, por un periodo de tiempo similar al de los productos en estudio y sometiendo al mismo esquema de revisión. No se incluyó un grupo control de tratamiento tópico de uñas porque existe el antecedente de que no hay un tratamiento de este tipo efectivo para estas micosis.

Por último, los resultados obtenidos con el examen directo se sometieron a análisis estadístico para datos no paramétricos, con el fin de usarlo para comparar la acción de los productos estudiados, con un medicamento tópico comercial de propiedades perfectamente establecidas.

6.4 VALORACION "in vitro" DE LA ACCION ANTIMICOTICA DEL SHAMPOO Y LA LOCION.

6.4.1 Técnica de difusión radial:

Para llevar a cabo la valoración "in vitro" de la actividad antimicótica del shampoo y la loción, se utilizaron las cepas aisladas directamente de los pacientes, utilizando la técnica de "DIFUSION RADIAL", así mismo se usó el mismo método para un shampoo comercial y el shampoo del estudio sin el extracto de vegetales para establecer una comparación. La técnica empleada se describe a continuación:

- Se utilizó solamente material estéril.
- Los medios empleados fueron; el Agar Micosel para los dermatofitos y el ASD para las levaduras, en cajas de 5 cm. de diámetro.
- Se preparó una suspensión de las cepas puras en 0.5ml de solución salina.
- Se sembraron por espatulación 0.05ml. de la suspensión en cada caja.
- Se perforaron pocitos de 7mm. de diámetro en el agar y al centro de la caja.
- Se agregaron 0.07 ml. del producto a probar dentro de cada uno de los pozos.
- Se incubó a temperatura ambiente.
- A los 8 días se revisó cada caja, y se midió con una regla el diámetro del halo de inhibición.
- Se montó simultáneamente para cada cepa la misma técnica por cuadruplicado, valorando por separado cada uno de los productos y añadiendo una quinta caja con un cultivo testigo para cada una.

Tomando en cuenta que los resultados no fueron satisfactorios porque no mostraron diferencia significativa, se procedió a emplear la técnica de placa, usando el extracto del shampoo concentrado sin detergente y la loción.

6.4.2 Técnica de placa con el extracto del shampoo a las concentraciones del 50 % y 25 % así como de la loción al 50 %:

- Se preparó el medio de cultivo con el 50% de agua, una vez estéril, se completó el 50% restante con el extracto.

- Ya homogéneo el medio, se vació en cajas de Petri.

- Se agregó a cada caja 0.05 ml de la suspensión, sembrando por espatulación.

- Se incubó a temperatura ambiente y se observaron los resultados a los 8 días.

La misma técnica se repitió preparando medio añadido del extracto del shampoo en proporción del 25% y medio añadido de loción al 50%.

RESULTADOS

7.1 VALORACION " in vitro" DE LA ACCION ANTIMICOTICA DEL SHAMPOO Y LOCION

7.1.1 Método de difusión radial:

Los resultados por este método se calcularon midiendo el diámetro del halo de inhibición y no se consideraron significativos por lo siguiente:

- La loción no mostró inhibición para ninguna cepa.
- El shampoo sin el extracto vegetal dió una media de 4.459
- El shampoo en estudio mostró una media de 4.455
- El shampoo comercial dió una media de 4.686

Realizando un análisis estadístico para datos paramétricos por el método de Anova se obtuvo un valor de $p = 0.302$ que nos indica que, comparando los resultados obtenidos por los diferentes shampoos, estos son muy semejantes, lo que permite suponer que exista una posible interferencia por el detergente que contienen.

Tomando en cuenta que los resultados no fueron satisfactorios se procedió a practicar la técnica de placa con el extracto del shampoo sin detergente y con la loción, logrando los siguientes resultados:

7.1.2 Técnica de placa con el extracto del shampoo a las concentraciones del 50 % y 25 % así como de la loción al 50 %:

A estas concentraciones con el extracto se observó una inhibición total en el crecimiento, tanto para los dermatofitos como para *Candida* sp., lo que demuestra que "in vitro" si tiene una acción antimicótica.

El agar preparado al 50 % con la loción, mostró una inhibición absoluta en el desarrollo de los dermatofitos, pero no para *Candida* sp. que se desarrolló abundantemente.

7.2 VALORACION DE LA EFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO EN ESTUDIO

Se estudió un total de 70 pacientes con cuadro sugestivo de tiña de los pies y/o de las uñas. Se les practicó un examen directo de escamas para confirmar mediante exámenes de laboratorio el diagnóstico clínico presuntivo de tiña, de ellos, nueve se eliminaron al presentar este examen negativo. (gráf. no. 1).

De ellos 20 se excluyeron porque no estuvieron dispuestos a adquirir el compromiso de acudir a las revisiones, o bien porque se les hacía difícil seguir con constancia el esquema de aplicación establecido. Cinco pacientes fueron seleccionados para usar el producto comercial que se usó como control, y a los 36 restantes se les dio el shampoo y la loción.

De estos 36 se eliminaron diez por los motivos que en seguida se señalan:

Dos cambiaron de lugar de residencia, cuatro abandonaron el estudio porque les pareció tardada la curación y prefirieron cambiar el tratamiento por uno comercial, tres por razones de trabajo no acudieron a todas las revisiones, y una porque los productos le causaron irritación en la piel.

De esta manera en el proyecto quedaron un total de 26 pacientes para recibir el tratamiento en estudio y cinco como grupo control con tratamiento tópico a base de ketoconazol. A continuación se resumen las características de ambos grupos.

7.2.1 Características de los pacientes:

Tabla No 1

Agrupación por sexo

Sexo	Grupo en estudio		Grupo control	
Hombres	12	46.1%	3	60%
Mujeres	14	53.8%	2	40%

Tabla No.2

Cuadros clínicos

Cuadro clínico:	Grupo en estudio		Grupo control	
	No.	%	No.	%
Tiña de las uñas	3	11.5	Todos presentaron exclusivamente tiña de los pies	
Infección mixta (Uña y Piel)	23	88.5		
Total de pacientes	26	100	5	100

Tabla No. 3

Variedades clínicas de la tiña de los pies

Variedades clínicas:	Grupo en estudio		Grupo control	
	No.	%	No.	%
Hiperqueratósica	6	26.1	3	60
Intertriginosa	1	4.4	1	20
Hiperqueratósica-Intertriginosa	11	47.8	0	0
Hiperqueratósica-Vesiculosa	2	8.7	0	0
Hiperqueratósica-Intertriginosa-Vesiculosa	3	3	1	20

Tabla No. 4

Período de evolución

Periodo de evolución:	Grupo en estudio		Grupo control	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
< 4 años	6	23.1	4	80
4-6 años	5	19.2	1	20
6-10 años	9	34.6		
> 10 años	6	23.0		

Tabla No. 5

Tratamientos anteriores

Administración de tratamientos anteriores:									
Grupo en estudio								Grupo control	
Tiña de los pies:				Tiña de las uñas:					
Si	%	No	%	Si	%	No	%	NINGUNO	
6	26.1	17	73.9	2	7.7	24	92.3		

Los pacientes con tiña de los pies que habían recibido tratamiento con anterioridad refirieron, el empleo de antimicóticos de uso tópico, entre ellos: Tolnaftato, miconazol y ácido undecilénico. Los pacientes con tiña de las uñas, en cambio habían sido tratados con antimicóticos sistémicos como el ketoconazol y la griseofulvina.

7.2.2 Resultados del examen directo y cultivo:

El examen directo es uno de los análisis de laboratorio más sencillos y confiables en el diagnósticos de las tiñas, por lo que fue seleccionado para evaluar la curación micológica de los pacientes tratados y se le practicó una validación del método basado en análisis estadísticos de datos no paramétricos con los siguientes resultados:

Se aplicaron tres métodos para establecer la constancia de criterio intraobservador (varianza). Con el de Friedman se obtuvo un valor de $p = 0.318$ para ambos operadores. Mediante la correlación simple de Pearson se tuvieron valores de $T = 4.014$ y $T = 4.480$, y por correlación de rangos de Spierman $T = 3.519$ y $T = 3.968$ para el observador 1 y 2 respectivamente.

En la prueba de tendencia en el criterio de clasificación entre observadores mediante el método de Friedman se obtuvo un valor de $P = 0.913$.

Al evaluar la correlación interobservadores, la correlación simple de Pearson aplicada a la observación simultánea dio un valor de $T = 4.129$. Mientras que en la correlación de rangos de Spierman $T = 3.620$.

La correlación de rangos de Spierman aplicada en forma global para todas las observaciones mostró valor de $T = 3.597$.

Con el cultivo, no fue posible obtener un cien por ciento de recuperación de las cepas causantes de la infección, lo que le convirtió en un parámetro poco confiable.

En seguida se muestra la evolución del mismo a través del estudio:

Tiña de los pies:

De los 12 cultivos positivos al inicio; 7 permanecieron positivos hasta el final, mientras que 5 se negativizaron.

De los 11 cultivos negativos al inicio; 7 se mantuvieron igual hasta el final; 4 se positivizaron.

Tiña de las uñas:

De los 12 cultivos positivos al inicio, 3 permanecieron positivos hasta el final, mientras que 9 se negativizaron.

De los 14 cultivos negativos al inicio, 12 se mantuvieron igual hasta el final; 2 se positivizaron.

Debido al comportamiento mostrado por el cultivo, no fue considerado el método más adecuado para evaluar la curación micológica y se decidió conceder mayor importancia al examen directo.

En las siguientes tablas se puede apreciar la evolución del examen directo, a través de las tres revisiones, en ambos cuadros clínicos:

Tabla No 6

Evolución del examen directo en la tiña de los pies

Examen directo con KOH:	REVISIONES		
	1ª	2ª	3ª
Positivos	23	21	19
Negativos	0	2	4
TOTAL	23	23	23

Tabla No. 7

Evolución del examen directo en la tiña de las uñas

Examen directo con KOH:	REVISIONES		
	1ª	2ª	3ª
Positivos	26	25	25
Negativos	0	1	1
TOTAL	26	26	26

7.2.3 Evolución del cuadro clínico de la tiña de los pies.

En el siguiente cuadro se muestra la evolución del cuadro clínico en las tres revisiones practicadas en el transcurso del proyecto.

Tabla No. 8

Evolución del cuadro clínico en la tiña de los pies

Cuadro clínico valorado en cruces:	1ª revisión	2ª revisión	3ªrevisión
(++++)	8	0	0
(+++)	9	1	1
(++)	6	7	5
(+)	0	13	13
NEG	0	2	4

7.2.4 Comparación estadística entre los productos del estudio y uno comercial a base de Ketoconazol:

Para establecer una comparación estadística entre los resultados obtenidos en ambos tratamientos se utilizó la prueba de mediana de Mood para establecer si existe diferencia entre estos:

Tabla No. 9

Primera revisión:

Tratamiento	N < =	N >	Mediana
1	12	11	2.5
2	3	2	2.0

N = Número de pacientes.

Esto muestra que existe una distribución muy semejante entre los tratamientos, dandonos un valor de $p = 0.686$, con lo que se establece que en esta primera revisión no existió una diferencia significativa.

Tabla No. 10

Segunda revisión:

Tratamiento	N < =	N >	Mediana
1	11	12	2.0
2	3	2	1.0

N = Número de pacientes

Nuevamente los resultados muestran una distribución muy semejante entre los dos tratamientos, dandonos un valor de $p = 0.557$, con lo que se establece que en esta segunda revisión sigue sin existir una diferencia significativa.

Tabla No. 11

Tercera revisión:

Tratamiento	N < =	N >	Mediana
1	4	19	1.0
2	5	0	0.0

N = Número de pacientes

En esta última revisión se muestra una distribución diferente entre los dos tratamientos, dando un valor de $p = 0.000$, lo que significa que en este caso existe una diferencia significativa.

Utilizando la prueba de análisis de varianza por rangos de Kruskal-Wallis se obtuvieron valores de H (estadística de prueba H) y p (probabilidad de que ambos tratamientos sean iguales), dando para las diferentes revisiones los siguientes valores: en la primera H= 0.50 y p= 0.478, en la segunda H= 0.36 y p= 0.549 y para la tercera H= 9.04 y p= 0.003, con lo que se demuestra, que en la primera y segunda revisión no existe diferencia significativa entre ambos tratamientos, pero que en la última revisión si es significativa la diferencia. Tomando en cuenta estos resultados se establece que el ketoconazol tiene un efecto antimicótico superior al de los productos probados (shampoo y loción).

7.3 ETIOLOGIA DETERMINADA EN LA TIÑA DE LOS PIES Y DE LAS UÑAS

7.3.1 Primera etapa:

La etiología de estos padecimientos se determinó en dos etapas, en la primera de ellas se analizaron solamente los resultados de los cultivos en los 26 pacientes que recibieron y llevaron a término el tratamiento en estudio, conjuntamente con los de los 5 pacientes del grupo control tratados con ketoconazol (Tabla No. 12).

En la tabla No. 12 se muestran los resultados de esta etapa, en la que a partir de 26 pacientes con exámenes directos positivos se obtuvieron 21 aislamientos en tiña de los pies (Gráf. 2) y 17 en tiña de las uñas (Gráf. 3).

TABLA No. 12

ETIOLOGIA DE LA TIÑA DE LOS PIES Y DE LAS UÑAS

primera etapa:

Hongo:	Tiña de los pies		Tiña de las uñas	
	No.	%	No.	%
<i>T. rubrum</i>	16	76.1	14	82.3
<i>T. mentagrophytes</i>	2	9.5	0	0
<i>E. floccosum</i>	1	4.8	0	0
<i>Candida sp.</i>	0	0	1	5.9
<i>T. rubrum</i> + <i>E. floccosum</i>	1	4.8	0	0
<i>T. rubrum</i> + <i>Candida sp.</i>	1	4.8	2	11.8
Total	21	100	17	100

7.3.2 Segunda etapa:

En una segunda etapa se analizaron los datos obtenidos a partir de todos los pacientes en los que fue posible recuperar la cepa , o cepas fúngicas implicadas en la infección (Tabla no. 13), sin tomar en consideración si cumplían o no con todos los requisitos necesarios para participar en el protocolo de los productos en estudio y de esta manera observar si hay variación en los resultados al aumentar la población.

En la siguiente tabla se muestran los resultados de esta segunda etapa, en la que a partir de 61 pacientes con exámenes directos positivos se obtuvieron 28 aislamientos de tiña de los pies (Gráf. 4) y 26 de tiña de las uñas (Gráf. 5).

TABLA No. 13

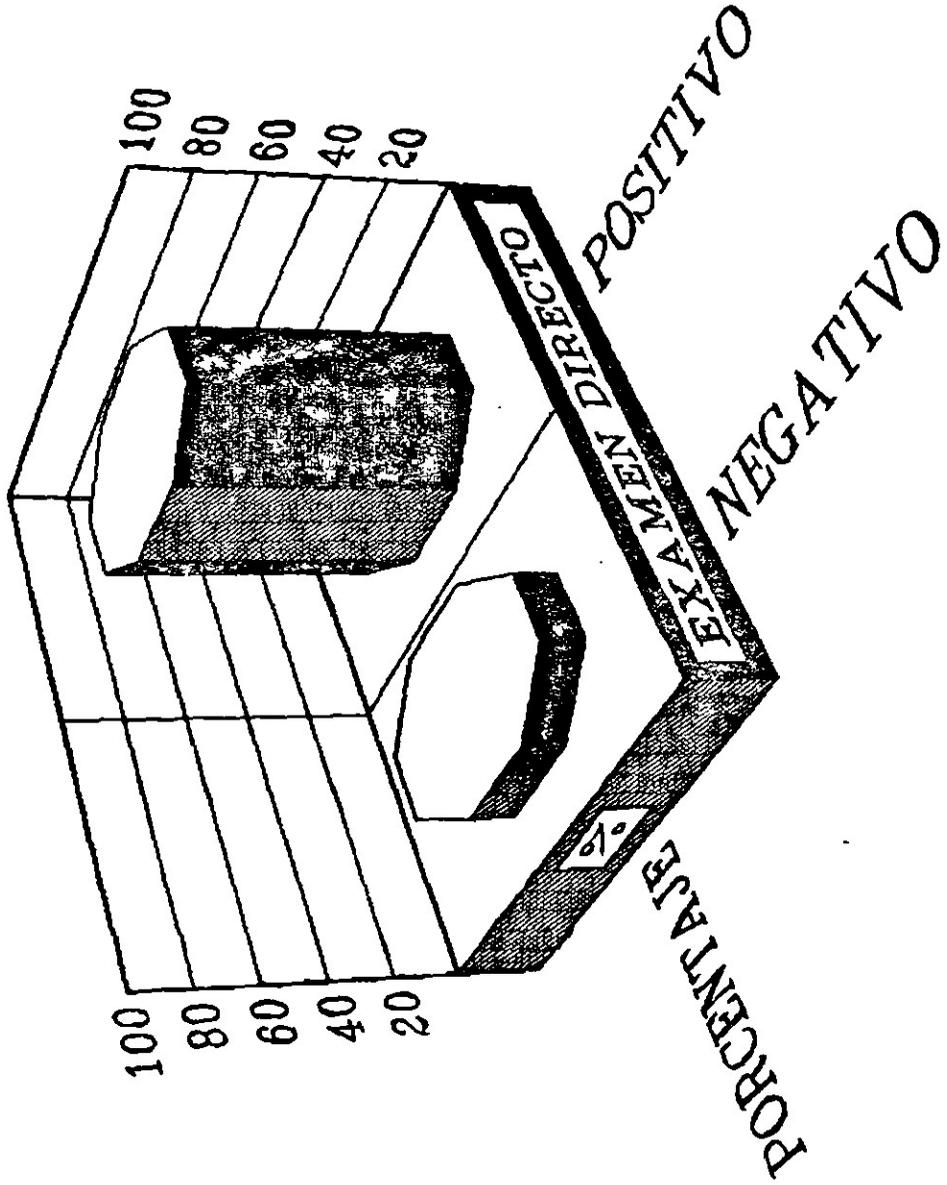
ETIOLOGIA DE LA TIÑA DE LOS PIES Y DE LAS UÑAS

Segunda etapa:

Hongo	Tiña de los pies		Tiña de las uñas	
	No.	%	No.	%
<i>T. rubrum</i>	21	75	21	80.8
<i>T. mentagrophytes</i>	4	14.3	2	7.7
<i>E. floccosum</i>	1	3.6	0	0
<i>Candida</i> sp.	0	0	1	3.8
<i>T. rubrum</i> + <i>E. floccosum</i>	1	3.6	0	0
<i>T. rubrum</i> + <i>Candida</i> sp.	1	3.6	2	7.7
Total	28	100	26	100

GRAFICA No.1

RESULTADOS DE ED. EN TINEA PEDIS Y/O TINEA UNGUIUM

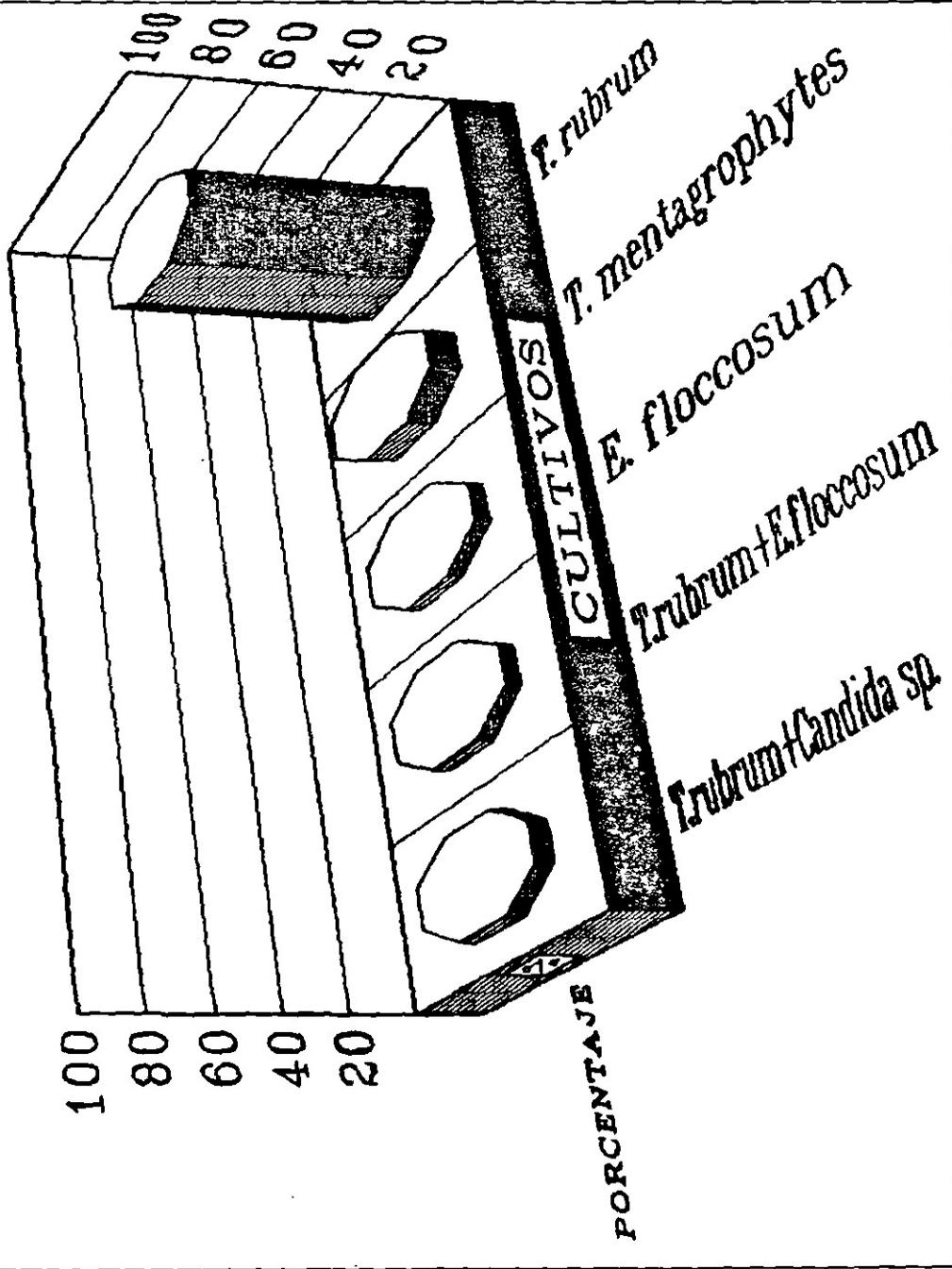


No total de pacientes: 70

GRAFICA No.2

ETIOLOGIA DE LA TINA DE LOS PIES

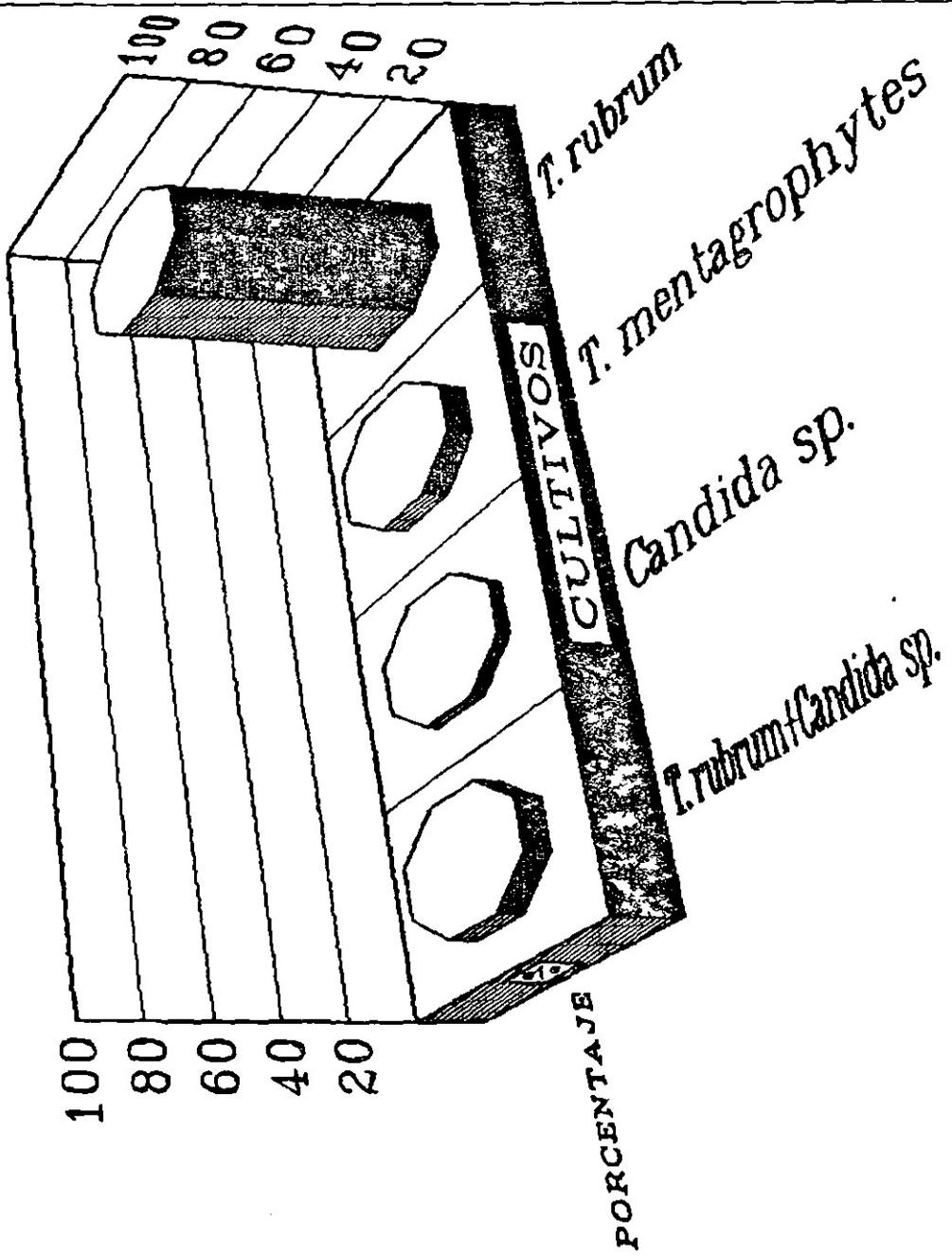
PRIMERA ETAPA



GRAFICA No.3

ETIOLOGIA DE LA TINA DE LAS UNAS

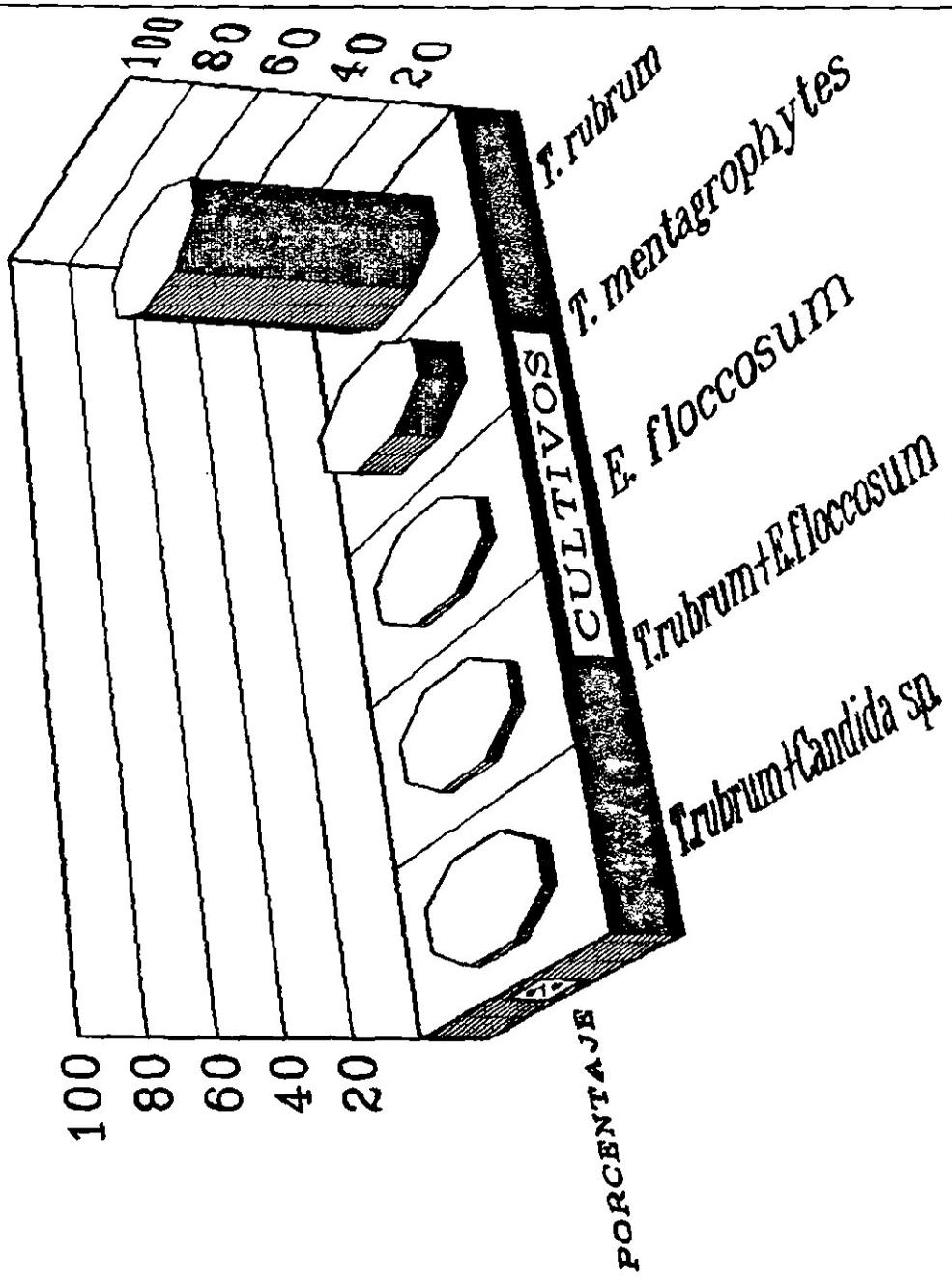
SEGUNDA ETAPA



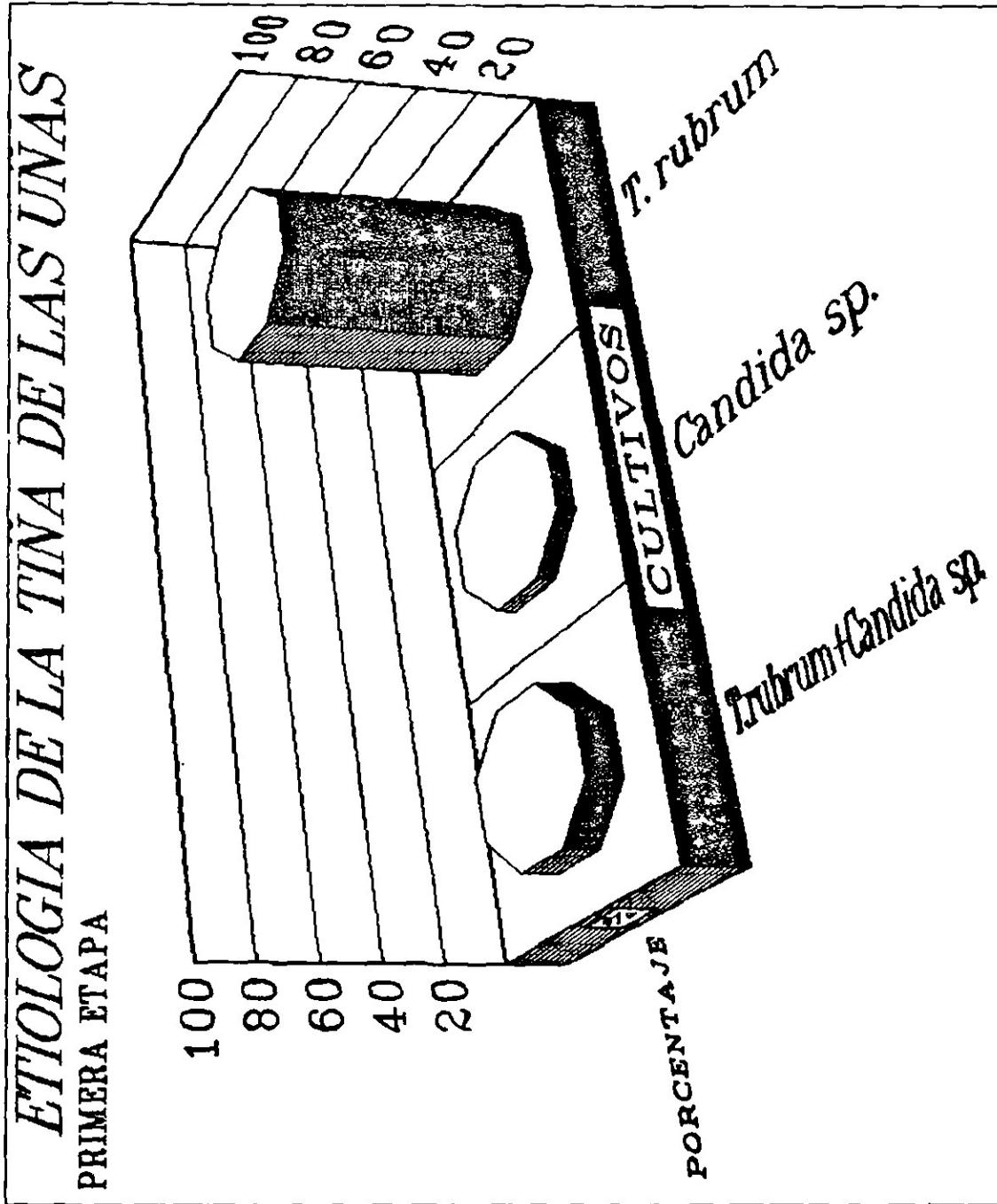
GRAFICA No.4

ETIOLOGIA DE LA TINA DE LOS PIES

SEGUNDA ETAPA



GRAFICA No.5



CONCLUSIONES

El universo (muestra) del estudio fue adecuado, por considerarlo estadísticamente significativo.

Se comprobó que el shampoo y loción con extractos vegetales no son eficaces como tratamiento tópico de la tiña de los pies, pues solo se obtuvo curación clínica y micológica en el 17.4% de los pacientes, demostrada por la negativización del examen directo (Tabla no. 6) mejoría en el 73.9% y fracaso en el 8.7 % de ellos; sin embargo, se demostró que tiene cierto efecto fungistático sobre los dermatofitos, ya que en la mayoría de los casos provocó modificación en las lesiones tales como: disminución del área de piel infectada y del grado de parasitación de las escamas, consecuentemente provocaron una disminución en el prurito y el mal olor que incluso llegaron a desaparecer.

En el caso de la tiña de las uñas, se demostró que estos productos de aplicación tópica no son eficaces, ya que se obtuvo un 3.8 % de curación clínica y micológica, con negativización el examen directo (Tabla No.7), fracaso en el 46.2 % y cambios en un 50 %, presentando estos últimos un modificación en el aspecto de la uña como: pérdida del tejido afectado, disminución del grado de hiperqueratosis, cambio de color y endurecimiento de la uña.

Los estudios realizados "in vitro" sobre 22 cepas aisladas, permitieron comprobar que el shampoo y la loción tienen efecto antimicótico sobre estos agentes, aunque no se determinó la concentración mínima inhibitoria. La acción antimicótica fue efectiva a los productos usados en el estudio, así como al extracto de vegetales incluidos en su formulación.

La mayoría de los pacientes (80%) opinó que el esquema del tratamiento les parecía complicado y que hubiera sido preferible una presentación de más fácil aplicación.

La etiología identificada en el estudio es variada, predominando en la tiña de los pies el dermatofito *Trichophyton rubrum* en un 77.6%, *Trichophyton mentagrophytes* en un 13.3% , *Epidermophyton floccosum* en un 6.6% y *Candida* sp en un 3.3% . En la tiña de las uñas predominó igualmente el dermatofito *Trichophyton rubrum* en un 82.1%, *Trichophyton mentagrophytes* en un 7.1% y *Candida* sp. en un 10.7%. Los datos obtenidos para ambas patologías coinciden con los reportados en la literatura.

DISCUSION

Este trabajo se realizó con el fin de buscar una nueva alternativa de tratamiento de las micosis superficiales, específicamente *Tinea pedis* y *Tinea unguium*.

Se decidió estudiar estos productos de origen vegetal porque se consideró que estando elaborados a partir en su mayoría de plantas de uso cotidiano y teniendo un esquema de aplicación tópica, difícilmente podrían presentar efectos adversos; además uno de los constituyentes es el ajo, que contiene un compuesto azufrado llamado alicina, con propiedades antibióticas y antimicóticas comprobadas en recientes investigaciones las cuales ya fueron mencionadas en los capítulos anteriores.

Previo a la aplicación del tratamiento se valoró la sensibilidad dérmica a los productos mediante la prueba de parche, esta parte del estudio la llevó a cabo la tesista de Q.F.B. Janny María Benitez Damas en el proyecto en el cual se evaluó la capacidad de estos mismos productos para inducir el desarrollo del pelo.

Los resultados obtenidos con el tratamiento para la tiña de los pies y de las uñas no fueron enteramente satisfactorios, por que al ser comparados contra el tratamiento a base de ketoconazol su efectividad resultó claramente inferior, sin embargo provocaron en gran medida en la tiña de los pies una mejoría en el cuadro clínico y alivio de las molestias que la infección causaba, esto significa que "in vivo" tienen una ligera acción antimicótica que resulta más bien fungistática que fungicida puesto que no son capaces de eliminar a los dermatofitos. En las uñas su acción fue tan ineficaz como la del resto de los antimicóticos de acción tópica, sin embargo la mitad de los pacientes presentó modificaciones en la textura de las uñas.

Todo permite suponer que la concentración de los principios activos no son las adecuadas para lograr óptimos resultados, por otra parte la presentación de los productos resultó poco práctica para el paciente, dando como consecuencia inconstancia en el tratamiento.

Con base a estas observaciones se considera conveniente estudiar más los productos, concentrando sus principios activos y usando un vehículo más adecuado que permita un esquema de aplicación sencillo para el paciente y así aprovechar los recursos de la herbolaria, a veces tan criticada, pero de la que no se puede negar la efectividad de algunos principios obtenidos de esta fuente, por lo que sería interesante investigar si además del ajo, alguno otro de los componentes de los productos pudiera presentar propiedades similares, abriendo nuevas opciones de antimicóticos útiles no solo en las tiñas, sino también en micosis que actualmente requieren la administración de medicamentos muy tóxicos.

En cuanto a las etiologías identificadas en estos cuadros clínicos, los resultados obtenidos fueron semejantes a los encontrados en estudios anteriores practicados en población de nuestra ciudad, como el realizado por Gomez, B.S.M. en 1991 que reporta un 81.8% de aislamientos de *T. rubrum* para tiña de las uñas, concordando con el 82.1% encontrado en este estudio. Así mismo *T. mentagrophytes* aparece en segundo lugar en ambos trabajos. (9)

En otro reporte de Alvarez O.M.G., en el que se determinó la etiología de diferentes cuadros clínicos de dermatofitosis, se encontró una incidencia de *T. rubrum* del 79.31%, de *T. mentagrophytes* del 6.89% y de *E. floccosum* del 3.44%, resultados muy semejantes a los obtenidos en este trabajo para la tiña de los pies. (1)

Comparando los resultados con una población de la ciudad de México, Araos T.L. aisló en la tiña de las uñas: *T. rubrum* en un 60%, *Candida* sp. en un 14%. y asociaciones de *Candida* sp. y *T. rubrum* en un 2%, resultados difieren de los de este estudio en el que las asociaciones alcanzaron un 11.8%, mientras que *Candida* sp. se presentó en un 5.9%. (2)

Es importante hacer notar que es alta la frecuencia con la que se encontraron asociaciones en la tiña de las uñas y que esto pudiera ocasionar una mayor resistencia a los tratamientos.

En el transcurso del estudio se hicieron observaciones tendientes a mejorar la eficacia de los primoaislamientos de dermatofitos, notando que la temperatura es un factor muy importante en el desarrollo de los agentes etiológicos. Para demostrarlo se cultivaron por duplicado 14 muestras incubando a temperatura ambiente y en estufa a 28 °C ; de las muestras incubadas a 28 ° C, 7 se desarrollaron en el transcurso de 5 días, y a temperatura ambiente, 5 de las mismas muestras se desarrollaron después de 14 días y 2 no crecieron .

Estos resultados no fueron incluidos dentro del estudio porque el número de ensayos fué limitado, sin embargo es un dato importante para estudios posteriores.

APENDICE

10.1 MEDIO DE AGAR SABOURAUD DEXTROSA (ASD):

- Dextrosa	40 g.
- Peptona	10 g.
- Agar-agar	15 g.
- Agua destilada	100 ml.
- pH final	5.6

Se hierve el medio hasta dilución completa, se distribuye en tubos de 16 por 150 (aproximadamente 7 ml.) con tapones de gasa y algodón; esterilizar en autoclave a 121 C, durante 15 min. a 15 libras de presión, posteriormente se sacan y se inclinan. (2)

10.2 MEDIO DE AGAR MICOSEL:

- Dextrosa	10 g.
- Peptona	10 g.
- Agar-agar	15 g.
- Cicloheximida	40 mg/ml.
- Cloranfenicol	50 mg/ml.
- Agua destilada	1000 ml.
- pH final	6.5

Suspender 36 g. del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mezclar totalmente y esterilizar en autoclave a 15 libras de presión y a 121 °C durante 15 min. (2)

10.3 MEDIO DE AGAR PAPA-ZANAHORIA MAS DEXTROSA AL 1 %

- Pulpa de Zanahoria	20 g.
- Pulpa de papa	20 g.
- Agar- agar	15 g.
- Dextrosa	10 g.
- Cloranfenicol	50 mg/L
- Agua destilada	1000 ml
- pH final	5.6

Pelar la papa y la zanahoria, pesar la cantidad exacta y cortarla en pedazos, hervir en agua destilada por 30 min. filtrar en gasa y finalmente en papel filtro de poro abierto. Agregar el agar-agar, dextrosa y cloranfenicol, esterilizar a 15 libras de presión a 121 °C durante 15 min. Repartir en tubos estériles la cantidad aproximada de 7 ml. del medio, inclinarlos y esperar a que solidifique (en pico de flauta). (2)

10.4 MEDIO DE BORELLI:

- Harina de trigo 14 g.
- Leche descremada en polvo 14 g.
- Miel de abeja 7 g.
- Agar-agar 15 g.
- Agua destilada 1000 ml.

Mezclar los ingredientes y esterilizar en autoclave a 15 libras de presión por 15 min. a 121 °C. Colocar en tubos inclinados el medio y esperar a que solidifique.(2)

10.5 AGAR UREA DE CHISTENSEN :

- Peptona 0.1 g.
- Dextrosa 0.1 g.
- NaCl 0.5 g.
- KH PO 0.2 g.
- Agar-agar 2.0 g.
- Rojo de fenol 0.0012 g
- Agua destilada 1000 ml.

Los ingredientes se mezclan y se calientan en baño de agua, ajustar el pH a 10.8. Esterilizar a 15 libras de presión por 10 min. despues añadir a cada tubo 0.5 ml. de una solocución al 20 % de urea previamente filtrada. Repartir volúmenes de 4.5 ml. en tubos de 16 por 150, inclinar y guardar en el refrigerador. (2)

10.6 SOLUCION KOH AL 20%:

Se disuelven 20 g. de KOH (Hidróxido de potásio) en 100 ml. de agua.

10.7 AZUL DE LACTOFENOL:

Lactofenol:

- Fenol	20 g.
- Acido láctico	20 g.
- Glicerina	40 g.
- Agua destilada	20 ml.

Disolver los 20 ml. de agua y el fenol a baño María, agregar el ácido láctico y la glicerina.

Azul algodón lactofenol:

A los 80 ml. de aclarante anterior se le adiciona 0.05 g. de colorante azul algodón y se filtra antes de usarse. (2)

10.8 AZUL ALGODON ACETICO:

- Azul algodón	0.5 g.
- Acido acético	3.0 ml.

Disolver en 100 ml. de agua destilada.(2)

10.9 ALCOHOL ISOPROPILICO AL 70%:

En un matraz volumétrico de 100 ml., colocar 70 ml. de alcohol isopropílico y aforar con agua destilada.

BIBLIOGRAFIA

1. - Alvarez, Ojeda M.G., 1989. Determinación de la Etiología en 25 casos de Dermatofitosis y Ensayo de un Medio de Cultivo a Base de Tuna para aislamiento de Dermatofitos. Tesis Licenciatura. Químico Farmacobiólogo. Facultad de Ciencias Químicas. U.A.S.L.P.
2. - Araoz, Tellez L., 1993., ONICOMICOSIS: Tratamiento con Bifonazol-Urea. Tesis Licenciatura. Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Química. U.N.A.M.
3. - Arenas, R., 1993., Micología Médica Ilustrada; Primera Edición, Ed. Interamericana Mc. Graw Hills. México D.F. 57-67.
4. - Bonifaz, A. 1991., Micología Médica Básica; Primera Edición, Ed. Francisco Méndez Cervantes., México D.F. 31, 33, 38, 51-57, 65-68.
5. - Cavallito, C.J., and Bailey J.H., 1944.; Allicin, The antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, Physical Properties and Antibacterial Action. J. Am Chem. Soc. 66: 1950-1951.
6. - Cavallito, C.J., Bailey J.H. and Buck J.S. 1945; Allicin, The antibacterial principle of *Allium sativum*. II . Determination of the Chemical Structure. J. Am. Chem. Soc. 66; 1952-1954.
7. - Cifuentes, E., Ortega M.A., 1990; Herbolaria y Tradiciones Etnomédicas en un Pueblo Nahua; Primera Edición. U.N.A.M., Coordinación de la investigación científica., 12, 21 715.
8. - Gallástegui, O. 1988., Tratamiento Tópico de las Micosis Superficiales; "El Farmacéutico" Profesión y Cultura, Febrero, Vol 3, No. 3, 55-56.
9. - Gómez, Barrenechea S.M., 1991, Prevalencia de *Tinea unguium* en Tres Poblaciones; Tesis Licenciatura. Químico Farmacobiólogo. Facultad de Ciencias Químicas. U.A.S.L.P.
10. - González, Castillo M.C. , 1992, Inducción de *T. mentagrophytes* en Animales de Experimentación (Ratones) y su Curación con el Extracto Concentrado de Ajo; Tesis Licenciatura. Químico Farmacobiólogo. Facultad de Ciencias Químicas. U.A.S.L.P.
11. - Hernández, M.R., Gally J.M., 1981, Planta Medicinales; Séptima Edición. Arbol Editorial S.A. de C.V. México D.F., 17, 51, 94, 114.

12. - Lennette, Balows, Hausler, Shadomy., 1989, Manual de Microbiología Clínica; Cuarta Edición. Médica Panamericana, México D.F. 647-650.
13. - Loría, A. 1990, Estadística Mínima. VI. El Manejo de Datos no Paramétricos; LAB-acta, Vol. 2 No. 2, 15-18.
14. - Loría, A. 1990, Estadística Mínima. VII. Más Sobre la Concordancia de Observadores; LAB-acta, Vol. 2 No. 3, 13-15.
15. - Loría, A. 1990, Estadística Mínima. VIII. La Kappa Pesada; LAB-acta, Vol 2, No. 4, 15-20.
16. - Martínez, M., 1993, Las Plantas Medicinales de México; Sexta Edición, Ed. Botas. México D.F., 29-33, 65-66, 154-156, 230-231, 447.
17. - Muñoz, A. M.J., 1989, Evaluación del Principio Activo del *Allium sativum* (Alicina) Contra Dermatofitos "in vitro" e "in vivo" en el Tratamiento de tiñas del cuerpo e inguinal. ; Tesis Licenciatura. Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Químico. U.N.A.M.
18. - Murray, P., Drew W., Koboyashi G. Thompson J., 1992, Microbiología Médica; Primera Edición Española, Ed. Mosby Year Book, 311-316.
19. - Pontes, D.J., Casas B. D. R., 1867, (Botica) La Oficina de Farmacia; Séptima Edición, Ed. Bailly-Bailliere S.A. Madrid., 294-295; 745,
20. - Puig, P.P., 1987, Medicamentos Antifúngicos, "El Farmacéutico" Profesión y Cultura; Julio-Agosto, No. 40: 77-84.
21. - Ramesh, M.D., Reddy M.D., 1983; Onychomycosis (Revisión) Int. J. Dermatology, 22: 148-150.
22. - Rippon, J.W., 1990; Tratado de Micología Médica; Segunda Edición, Ed. Company Philadelphia, 186, 200-233, 237-243, 257-258.
23. - Torres, R. J. M., 1987; Micosis Que Afectan la Piel y Mucosas; Segunda Edición, Ed. Doyma. España. 34-54.
24. - Wayne, W. D., 1977; Bioestadística: Bases Para el Análisis de las Ciencias de la Salud; Primera Edición, Ed. Limusa., 325-355, 377-394.
25. - Yamada, Y., Azuma, K., 1977; Evaluation of the "in vitro" Antifungal Activity of Allicin. Antimicrob. Agentes Chemoter. 11, 743.

