



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA**

**EFFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Piper acutifolium* SOBRE
LA INHIBICIÓN DE *Trichophyton rubrum* COMPARADO CON
KETOCONAZOL, ESTUDIO IN VITRO.**

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
MÉDICO CIRUJANO**

AUTORA:

Janireth Faridy Bernal Soplopucó

ASESORES:

Dr. Alvarez Baglietto, Carlos

Dr. Polo Gamboa, Jaime A.

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades Infecciosas

TRUJILLO- PERÚ

2016

PÁGINA DEL JURADO

**MG. CABRERA DIAZ FREDY
PRESIDENTE DEL JURADO**

**MG. POLO GAMBOA JAIME ABELARDO
SECRETARIA DEL JURADO**

**DR. ALVAREZ BAGLIETTO CARLOS
VOCAL DEL JURADO**

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mi **Dios**, a quien agradezco infinitamente por todo lo que tengo y lo que soy.

A mis **Padres Daniel Bernal Díaz y Yolanda Soplopucó Farro** a quienes les estaré eternamente agradecida por todo su amor, comprensión y dedicación, pues sin ustedes no hubiera sido posible este sueño.

A mis hermanas **Vactiery Bernal Soplopucó y Daniela Bernal Soplopucó** que son y serán mi alegría, mis ejemplos a seguir. Muy agradecida por todo su tiempo brindado día a día, por su amor y afecto incondicional.

JANIREH FARIDY BERNAL SOPLOPUCO

AGRADECIMIENTO

Agradecimiento especial a mi alma mater, la **Universidad Cesar Vallejo**, quien me abrió las puertas y me permitió desarrollar mi lado profesional.

A mis maestros, por su enriquecedor conocimiento y actualización continua con las diversas materias, logrando forjar destacados profesionales hacia el mercado laboral tan competitivo como el de hoy.

La profesionalidad de mi destacado Asesor **Jaime Polo Gamboa**, por su orientación crítica constructiva y apertura de conocimientos hacia nuevas generaciones.

Y a todas las personas que pusieron su conocimiento y experiencia durante el proceso y finalización de la presente investigación.

JANIRETH FARIDY BERNAL SOPLOPUCO

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, Janireth Faridy Bernal Soplopucó, estudiante de la Facultad de Ciencias Médicas, de la Escuela de Medicina de la Universidad César Vallejo, identificada con DNI 71413865; con la tesis titulada Efecto del extracto etanólico de Piper acutifolium sobre la inhibición de Trichophyton rubrum comparado con ketoconazol, estudio in vitro.

Declaro bajo juramento que:

- 1) La tesis es de mi autoría.
- 2) He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
- 3) La tesis no ha sido auto plagiado; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
- 4) Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De identificar la falta de fraude (datos falsos), plagio (información sin citar a autores), auto plagio (presentar como nuevo algún trabajo de investigación propio que ya ha sido publicado), piratería (uso ilegal de información ajena) o falsificación (representar falsamente las ideas de otros), asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 30 de Noviembre del 2016.

JANIRETH FARIDY BERNAL SOPLOPUCO

DNI 71413865

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: “EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Piper acutifolium* SOBRE LA INHIBICIÓN DE *Trichophyton rubrum* COMPARADO CON KETOCONAZOL, ESTUDIO IN VITRO”, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

La Autora

ÍNDICE

PÁGINA DEL JURADO	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	v
PRESENTACIÓN	vi
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	10
1.1 Problema	19
1.2 Justificación	19
1.3 Hipótesis	19
1.4 Objetivos	20
II. MARCO METODOLÓGICO	21
2.1. Variables	21
2.2. Operacionalización de variables	21
2.3. Metodología	22
2.4. Tipos de estudio	22
2.5. Diseño de investigación	22
2.6. Población y muestra	22
2.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	23
2.7.1. Técnica	23
2.7.2. Procedimiento	23
2.7.3. Instrumento	26
2.8. Métodos de análisis de datos	26
2.9. Aspectos éticos	27
III. RESULTADOS	28
IV. DISCUSIÓN	34
V. CONCLUSIONES	37
VI. RECOMENDACIONES	38
VII. REFERENCIAS BLIOGRÁFICAS	39
VIII. ANEXOS	44

RESUMEN

El Objetivo es evaluar el efecto del extracto etanólico de *Piper acutifolium* sobre la inhibición de *Trichophyton rubrum* y compararlo con el efecto del ketoconazol a través de un estudio in vitro. Experimental post prueba únicamente. Se utilizó el método de difusión en disco (Kirby – Bauer), para lo cual los discos se impregnaron con diferentes concentraciones del extracto etanólico (100%, 75%, 50%, 25%, 15%), y se colocaron en placas petri conteniendo cultivos de *Trichophyton rubrum*.

Los resultados del extracto etanólico del *Piper Acutifolium* al 100% han sido sensibles en el 100% de la cepas de *trichophyton rubrum*, mientras que las diluciones al 75% tuvieron sensibilidad al 42.9 %, diluciones de 50% a menos, fueron poco sensibles. El 71.4% de las cepas fueron sensibles al ketoconazol, mientras que el 28.6% fue intermedio. Se concluyó que el extracto etanólico del *Piper Acutifolium* tiene efecto anti fúngico a la concentración de 21 mg/ml, su sensibilidad disminuye al realizar diluciones. El Ketoconazol a concentración de 60ug/ml tiene efecto antifúngico con una sensibilidad al 71.4%. El extracto etanólico del *Piper Acutifolium* al 100% y el Ketoconazol tuvieron un efecto similar. La dosis mínima inhibitoria de extracto etanólico del *Piper Acutifolium* para la inhibición de *Trichophyton rubrum* fue igual o mayor a 1.26 mg/dl

Palabras claves: Extracto etanólico, *Piper acutifolium*, *Trichophyton rubrum*.

ABSTRACT

The Aim, to assess the ethanolic extract of Piper Macherium effect on the *Trichophyton rubrum* inhibition in order to compare with the ketoconazole effect, through an in vitro study. Method: Experimental post test only. It was used diffusion in disc method (Kirby-Bauer), for which the discs were impregnated with different concentrations of the ethanolic extract (100%, 75%, 50%, 25%, 15%), and then it were placed in petri dishes containig crops of trichophyton rubrum. Results, the ethanolic extract of Piper Macherium to 100% has been responsive in 100% of the strains of *Trichophyton rubrum*, while 75% dilution had sensitivity to the 42.9%, dilutions with 50% less, were insensitive. The 71.4% of the strains was sensitive to the ketoconazole. While the 28.6%, was intermediate.

Conclusion, the ethanolic extract of Piper Macherium has antifungal effect in concentration of 21 mg/ml, its sensitivity decrease when making dilutions. Ketoconazole in concentration of 60ug/ml. has antifungal effect with a sensitivity to the 71.4%. Ethanolic extract of piper macherium to 100% and ketoconazole had a similar effect. The minimum inhibitory dose of ethanolic extract of Piper Macherium for inhibition of *Trichophyton rubrum* was equal to or greater than 1.26 mg/dl.

Key words: *Piper macherium*, *Trichophyton rubrum*, ethanolic extract

I. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud ha calculado una frecuencia global de micosis superficial de 20 a 25% de la población y 5 a 10% causados por dermatofitos. El hombre puede afectarse de los animales infectados resaltando entre ellos los domésticos como perros y gatos.¹ En Latinoamérica, la distribución de las dermatofitosis según la edad del paciente es variable, en la zona de la cabeza se observa con mayor frecuencia en niños (98%) y ocasionalmente en mujeres jóvenes adultas, la frecuencia varía de 3 al 28%. La dermatofitosis corporal aparece en cualquier edad y en ambos sexos, con frecuencia de 15 a 25%. La región inguinal y de los pies predomina en varones adultos y la frecuencia es de 17 y 20 a 51%, respectivamente. Las onicomycosis se observa en 18 a 60% de las onicopatías y 30% de las dermatofitosis; predominan en varones adultos. La incidencia en los casos de SIDA varía de 15 a 40%.² En México, la dermatofitosis constituyen entre el 70 y el 80% de todas las micosis. El *Trichophyton rubrum* es el agente causal más frecuente en tiñas del cuerpo, de la ingle, de los pies, así como de onicomycosis. Los grupos más afectados son los de la tercera a la quinta década de la vida. La mayor prevalencia se presenta en las mujeres dedicadas al hogar.³

Suwanmanee S, et al⁴ (Tailandia, 2014), investigaron las propiedades antifúngicas de extractos crudos de diez especies de plantas medicinales. Extrajeron muestras de crudo mediante el proceso de extracción en agua caliente. Determinaron la concentración inhibitoria mínima (MIC) y zona de diámetro de inhibición en cada extracto contra diez cepas fúngicas, habiendo utilizado el fluconazol como control positivo. Al usar la *Piper betel L* y *piper sp*, sobre las cepas de *Trichophyton rubrum*, se halló que la concentración mínima inhibitoria promedio fue 4 mm, la zona de inhibición promedio fue 12 + 1.02 mm y el porcentaje de inhibición fue 37.5% + 1.02, concluyéndose que el *Piper sp.*, contiene un gran número de moléculas bioactivas, incluyendo los polifenoles, alcaloides, esteroides, saponinas y taninos que exhibieron citotoxicidad contra cepas fúngicas.

Nazmul M et al ⁵ (Malasia, 2013), realizaron un fraccionamiento de la planta *piper betel* usando diferentes concentraciones de metanol al 40%, 50% y 60% que fueron probadas contra 4 especies de hongos. Hallándose 12 mm de diámetro de la zona desinhibición contra el *T. rubrum*, 10 mm contra *T. mentagrophytes*, 10 mm contra *M. canis* y 9 mm en *C. albicans*. Simultáneamente realizaron una prueba de sensibilidad antifúngica (extractos de la planta original sin separación), utilizando el método de difusión en disco. Demostraron la actividad antifúngica del *Piper Sp* contra todos los hongos. El diámetro de la zona de inhibición fueron 8 mm contra *C. albicans*, 13 mm contra *M. canis*, 12 mm contra *T. mentagrophytes* y 15 mm contra *T. rubrum*.

Ortega C, et al ⁶ (Brasil, 2013), evaluaron la actividad antifúngica de extractos obtenidos de *Piper regnellii* con dióxido de carbono contra levaduras y hongos filamentosos. El extracto más activo fue obtenido de las hojas extractos de *Pipereceae* a 40° C, con una concentración inhibitoria mínima de 3,9 µg/mL contra *Trichophyton*. El eupomatenoid-3, eupomatenoid-5, 6-eupomatenoid y conocarpan estuvieron presentes en todos los extractos. Los resultados indicaron que el uso de extractos de *Piper regnellii* obtenidos por la extracción, como posibles fuentes de compuestos bioactivos para uso en medicina.

Sharma K, et al⁷ (India, 2011), evaluaron el efecto antidermatofíticos del *Piper sp*. Realizaron estudios antifúngicos in vitro contra *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans* y *Microsporum gypseum* in vitro. Utilizaron Conejillos de Indias en el caso de experimentos in vivo. Los extractos fueron encontrados entre 0.156-1.25 mg / ml. La eficacia de extracto de *Piper sp*, contra el *Trichophyton rubrum* tuvo una zona de inhibición promedio de 39.3±0.08 mm a una concentración de 10 mg/ml, una zona de inhibición promedio de 24.5±0.15 a una concentración de 2.5 mg/ml y una zona de inhibición promedio de 18.5±0.15 a una concentración de 1.25 mg/ml.

Mayumi A, et al ⁸ (Brasil, 2010), realizaron un estudio sobre la actividad antidermatofítica de los extractos y derivados de hojas de *Piper sp* a partir de su extracto, cuyo compuestos fueron probados contra el *Trichophyton rubrum*

ATCC 28189 para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC). Aplicaron una experimentación in vitro, donde se observaron que concentraciones de preparados por encima de 20 mg/ml impidieron el crecimiento de hongos, pero las concentraciones hasta 2.5 conllevaron a la inhibición en el crecimiento. Microscopía electrónica de barrido fue utilizado para confirmar los resultados de actividad del preparado in vitro. La especie *Piper sp.*, mostró gran actividad antifúngica contra *Trichophyton rubrum*, con gran potencial para el tratamiento de micosis causadas por estos microorganismos, incluyendo la onicomicosis.

Vaijayanthimala J, et al⁹ (India, 2008), evaluaron la actividad antifúngica de 23 plantas medicinales contra cinco cepas de *Trichophyton rubrum*, entre ellas el *Piper sp.* Luego de realizar cuatro aislamientos de *Trichophyton mentagrophytes* concluyeron que los extractos etanólicos de plantas mostraron más actividad de extractos de agua. Además, en el extracto etanólico la concentración mínima inhibitoria fue de 1,15 mg/ml contra *T. rubrum*, mientras que el extracto acuoso la concentración mínima inhibitoria fue de 9.3 mg/ml.

En Brasil existen muchas especies de *Piper sp.*, y algunos de los compuestos aromáticos de algunas de sus especies son usados en la medicina tradicional, especialmente por la actividad antifúngica que poseen, cuya acción son atribuidas a la presencia de flavonoides, lignanos y/o amidas, tales como epóxidos olefínicos, lactonas, butenolides, iso butilamidas y ciclohexano, demostrándose que los flavonoides aislados poseen actividad contra *Microsporum canis* así como otras variedades de *Trichophyton sp.*, con un CMI de 7 a 9 microgramos/ml), con una potencia superior al ketoconazol, en dilución agar.¹⁰ En el Perú los más afectados por las infecciones por dermatofitos pertenecen al grupo etario de 16 a 30 años (42,7%) y sexo femenino (52,1%). La dermatomicosis más frecuente es la onicomicosis (43,6%). Los agentes patógenos de mayor prevalencia son *Trichophyton rubrum* (33,2%) y la *Cándida albicans* (15,3%).¹¹

El *Piper acutifolium* o *Piper sp.*, es una planta que crece como silvestre en la costa, selva alta y baja y en los valles interandinos de la sierra Perú, siendo aprovechado por menos del 5% de la población, por desconocimiento de sus propiedades medicinales o simplemente, falta de costumbre o por no tener confianza en la planta natural y tener preferencia por los productos ya elaborados naturales o sintéticos, entre las propiedades medicinales se incluye: anti ulceroso estomacal, antiinflamatorio, antihemorroidal, astringente, hemostático (uso local, lavados), entre otros. Esta idiosincrasia popular ha orientado a pequeños inversionistas y científicos a preparar productos a base de esta planta, como su aplicación en jabones antisépticos de matico.¹¹

El *Piper acutifolium* o *Piper sp.*, es un arbusto cultivado y silvestre de la familia de la pimienta (Piperáceas), género: *Piper*, especie: *acutifolium*. Crece como silvestre en muchos lugares del Perú, comprende especies leñosas y herbáceas de las regiones tropicales. El género *Piper* comprende cerca de 700 especies, entre éstas, son importantes aquellas de las que se obtiene la pimienta: *Piper nigrum* (pimienta negra), *Piper officinarum*, *Piper longum*, *Piper cubeba*. En particular, la pimienta negra es el fruto completo, mientras que la pimienta blanca se obtiene al quitar el pericarpo. En el Perú el género *Piper* está representado por 210 especies, 2 subespecies, y 33 variedades. Esta planta es oriunda del departamento de Amazonas, entre los 1 500 – 2 000 msnm, en los bosques nublados. Cabe mencionar la distribución de una especie parecida a la estudiada, la *Piper angustifolium*, que se desarrolla entre 0 a 3 000 msnm y se halla en los departamentos de Amazonas, Piura, Lambayeque, Cajamarca, San Martín, Loreto, Huánuco, Ucayali, Cerro de Pasco, Lima, Junín, Cuzco, Madre de Dios, Ayacucho.¹²

La especie *Piper sp.*, solo es aprovechada por menos del 5% de la población. Se le conoce también con el nombre de “cordoncillo” y “hierba del soldado” y en idioma shipibo-conibo, se le conoce como “potoima rao”. En este idioma, significa remedio para el empacho. Las hojas de la planta son alternas, ovaladas con el ápice terminal en punta. Otros nombres comunes son: Matico, cordoncillo. Hierba del soldado, oreja de abad, Mata matico, Matecllu.¹³ La

especie *Piper acutifolium* tiene diversos usos; en la era preincaica, se usó como hemostático (ramas) y antiinflamatorio (hojas). En Cerro de Pasco, las hojas se usan para cicatrizar heridas externas. Además el cocimiento de las hojas (10 g/L), se aplica en la parte afectada, y también se usa para afecciones urinarias.¹⁴

Referente a la composición química, en el género *Piper* se han aislado de los siguientes grupos de compuestos: alcaloides, amidas, propenilfenoles, lignanos, neolignanos, terpenos, esteroides, kawapironas, piperolidos, chalconas, hidrochalconas, flavonas, flavonones y otros compuestos (alcanos, alcoholes, ácidos, ésteres, y ciclohexanos oxigenados). En especies de *Piper* como la *P. tuberculatum*, *P. hispidum* y *P. arboreum*, han sido aisladas las amidas *piperamina*, *piplartina*, *piperina*, *5,6-hidropiperlonguminina*, *arboreumina*, *fagaramida*, entre otras y en *P. crassinervium*, fueron aisladas varias flavononas e hidroquinonas, todas ellas con actividad antidermatofítica. También se obtuvo del extracto crudo de la hoja de la *piper sp*, las neolignananas eupomatenoide-3 y eupomatenoide-5 que mostraron una fuerte actividad sobre *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *M. canis* y *M. gypseum*. Estudios químicos realizados en especies de la familia *Piperaceae* han revelado la presencia de diversos productos naturales fisiológicamente activos tales como alcaloides, amidas, pironas, dihidrochalconas, flavonoides, fenilpropanoides, lignanos y neolignanos. Varias amidas isobutílicas, pirrolidina, dihidroxipiridona y piperidina han sido determinadas. Estas amidas han generado interés debido a sus potentes propiedades insecticidas y antidermatofítica.¹⁴ En el Perú no existen datos disponibles acerca de experimentos que evalúen la eficacia del *Piper acutifolium* en el tratamiento de la dermatomicosis ocasionada por el *Trichophyton rubrum*. Tampoco se halló estudios a nivel regional y local.

Según Food and Drug Administration (FDA), el ketoconazol debe ser aplicado para el tratamiento de ciertas infecciones fúngicas, comúnmente conocidos como micosis endémicas, es decir, sólo cuando las terapias antifúngicas alternativas no están disponibles o son toleradas. Por tanto, concluye que la

medicina alternativa es una buena posibilidad terapéutica, por tener aparentemente menos efectos secundarios.¹⁵

Por otro lado, el ketoconazol es un fármaco antifúngico de la familia de los imidazoles, activo por vía oral. Dentro del grupo de los imidazoles, entre los que se encuentran el clotrimazol, fluconazol, itraconazol e imidazol.¹⁶ El mecanismo de acción es similar a otros antidermatofíticos imidazólicos, altera la síntesis de la membrana celular de los dermatofitos, inhibe la síntesis de ergosterol al interaccionar con la 14-alfa-desmetilasa, una enzima del citocromo P-450, necesaria para la conversión del lanosterol al ergosterol, un componente esencial de la membrana del dermatofito, produciendo una inestabilidad, aumentando la permeabilidad celular y fugas del contenido de las células. Este fármaco en el ser humano no afecta la síntesis del colesterol. Otros mecanismos de acción incluyen la inhibición de la respiración endógena, la interacción con los fosfolípidos de la membrana e inhibición de la transformación de los dermatofitos en micelas. Además, inhibe la síntesis de los esteroides, incluyendo la aldosterona, cortisol y testosterona. En dosis de 200 a 400 mg/día, inhibe la secreción de testosterona y en dosis de 400 a 600 mg/día las del cortisol. Ha sido utilizado para tratar el cáncer de próstata avanzado, es un potente inhibidor de la síntesis del tromboxano y previene el síndrome del estrés respiratorio en el adulto.¹⁷

En la farmacocinética por vía oral, este fármaco se disuelve en las secreciones gástricas pasando a clorhidrato antes de absorberse rápidamente en el estómago. Su biodisponibilidad depende del pH gástrico, siendo necesario un medio ácido para su absorción. Con las comidas favorece su absorción, por aumento de las secreciones biliares, a un retraso en el vaciado del estómago, o un aumento de su solubilización. Administrado tópicamente, no experimenta ninguna absorción sistémica. La administración intravaginal de ketoconazol en dosis de 400 mg en un supositorio ocasiona niveles plasmáticos de 0 a 0.27 ng/ml. La aplicación tópica en gel en dosis de hasta 80 mg de ketoconazol kg/día en ratones no mostró ninguna evidencia de efectos oncogénicos dérmicos o sistémicos. El gel de este fármaco a una dosis de hasta 5 mg/kg no

es fotocarcinogénico cuando se aplica tópicamente a ratones cinco días por semana durante un período de 40 semanas.¹⁸

El ketoconazol es utilizado para el tratamiento de: *Actinomadura madurae*; *Actinomadura sp.*; *Aspergillus flavus*; *Aspergillus fumigatus*; *Blastomyces dermatitidis*; *Candida albicans*; *Candida glabrata*; *Candida parapsilosis*; *Candida tropicalis*; *Coccidioides immitis*; *Epidermophyton floccosum*; *Histoplasma capsulatum*; *Malassezia furfur*; *Microsporum audouinii*; *Microsporum canis*; *Microsporum gypseum*; *Paracoccidioides brasiliensis*; *Petrellidium boydii*; *Phialophora sp.*; *Trichophyton mentagrophytes*; *Trichophyton rubrum*; *Trichophyton tonsurans*.¹⁹

La administración tópica en adultos y niños debe cubrir el área afectada y sus alrededores con suficiente crema de ketoconazol al 2% dos veces al día, por dos semanas. Se han observado efectos teratogénicos en los animales de laboratorio utilizando dosis de 10 veces superiores a las dosis humanas, es por ello que no debe indicarse antifúngicos imidazólicos durante el embarazo. Sólo cuando el beneficio de la madre sea superior al riesgo del feto, es por ello que se recomienda el uso de contraceptivos en todas las mujeres susceptibles de puedan quedar embarazadas durante el tratamiento con ketoconazol. Se deberá tener en cuenta que este fármaco se excreta en la leche materna y puede ocasionar ictericia en el lactante, es probable que genere sensibilidad cruzada con el itraconazol, fluconazol, clotrimazol y miconazol. En algunas ocasiones, los pacientes tratados han desarrollado reacciones alérgicas y anafilaxis.²⁰

La Dermatofitosis, es la infección producida por hongos dermatofitos que afecta a los tejidos queratinizados: piel y uñas. Aunque se han aislado más de 20 especies diferentes de dermatofitos a partir de pelo y piel de mascotas, son tres los géneros más patógenos en las especies canina y felina: *Microsporum*, *Epidermophyton* y *Tricophyton*. Ellos, se clasifican en función de su hábitat natural en: Antropofílicos que afectan principalmente al hombre, pero son capaces de infectar también a animales: *Microsporum audouinii*,

Epidermophyton spp. Los zoofílicos son patógenos de especies animales aunque ocasionalmente afectan al hombre como el *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. equinum*. Y los geofílicos que viven en el suelo y que ocasionalmente infectan al hombre y otras especies animales: *Microsporum gypseum*. Las especies que producen con mayor frecuencia la infección en los animales domésticos son *Microsporum canis*, *Trichophyton spp* y *Microsporum gypseum*. Las dos primeras especies son capaces de infectar también a la especie humana. Las dermatofitosis más frecuentemente diagnosticadas en el perro y en el gato son las producidas por *M. canis*.²¹

El *Trichophyton rubrum* es un hongo dermatofito, moniliáceo, hialino, con estructuras de fructificación, que infecta a tejidos queratinizados como uñas, pelo y estrato córneo de la piel. Se pueden identificar por sus características nutricionales, fisiológicas o morfológicas. Microscópicamente, se observan microconidias, unidas en ángulo recto y alterno a la hifa y macroconidias fusiformes que pueden estar presentes en el cultivo. Mientras que macroscópicamente, las colonias son de color blanco algodonoso, consistencia dura y presentan pigmento rojo vino que se difunde en el medio del cultivo, el cual es visualizado en el reverso de la colonia.²²

Existen medios de cultivo comerciales como el Agar Sabouraud Dextrosa (ASD), Agar Mycosel y Agar Papa Dextrosa (APDc), que permiten el aislamiento primario o tipificación del hongo. Es importante mencionar que otro agente etiológico causante de micosis superficial, es el *T. mentagrophytes* que presenta macroscópicamente en el reverso de la colonia pigmentaciones pardas rojizas o rojo vino, que son semejantes a las que se observa en *T. rubrum*; las cepas vellosas de *T. metagrophytes* variedad interdigitale, microscópicamente presentan conidias en forma de lágrimas muy parecidas a *T. rubrum*. La diferenciación de ellos se realiza mediante pruebas morfológicas y fisiológicas como la penetración del pelo in vitro, reducción de la urea, asimilación de aminoácidos y producción de pigmentos, que demandan mayor costo a los laboratorios. Una alternativa de identificación precoz del *T. rubrum*, es el empleo de cultivos cuya composición incluye extractos de papa donde el

T. rubrum produce pigmento rojo vinoso, en cambio el *T. metagrophytes* no lo produce.²³

El medio utilizado universalmente para cultivos de dermatofitos es el agar de Sabouraud, cuya composición es la peptona, la glucosa, el agar y el agua, con un pH ácido de 5,5, aproximadamente. Y para evitar la contaminación por bacterias de la flora normal, el medio incluye un antibiótico y se agrega cicloheximida, un antifúngico inhibidor de numerosos hongos contaminantes, aunque también puede inhibir especies de levaduras y mohos oportunistas. Entre los medios de aislamiento más usados se halla el Dermatophytes test médium (DTM), útil para observar el desarrollo de la mayoría de dermatofitos que, al crecer, alcalinizan el medio y ocasionan un viraje de color amarillo a rojo. El viraje puede estar ocasionado por otros microorganismos contaminantes. En los cultivos hay que tener presente que, si bien los dermatofitos crecen rápidamente en 24-48 h, tienen un desarrollo lento y raramente se observan colonias antes de los 4-5 días, por lo que hay que esperar hasta 3-4 semanas para algunas especies como *T. verrucosum* o *T. violaceum*.²⁴

Efecto Antidermatofítico.- Es el resultado una acción con el fin de eliminar dermatofitos que incluye una diversidad de especies de los géneros *Microsporum* y *Trichophyton*.²² El *Trichophyton rubrum* es un hongo dermatofito, moniliáceo, hialino, con estructuras de fructificación, que infecta a tejidos queratinizados como uñas, pelo y estrato córneo de la piel.²² Extracto etanólico.- Producto obtenido a partir de materia prima desecada de origen vegetal, por maceración o percolación en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico.²⁵ *Piper acutifolium*.- Arbusto cultivado y silvestre de la familia de las Piperáceas, se usa como hemostático y antiinflamatorio. Las hojas se usan para cicatrizar heridas externas y también se usa para afecciones urinarias.¹³ Ketoconazol.- Es un fármaco antifúngico de la familia de los imidazoles, activo por vía oral. Pertenece al grupo de los imidazoles.¹⁶ Estudio in vitro.- Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.²⁰

Inhibición del crecimiento.- Es la interferencia del crecimiento y la Supervivencia de los microorganismos mediante una interacción específica (toxicidad selectiva) con algunos de sus componentes celulares.²⁵

1.1 Problema

¿Cuál es el efecto in vitro del extracto etanólico de *Piper acutifolium* sobre la inhibición del crecimiento de *Trichophyton rubrum*, comparado con el ketoconazol?

1.2 Justificación

El tratamiento de dermatofitos con extractos de plantas es un campo poco estudiado en nuestra Región La Libertad, a pesar de la evidencia del conocimiento de las propiedades de las plantas y sus múltiples usos. La importancia de esta investigación va encaminada a la búsqueda de nuevos preparados de productos biológicos, en este caso derivado del *Piper acutifolium*, que puedan generar un menor costo y lo que es más importante es que tienen un menor efecto agresivo o tóxico que ocasionan los productos químicos. La búsqueda de tratamientos antidermatofíticos alternativos, como el uso del extracto etanólico del *Piper acutifolium*, permitirá evaluar su actividad contra una de las patologías dérmicas más comunes transmitidas por animales como el *Microsporum canis*, que beneficiará a futuro no solo a pacientes, también a productores y comercializadores de este tipo de plantas cuyo cultivo se haya distribuido en muchas regiones del país.

1.3 Hipótesis

H1: El *Piper acutifolium* tiene igual o mayor efecto in vitro sobre la inhibición del crecimiento de *Trichophyton rubrum*, comparado con el Ketoconazol.

H0: El *Piper acutifolium* tiene menor efecto in vitro sobre la inhibición del crecimiento de *Trichophyton rubrum*, comparado con el Ketoconazol.

1.4 Objetivos

1.4.1. General

Determinar el efecto in vitro del extracto etanólico de *Piper acutifolium* sobre la inhibición del crecimiento de *Trichophyton rubrum*, comparado con el ketoconazol.

1.4.2. Específicos

1. Evaluar el efecto in vitro del extracto etanólico del *Piper acutifolium* sobre la inhibición del crecimiento de *Trichophyton rubrum*.
2. Evaluar el efecto in vitro del ketoconazol sobre la inhibición del crecimiento de *Trichophyton rubrum*.
3. Comparar el efecto de ambos productos.
4. Establecer la dosis mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Piper acutifolium* sobre la inhibición del crecimiento de *Trichophyton rubrum*.

II. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Variables

Identificación de la variable

Variable Independiente: V.I: Extracto etanólico de *Piper acutifolium* – Tipo cualitativa.

Variable Dependiente: V.D: Inhibición del crecimiento fúngico – Tipo cualitativa.

2.2. Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
VI. Extracto etanólico de <i>Piper acutifolium</i> .	Obtenido a partir de hojas desecadas por método de Soxhlet en contacto con etanol, hasta agotamiento de la droga. ²⁶	Se usó el extracto etanólico con una concentración de 21 mg/ml. ⁸ Hasta 4 diluciones	100% 75% 50% 25% 15%	Cuantitativa Discreta
VD. Inhibición del crecimiento fúngico	Es la interferencia del crecimiento y la Supervivencia de los microorganismos mediante una interacción específica (toxicidad selectiva) con alguno de sus componentes celulares. ²⁵	Medición del diámetro del halo de inhibición del crecimiento fúngico, mediante la prueba de difusión en disco de Kirby-Bauer, considerando los criterios del estándar M51-S1 del CLSI. Observación del crecimiento micótico, mediante la prueba de macrodilución, considerando los criterios del estándar M27-A3 del CLSI.	Sensible >=17mm Intermedio 16-13mm Resistente <=12 CIM >=1.26mg/dl	Cualitativa Ordinal Cuantitativa Continua

2.3. Metodología

Para el presente estudio se utilizó el método científico cuantitativo de alcance explicativo.

2.4. Tipos de estudio

La investigación realizada fue de tipo básica.

2.5. Diseño de investigación

El desarrollo del trabajo tuvo un diseño experimental con post prueba únicamente.

G1: $X_1 — O_1$

G2: $X_2 — O_2$

G3: $X_3 — O_3$

G4: $X_4 — O_4$

G5: $X_5 — O_5$

G6: $X_6 — O_6$

En donde:

G1-6: Grupos de *Trichophyton rubrum* (colonias)

X₁₋₅: Extracto etanólico de *Piper acutifolium* (100%, 75%, 50%, 25% y 15%)

X₆: Ketoconazol

O₁₋₆: Crecimiento fúngico

2.6. Población y muestra

Población: Colonias de *Trichophyton rubrum*. La cepa fue obtenida del Instituto de Medicina tropical e Infectología de la Universidad Nacional de Trujillo.

Muestra: La muestra estuvo constituida por 42 placas petri, 7 repeticiones para cada concentración, la cual fue calculada por la fórmula para determinar el tamaño de muestra requerido para probar la media (Anexo N° 1)

Unidad de análisis: Cada una de las colonias de *Trichophyton rubrum*.

Tamaño de la muestra:

Unidad muestral: Cada placa Petri con cultivo de *Trichophyton rubrum*.

Criterios de inclusión: Cultivos de *Trichophyton rubrum* de la misma cepa.

Criterios de exclusión: Placa contaminada con otros hongos o dermatofitos.

2.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

2.7.1. Técnica

Se aplicó la experimentación para evaluar la susceptibilidad microbiana, para lo cual se utilizó la técnica de difusión en agar de Kirby-Bauer modificada con hoyos.

2.7.2. Procedimiento

Identificación de la especie vegetal:

La identificación de la especie botánica se realizó en el *Herbarium Truxillense* (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo y depositadas con el código 58305. (Anexo N°04)

Preparación de la muestra:

a. Recolección de la Materia Prima.

Las hojas frescas de *Piper acutifolium* se recolectaron en la Provincia de Cajabamba, Departamento Cajamarca 07°09'56" Latitud sur - 78°27'07" Longitud oeste, a una altitud de 3 000 m.s.n.m; en el mes de Diciembre del 2015.

b. Selección de la Materia Prima:

En esta etapa se descartó parte de la muestra que no tiene las condiciones necesarias para su utilización, se eliminó las hojas secas, marchitas, que estén cubiertas por hongos, además de materias extrañas como tallos, raíces, etc.²⁷ (Anexo N°05)

c. Lavado y desinfección:

Las hojas recolectadas se lavaron con agua a chorro y luego se enjuagaron en agua destilada para posteriormente poder realizar la operación de secado.²⁷ (Anexo N°05)

d. Secado de la muestra:

Las hojas una vez lavadas se secaron a temperatura ambiente sobre papel Kraft. Posteriormente se colocaron en la estufa, en bolsas de papel

Kraft agujereadas, a una temperatura de 40 °C por 24 horas.²⁷ (Anexo N°05)

e. Molienda y Tamizado:

La muestra seca fue molida utilizando un mortero de porcelana, luego se tamizó mediante un tamiz N° 18 para obtener partículas de tamaño uniforme, las cuales se almacenaron en frascos de vidrio previamente forrados con papel aluminio , quedando aptas para la siguiente etapa del procedimiento.²⁷ (Anexo N°06)

Obtención del Extracto Etanólico de *Piper acutifolium*.

10g del polvo de hoja de *Piper acutifolium* serán mezclados con cantidad suficiente de arena lavada y tratada, extrayéndose los principios activos con 200ml de alcohol etílico de 96°GL, mediante el método Soxhlet, hasta agotamiento de la droga, el extracto etanólico obtenido se llevó a evaporación en Baño María a 50°C hasta un volumen de 100ml, de esta última solución se transfirió 10 ml a una placa Petri y se llevó a la sequedad en una estufa a 50°C hasta obtener el extracto seco.²⁶ (Anexo N°06)

Preparación de las diluciones del extracto etanólico de hojas de *Piper acutifolium*

A partir de los 100 ml del extracto etanólico, se tomó como patrón una concentración del extracto etanólico de *Piper acutifolium* de 21 mg/ml, se prepararan diluciones al 75%,50%, 25% y 15%, estandarizando como volumen final 10 ml. (Anexo N°07)

%	Concentración (mg/m)
100	21
75	15.75
50	10.5
25	5.25
15	3.15

• Preparación del inóculo:

Al cultivo se agregó 20 ml de NaCl 0.9%, se esperó 20 minutos y posterior a ello se retiró la colonia completa y se colocó en un matraz estéril, luego

se procedió a agitar fuertemente con la intención de desprender las esporas.

Se decantó en un balón estéril de 100ml y se realizó el recuento de esporas a través de la cámara de Neubauer en microscopio a 40x de aumento, se hizo el conteo considerando la cuadrícula 0.0025mm^2 . En el recuento se obtuvo 2500 esporas por ml de solución. (Anexo N°07)

- Siembra de las placas con Agar Sabouraud:

En un matraz se agregó 200ml de agua destilada y 13g de agar Sabouraud. Se llevó a la hornilla hasta ebullición por 2 minutos y se llevó a esterilizar en autoclave por 15 minutos a 121°C ; luego de ello, se procedió a servir en placas petri, 20 ml aproximadamente por placa.

Mediante una micro pipeta se tomó 100ul del inóculo y se procedió al sembrado en placas de agar Sabouraud, se extendió el inóculo uniformemente sobre la superficie del medio de cultivo con la ayuda de una asa de Drigalsky. (Anexo N°07)

- Preparación de discos de sensibilidad con extracto de *Piper acutifolium*.

Se utilizó papel filtro n°1 de whatman, el cual fue perforado y posteriormente esterilizado al horno por 30 minutos a 180°C . De cada dilución de extracto etanólico se tomó, con una micropipeta, 5 uL, esta cantidad fue inoculada a cada disco de sensibilidad.

Preparación del antibiótico: Se utilizó 1 tableta de 200mg de ketoconazol, la cual se pulverizó y se halló 258 mg por cada 10 ml de NaCl 0.9%. Para que queda a una concentración de 6 mg/dl. (Anexo N°08)

- Confrontación de los discos preparados con dermatofito.

Con una pinza estéril se colocó los discos preparados sobre la superficie de las placas con agar Sabouraud recién sembradas, según el método de Kirby-Bauer. (Anexo N°09)

- Lectura de halos de inhibición :
Las placas se incubaron a temperatura ambiente (25°C aproximadamente), por 48 hrs, al cabo de los cuales se midió el diámetro del halo con una regla de vernier. (Anexo N°09)
- Concentración mínima inhibitoria:
Se preparó 100ml de caldo de cultivo Sabouraud, al cual se le agregó 100ul de TWIN 80.
Luego se procedió a servir en 11 tubos de ensayo de 13x100mm, 2ml de medio de cultivo en cada tubo.

Se procedió a enumerar los tubos del 1 al 11. Al tubo n°1 se agregó 480mg/ml del extracto etanólico del piper acutifolium al 100%, al tubo n°2 se agregó el 50% que es 240mg/ml; y así sucesivamente hasta llegar a una concentración de 0.9375 mg/ml en el tubo n°11. Posteriormente a cada uno de los tubos se le adiciono 10ul/ml del inoculo con esporas de T.Rubrum que contenían 2400 esporas/ml aproximadamente según recuento en cámara Neubauer .Luego se llevó a incubar a 30°C por 72 hrs. (ANEXO N°10)

2.7.3. Instrumento

El instrumento de referencia que se utilizó para la medición de los halos de inhibición del crecimiento fúngico fue el estándar M51-S1 del CLSI y para la medición de la Concentración inhibitoria mínima fue el estándar M27-A3 del CLSI. (Anexo 02 y 03)

2.8. Métodos de análisis de datos

Análisis descriptivo

El grafico que se utilizó fue el Diagrama de cajas, para comparar la efectividad del extracto a distintas diluciones y el ketoconazol. La prueba estadística que se consideró fue el análisis de varianza (F de Fisher, que evaluó la diferencia del efecto medio por dilución). La prueba Tukey y Duncan, permitió determinar cuál es la dilución que tuvo o que presentó mayor tamaño de halo de

inhibición. Se utilizó como software, Epimedec 4.1 para la selección de la muestra y SPSS para determinar la efectividad de las diluciones. (Anexo N° 11 y 12)

2.9. Aspectos éticos

Para la presente investigación se consideraron los criterios del reglamento de ensayos clínicos elaborado para investigaciones experimentales. En el cual se tomará en cuenta que los resultados se ajustaran a la verdad y beneficios obtenidos serán difundidos a la comunidad científica.²⁸

Se tomó en cuenta las medidas de bioseguridad para el personal que obtiene y manipula muestras biológicas para el diagnóstico por el laboratorio, debido a que está expuesto directamente a los agentes causales de la enfermedad (virus, bacterias, hongos, etc.), por lo que el riesgo de contaminación es de tomar en consideración. Se tomará en cuenta que cuando se obtiene una muestra se debe considerar: la protección al personal que obtiene la muestra, protección de la muestra obtenida y la protección del ambiente, sobre todo si el agente produce una afección que es transmitida y adquirida por las vías respiratorias.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Efecto del extracto etanólico del *Piper acutifolium* sobre la inhibición en *Trichophyton rubrum* según diluciones

EFECTO	100		75		50		25		15	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
RESISTENTE	0	0	0	0	0	0	1	14.3	5	71.4
INTERMEDIO	0	0	4	57.1	5	71.4	6	85.7	0	0
SENSIBLE	7	100	3	42.9	2	28.6	0	0	2	28.6

Fuente: Elaborada por el investigador

Como se observa en la concentración al 100% del extracto ha sido sensible en el 100% de la cepas (7). Mientras que al 75% de concentración solo 42.9 %(3). De la concentración de 50% a menos, no superaron al 30%. (Anexo 13)

Tabla 2. Efecto del ketoconazol sobre la inhibición en *Trichophyton rubrum*

EFECTO	KETOCONAZOL	
	N	%
RESISTENTE	0	0
INTERMEDIO	2	28.6
SENSIBLE	5	71.4

Fuente: Elaborada por el investigador

*El 71.4% de las cepas fue sensible al ketoconazol. Mientras que el 28.6% fue intermedio (Anexo 14)

Tabla 3. Comparación del efecto de extracto etanólico del *Piper acutifolium* y ketoconazol sobre la inhibición en *Trichophyton rubrum*, según el ANOVA

HALO	ANOVA				
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	317.5	5	63.5	11.8	.000
Dentro de grupos	192.9	36	5.4		
Total	510.4	41			

Fuente: Elaborada por el investigador

Como se observa el valor de P (significancia) es menor de 0.05, por consiguiente hay diferencia significativa entre las concentraciones T Rubrum y Ketoconazol. Para determinar el mejor efecto hacemos las comparaciones múltiples de Tukey.

Tabla 4. Comparación del efecto de extracto etanólico del *Piper acutifolium* y ketoconazol sobre la inhibición de *Trichophyton rubrum* según la prueba de Tukey

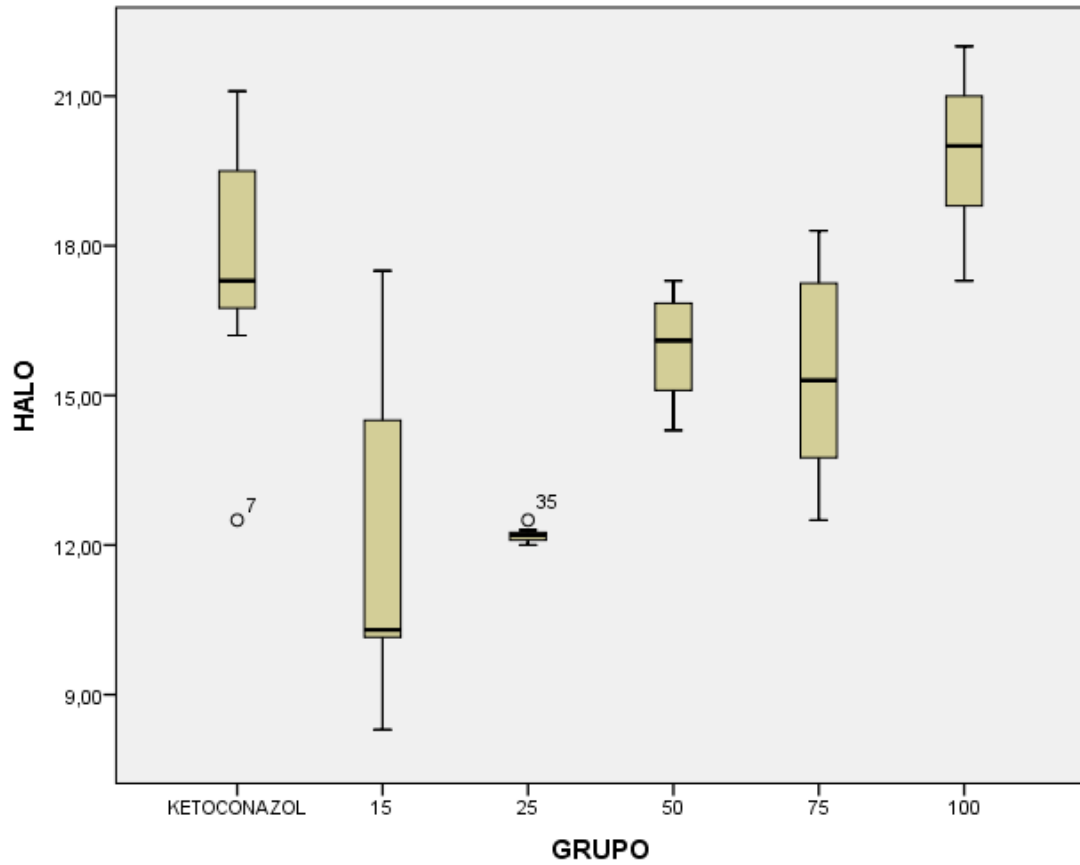
HALO				
HSD Tukey ^a				
GRUPO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
15,00	7	12.2		
25,00	7	12.2		
75,00	7	15.4	15.4	
50,00	7		15.9	
KETOCONAZOL	7		17.6	17.6
100,00	7			19.8
Sig.		0.118	0.499	0.485

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

Fuente: Elaborada por el investigador.

Al comparar el efecto, es el mismo en los tres grupos. Sin embargo, el tercer grupo es el que predomina.

Figura 1. Comparación del efecto de extracto etanólico del *Piper acutifolium* y ketoconazol sobre la inhibición de *Trichophyton rubrum*



Fuente: Elaborada por el investigador

Tabla 5. Dosis mínima inhibitoria extracto etanólico de *Piper acutifolium* sobre la inhibición de *Trichophyton rubrum*.

CONTROL Y DILUCIONES	Tubos de ensayo	72 HORAS	mg/ml
100% CONCENTRADO	1	-	10.08
	2	-	5.04
	3	-	2.52
	4	-	1.26
	5	+	0.63
	6	+	0.315
	7	+	0.1575
	8	+	0.07875
	9	+	0.03938
	10	+	0.01969
	11	+	0.00984

Fuente: Elaborada por el investigador

Se determinó que la concentración mínima inhibitoria es ≥ 1.26 mg/dl

IV. DISCUSIÓN

El presente estudio buscó conocer el efecto del extracto etanólico del *Piper acutifolium* o sobre la inhibición en *Trichophyton rubrum*, así como comparar dicho efecto con el Ketoconazol en una investigación in vitro.

Tras un proceso que se inició con la selección de las hojas del *Piper acutifolium*, el lavado y posterior secado por 24 horas, se procedió a su trituración para luego obtener dicho extracto etanólico mediante el método Soxhlet. Se tomó como patrón una concentración del extracto etanólico de *Piper acutifolium* de 21 mg/dl, se prepararan diluciones al 75%, 50%, 25% y 15%, para posteriormente aplicarlo en las cajas Petri.

El determinar el efecto del extracto etanólico del *Piper acutifolium* según las diluciones. (Tabla 1), se tuvo el siguiente resultado: Como se observa en la concentración al 100% del extracto, considerándose una dosis de 21 mg/dl, las cepas de *T. Rubrum* fueron sensibles en su totalidad en las 7 cajas Petri. Mientras que el extracto etanólico al 75% de concentración menos de la mitad de los cultivos mostraron sensibilidad (42.9 % de sensibilidad, correspondiendo a tres cajas Petri). Para el presente extracto, se consideró como sensible cuando el halo de inhibición fue igual o superior a 17 mm. En las concentraciones del extracto etanólico al 50%, 25% y 15%, éstas tuvieron una sensibilidad menor al 30%.

Resultados similares al presente estudio, fue descrita en una investigación previa realizada hace seis años por Mayumi A, et al⁸ en Brasil, quienes hallaron que los extractos y derivados de hojas de *Piper* sp, cuyo preparado con dosis por encima de 20 mg/dl mostraron una sensibilidad al 100% in vitro, impidiendo el crecimiento de *Trichophyton rubrum* ATCC 28189. Es decir concentraciones menores a una dosis de 20 mg/dl del extracto etanolico, la sensibilidad se verá afectada.

Estos resultados indican que a la dosis de 21 mg/dl y con una concentración al 100% del extracto etanólico, mencionado anteriormente se obtendría un

efecto deseado por la presencia de cantidades suficientes de alcaloides, dihidrochalconas, flavonoides, fenilpropanoides, lignanos y neolignanos, incluyendo amidas isobutílicas, pirrolidina, dihidroxipiridona y piperidina que tienen potentes propiedades antidermatofítica.¹³

En cuanto al Ketoconazol, (Tabla 2), producto farmacéutico, se utilizó una tableta de 200mg, la cual se pulverizó y tras diluir 258 mg por cada 10 ml de NaCl 0.9%, se obtuvo una concentración de 6mg/dl. Este producto fue colocado en 7 placas Petri, alcanzando una sensibilidad al 71.4%, es decir en cinco de siete placas se obtuvo halos inhibitorios iguales o mayores a 17 mm. Es importante señalar que no se halló resistencia para el trichophyton Rubrum. El efecto es óptimo, sin embargo tal vez incrementando la concentración, se podría obtener un mejor efecto antidermatofítico con una sensibilidad que llegue al 100%. Los azoles, que son compuestos activos del Ketoconazol, inhiben a la citocromo P-450-3-A de la célula fúngica, inactivando la enzima C-14-a-dimetilasa, interrumpiendo la síntesis del ergosterol en la membrana celular, comenzando a acumular esteroides tóxicos intermedios, aumentando la permeabilidad de la membrana, e interrumpiendo el crecimiento del hongo.²⁹

Al comparar el efecto de ambos productos (Tabla 3). Se observa que hay diferencias del diámetro inhibitorio entre las diversas concentraciones del extracto etanólico de *Piper acutifolium* y el Ketoconazol. Se aprecia que el efecto sobre los promedios del halo inhibitorio que se tuvo con el Ketoconazol estadísticamente es similar con la concentración al 100% del Extracto etanólico de *Piper acutifolium*, al hallarse una $p=0.485$; por otro lado las concentraciones del 50% y 75% del extracto etanólico de *Piper acutifolium*, tienen similitud estadística con el Ketoconazol, en cuanto al promedio del halo inhibitorio con una $p=0.499$. Sin embargo la concentración al 15% del extracto etanólico no tiene el mismo efecto con las demás concentraciones.

Es evidente que concentraciones menores al 100%, no siempre se logra el efecto esperado, uno de los estudios que mostró la misma tendencia fue el de

Nazmul M et al ⁵ en Malasia, quienes encontraron que la fracción del compuesto alcohólico al 50% mostraron una zona de halo inhibitorio de 13 mm de diámetro (6 mm mayor que la zona de inhibición de la fracción de 40% y 3 mm menos que la zona de inhibición producida por el extracto original que fue al 100%). Como se mencionó anteriormente las diluciones o concentraciones menores, se corre el riesgo de obtener el resultado esperado.

La dosis mínima inhibitoria del extracto etanólico del *Piper acutifolium* sobre la inhibición de *Trichophyton rubrum*, hallado en el presente estudio fue de 1.26 mg/dl. Un resultado parecido fue descrito por Sharma K, et al¹⁰ en la India, quienes evaluaron el efecto antidermatofíticos del *Piper* sp, como antifúngico in vitro contra el *Trichophyton rubrum*, para lo cual utilizaron extractos entre 0.156-1.25 mg / dl. La eficacia de extracto de *Piper* sp, contra el *Trichophyton rubrum* tuvo una zona de inhibición promedio de 18.5 ± 0.15 a una concentración mínima inhibitoria de 1.25 mg/ml. Otro estudio con resultado parecido fue el de Vaijyanthimala J, et al ⁹ en la India, quienes evaluaron la actividad antifúngica del extracto etanólicos del *Piper* sp. Donde la concentración mínima inhibitoria fue de 1,15 mg/dl contra *T. rubrum*, mientras que el extracto acuoso la concentración mínima inhibitoria fue de 9.3 mg/dl.

Con lo anteriormente descrito se puede deducir que los extractos etanolicos tienen un mejor efecto que el extracto acuoso y que se requieren menores cantidades del principio activo para obtener un efecto antifúngico. Es necesario recordar que la concentración mínima inhibitoria, es la concentración más baja que posee un antimicrobiano para paralizar el crecimiento del microorganismo post incubación, lo cual nos indica la resistencia de microorganismos en dosis o concentraciones menores.

V. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico del *Piper acutifolium* tiene efecto anti fúngico a la concentración de 21 mg/dl, con una sensibilidad al 100%, la cual disminuye al realizar diluciones.
2. El Ketoconazol a una concentración de 6mg/dl. tiene efecto antifúngico con una sensibilidad al 71.4%.
3. El extracto etanólico del *Piper acutifolium* a una concentración de 21 mg/dl y el Ketoconazol a una concentración de 6 mg/dl, tienen estadísticamente un efecto similar.
4. La dosis mínima inhibitoria extracto etanólico del *Piper acutifolium* sobre la inhibición de *Trichophyton rubrum* fue igual o mayor a 1.26 mg/dl.

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar mediante un estudio de costo beneficio, la posibilidad de producción a mayor escala para su industrialización del extracto alcohólico del *Piper Acutifolium*.
- Difundir a la comunidad científica los resultados de la presente investigación con la finalidad de considerarlo en la medicina alternativa, como una opción dentro del tratamiento tópico de la dermatofitosis

VII. REFERENCIAS BLIOGRÁFICAS

1. Sánchez I, Matos R, Kumakawa H. Infecciones micóticas superficiales. *Dermatología peruana* 2009, 19(3): 226-66. DISPONIBLE EN URL: http://rpe.epiredperu.net/rpe_ediciones/2011_V15_N01/11CC_Vol15_No1_2011_Dermatofitosis.pdf
2. Hernández A, Carbajal P, Fernández R, Arenas R. Dermatofitosis por *Trichophyton rubrum*. Experiencia de 10 años (1996-2005) en un servicio de dermatología de un hospital general de la Ciudad de México. *Rev Iberoam Micol* 2007; 24: 122-124 (Citado 2 de Abril del 2015). Disponible en: <http://www.reviberoammicol.com/2007-24/122124.pdf>.
3. Instituto Hondureño de Seguridad Social. Guías clínicas y de II – III nivel del IHSS. Instituto Hondureño de Seguridad Social. Tegucigalpa 2009. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s18607es/s18607es.pdf>
4. Suwanmanee S, Kitisin T, Luplertlop N. In Vitro Screening of 10 Edible Thai Plants for Potential Antifungal Properties. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014: ID 138587:7. (Citado 7 de Abril del 2015). Disponible en <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2014/138587/>
5. Nazmul M, Rashid M, Jamal H. Antifungal activity of Piper betel plants in Malaysia. *Drug Discovery*, 2013, 6(17), 16-17. (Citado 3 de abril del 2015). Disponible en: http://www.discovery.org.in/PDF_Files/dd_2013101701.pdf
6. Ortega C, Estivalet T, Baezab L, Mirandac N, Vataru C, Garcia D, et al. Evaluation of antifungal activity of extracts of *Piper regnellii* obtained by supercritical fluid extraction. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters* 2013; 27 (24), (Citado 11 de Abril del 2015). Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2013.830215>
7. Sharma K, Saikia R, Kotoky L, Kalita J, Das J Evaluation of Antidermatophytic activity of Piper betle, *Allamanda cathertica* and their combination: an in vitro and in vivo study. *International Journal of PharmTech Research*. 2011;3(2):644-651.(citado 1 de abril del 2015) Disponible en: <http://sphinxesai.com/vol3.no2/pharm/pharmpdf/PT=06%28644-651%29AJ11.pdf>
8. Mayumi A, Sehn E, Baesso M, Ueda-Nakamura T, Vataru C, Garcia D, et al Antifungal Activity and Nail Permeation of Nail Lacquer Containing *Piper regnellii* (Miq.) C. CD. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck (Piperaceae) Leave

- Extracts and Derivatives. Rev Molecules 2010, 15:, 3920-3931;. 8Citado 2 de Setiembre del 2015). Disponible en: http://www.researchgate.net/publication/261027352_Anti-dermatophyte_antiFusarium_and_cytotoxic_activity_of_essential_oils_and_plant_extracts_of_Piper_genus
9. Vaijayanthimala J, Rajendra N, Prasad A, Anandi C, Pugalendi K. Antidermatophytic activity of some Indian medicinal plants. Journal of natural remedies, 2008. 4(1): 26 – 31 (Citado 12 de abril del 2015).
 10. Patra A. Dietary Phytochemicals and Microbes. New Yor. Editor. Springer 2012 pp 82. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=9FM8nRVBqMoC&pg=PA82&lpg=PA82&dq=effect+of+piper+sp+against+MICROSPORUM+CANIS&source=bl&ots=pvjRUocbUV&sig=TCVbDwwVxDdb9deynXTS8oD7E30&hl=es&sa=X&ei=uwlrVYXJG-3asAT3uYHgBQ&ved=0CFoQ6AEwBg#v=onepage&q=effect%20of%20piper%20sp%20against%20MICROSPORUM%20CANIS&f=false>
 11. Bejar V, Villanueva F, Guevara J, González S, Vergaray G, Abanto E. et al. Epidemiología de las dermatomicosis en 30 años de estudio en el Instituto de Medicina Tropical Daniel A Carrión, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. An. Fac. med. Lima abr. 2014; 75(2):167-172. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832014000200013&script=sci_arttext
 12. Tovar O. Plantas medicinales del Valle del Mantaro. Lima. Consejo Nacional de ciencia y tecnología e innovación tecnológica. Editorial CONCYTEC, 2001. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=Qw0fAQAAIAAJ&q=caracteristicas+del+%22matico%22+piper&dq=caracteristicas+del+%22matico%22+piper&hl=es&sa=X&ei=rxcrVdniFuLLsASmhICQBg&ved=0CDEQ6AEwBQ>
 13. Arroyo J. Efectos del extracto acuoso de las hojas de Piper angustifolium (Matico) sobre la úlcera gástrica en animales de experimentación [Tesis doctoral]. Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM. Lima; 1998. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/fofia/vol10n1/dermofarmacia.htm>

14. Silva R. Navickiene, M. Kato, V. da S. Bolzani, C. Méda M. Antifungalamides from *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry* Young & M. Furlan. 2002 pp 521-527. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11853747>
15. Ministerio de Salud de Panamá. Evaluación del balance beneficio-riesgo de ketoconazol sistémico considerado desfavorable el centro nacional de farmacovigilancia. 2013. Disponible en http://www.minsa.gob.pa/sites/default/files/alertas/nota_informativa_ketoconazol.pdf.
16. Mendoza N. *Farmacología médica*. México. Editorial Medica Panamericana 2009 pp 181 disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=EUBNE4Y0v9sC&pg=PA181&dq=FARMACOLOGIA+del+ketoconazol&hl=es&sa=X&ei=gqMrVY6tINW1sQTLIDoDg&ved=0CCYQ6AEwAg#v=onepage&q=FARMACOLOGIA%20del%20ketoconazol&f=false>
17. Lüllmann H, Mohr K, Hei L. *Farmacología: texto y atlas*. 6ª ed. Madrid. Editorial Médica Panamericana. 2010. Pp 38 Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=BXC_e6SiK94C&pg=PA38&dq=farmacologia+del+ketoconazol&hl=es&sa=X&ei=x6grVd7jKvG1sATxylIGYBQ&ved=0CCsQ6AEwAw#v=onepage&q=farmacologia%20del%20ketoconazol&f=false
18. Sánchez A. *Farmacología Clínica Manual de Enfermería*. México. Editorial Publishing Platform 2014 pp 114 Disponible en <https://books.google.com.pe/books?id=gW7IAwAAQBAJ&pg=PT116&dq=FARMACOLOGIA+del+ketoconazol&hl=es&sa=X&ei=gqMrVY6tINW1sQTLIDoDg&ved=0CD4Q6AEwBg#v=onepage&q=FARMACOLOGIA%20del%20ketoconazol&f=false>
19. Vilata J. *Micosis cutáneas*. Madrid. Editorial Médica Panamericana. 2006 pp 165. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=ML5kocizMKgC&pg=PA165&dq=farmacologia+del+ketoconazol&hl=es&sa=X&ei=QacrVcmAA-SOsQS8toHYDA&ved=0CCMQ6AEwAjk#v=onepage&q=farmacologia%20del%20ketoconazol&f=false>
20. Brunton L. Lazo G, Goodman & Gilman *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11ª ed. Madrid. Mc Graw Hill Interamericana. 2008. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=aHSEBgAAQBAJ&dq=Goodman+%26>

- +Gilman+Las+bases+farmacol%C3%B3gicas+de+la+terap%C3%A9utica.&hl=es&sa=X&ved=0CCUQ6AEwAmoVChMIgofdvu_3yAIVAjMmCh356ggT
21. Wolf K, Goldsmith L, Katz M, Paller P. Fitzpatrick Dermatología En Medicina General. 7ª ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 2009 pp 2126
 Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=1Osiphav6GMC&pg=PA2116&dq=propiedades+del+ketoconazol&hl=es&sa=X&ei=6ErVaH8OOLHsQTt2YDYDQ&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q=propiedades%20del%20ketoconazol&f=false>
 22. Dongyou L. Molecular Detection of Human Fungal Pathogens. Washington. Editorial Taylor y Francis Group 2011 pp 285. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=IRLOBQAAQBAJ&pg=PA296&dq=Microsporum+canis+pdf&hl=es&sa=X&ei=6a0rVc7VCtHOsQSWkoGYBQ&ved=0CCQQ6AEwAQ#v=onepage&q=Microsporum%20canis%20pdf&f=false>
 23. Koneman E, Allen S. Janda M- Koneman Diagnostico Microbiológico. Texto y atlas a color. 6ª ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana 2008 pp 1139
 Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=jyVQueKro88C&pg=PA1139&dq=Microsporum+canis&hl=es&sa=X&ei=F7ArVcKNDvT7sASR04CYCw&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q=Microsporum%20canis&f=false>
 24. Ahmad I, Owais M, Shahid M, Aqil F. Combating Fungal Infections: Problems and Remedy. New York. Springer Editor 2010, pp 187 (Citado 22 de abril del 2015).
 Disponible de: [https://books.google.com.pe/books?id=IXIXSEzuicwC&pg=PA187&dq=Dermatophytes+test+m%C3%A9dium+%28DTM%29,&hl=es&sa=X&ei=HuY-VbLyGqawsASzrYCwDA&ved=0CFEQ6AEwBQ#v=onepage&q=Dermatophytes%20test%20m%C3%A9dium%20\(DTM\)%2C&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=IXIXSEzuicwC&pg=PA187&dq=Dermatophytes+test+m%C3%A9dium+%28DTM%29,&hl=es&sa=X&ei=HuY-VbLyGqawsASzrYCwDA&ved=0CFEQ6AEwBQ#v=onepage&q=Dermatophytes%20test%20m%C3%A9dium%20(DTM)%2C&f=false)
 25. Forbes B. Diagnostico Microbiológico 12ª edición Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 2009. (Citado 2 de Julio del 2015) Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=239cauKqSt0C&pg=PA197&dq=inhibicion+del+crecimiento+microbiano&hl=es&sa=X&ved=0CDsQ6AEwCDgKahUKE>

wjSILXp_Y_IAhWFGB4KHfJQBQQ#v=onepage&q=inhibicion%20del%20crecimiento%20microbiano&f=false

26. Velasco RJ, Villada HS. Carrera JE. Aplicaciones de los fluidos supercríticos en la agroindustria. Rev Información Tecnológica. 2007;18(1):53-66 Disponible en : http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642007000100009
27. Alva S. Gutiérrez M, Rengifo R. Efecto del extracto etanólico de hojas de piper aduncum en la oxidación de ldl humana y concentración efectiva media para la estabilización de la especie radicalaria in vitro Revista Farmaciencia 2014; 2(2): 23-32. (Citado 23 de agosto del 2015) Disponible en <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/798/725>
28. Instituto Nacional de Salud. Reglamento de ensayos clínicos. Oficina General de Investigación y transferencia tecnológica. MINSA INS 2011. (Citado 1 de Junio del 2015). Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/ENSAYOS%20CLINICOS%203%20DE%20AGOSTO%20DE%202011.pdf>
29. Bárbara Susana Gregori Valdés. Estructura y actividad de los antifúngicos. Rev. Cubana Farm 2005;39(2) Disponible en : http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol39_2_05/far12205.htm

VIII. ANEXOS

ANEXO 1

TAÑANO DE MUESTRA:

$$n = \frac{\left[Z_{\alpha/2} + Z_{\beta} \right]^2 \sigma^2}{\left[X_{\beta} - X_{\beta} \right]^2}$$

$$Z_{\alpha/2} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

$$\sigma = 2.139 \quad \text{Desviación estándar}$$

$$X_{\beta} = 30 \quad \text{Promedio Ketoconazol}$$

$$X_{\beta} = 29.95 \quad \text{Promedio concentración mayor}$$

N= 7 placas Petri.

Muestra= 42

ANEXO 2

EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *PIPER ACUTIFOLIUM*. SOBRE LA INHIBICIÓN EN *TRICHOPHYTON RUBRUM*. COMPARADO CON EL KETOCONAZOL, ESTUDIO IN VITRO

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS: TRATAMIENTO: a) KETOCONAZOL b) EXTRACTO ETANÓLICO DE PIPER A.

Diámetro de halo de inhibición en mm <i>Trichophyton Rubrum</i>			
CONTROL Y DILUCIONES	PLACAS DE PETRI	DIÁMETRO DE HALOS A 48 HORAS (mm)	PROMEDIO
KETOCONAZOL CONTROL DE CALIDAD	1	16.2	18
	2	21	
	3	17.3	
	4	18	
	5	17.3	
	6	21.1	
	7	12.5	
100% CONCENTRADO	1	21	20
	2	21	
	3	19.3	
	4	18.3	
	5	17.3	
	6	20	
	7	22	
75% CONCENTRADO	1	15	15
	2	17	
	3	15.3	
	4	18.3	
	5	12.5	
	6	17.5	
	7	12.5	
50% CONCENTRADO	1	17.2	16
	2	17.3	
	3	16.1	
	4	16.5	
	5	15.2	
	6	15	
	7	14.3	
25% CONCENTRADO	1	12	12
	2	12.2	
	3	12.3	
	4	12.2	

	5	12.1	12
	6	12.1	
	7	12.5	
15% CONCENTRADO	1	10.1	
	2	8.3	
	3	10.2	
	4	17.5	
	5	10.3	
	6	17.5	
	7	11.5	

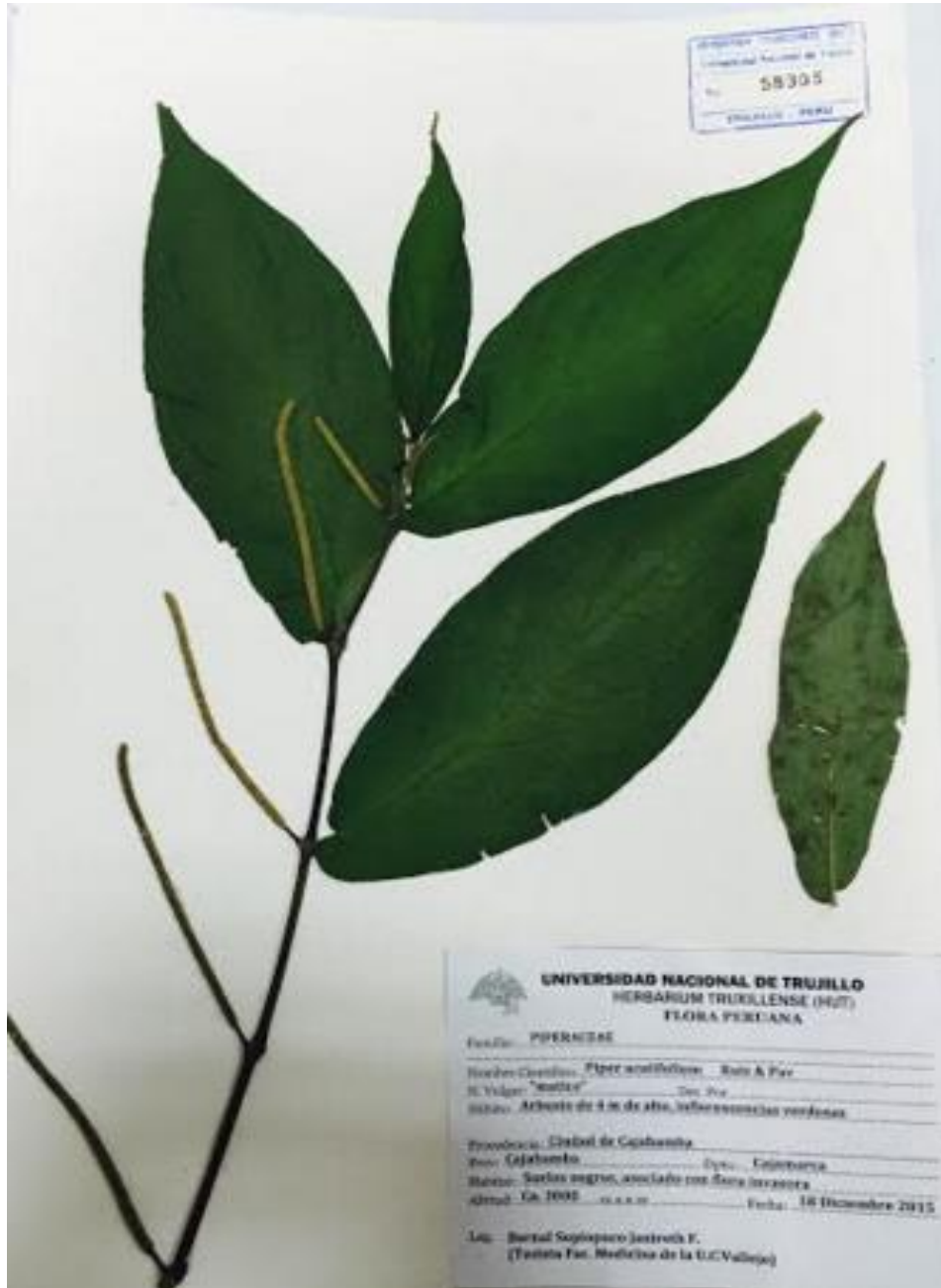
ANEXO 3

EFFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *PIPER ACUTIFOLIUM*. SOBRE LA INHIBICIÓN EN *TRICHOPHYTON RUBRUM*. COMPARADO CON EL KETOCONAZOL, ESTUDIO IN VITRO
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS: TRATAMIENTO: a) KETOCONAZOL b) EXTRACTO ETANÓLICO DE PIPER A.

Concentración Mínima Inhibitoria			
CONTROL Y DILUCIONES	Tubos de ensayo	72 HORAS	mg/ml
100% CONCENTRADO	1	-	10.08
	2	-	5.04
	3	-	2.52
	4	-	1.26
	5	+	0.63
	6	+	0.315
	7	+	0.1575
	8	+	0.07875
	9	+	0.03938
	10	+	0.01969
	11	+	0.00984

ANEXO 4

Identificación de la especie vegetal en el Herbarium Truxillense de Trujillo



ANEXO 5

1. Preparación de la muestra.

a. Recolección y selección de la materia prima.



b. Lavado y desinfección.



c. Secado de la muestra.

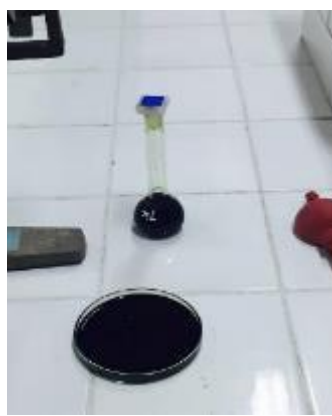


ANEXO 6

d. Molienda y tamizado



2. Obtención del extracto etanólico *Piper acutifolium*

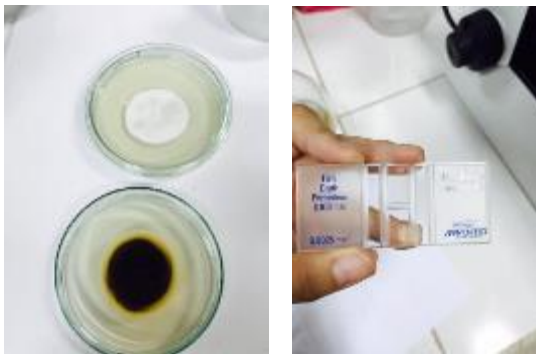


ANEXO 7

3. Preparación de las diluciones del extracto etanólico de hojas de *Piper acutifolium*



4. Preparación del inóculo.



5. Siembra de las placas con Agar Saboraud.



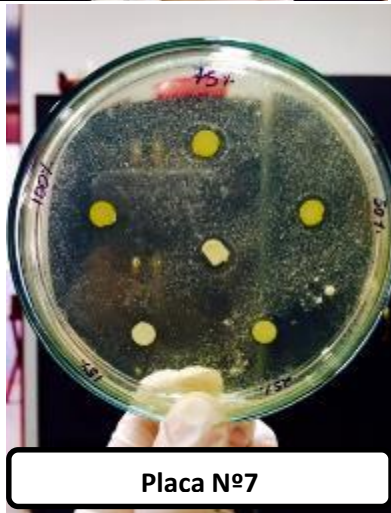
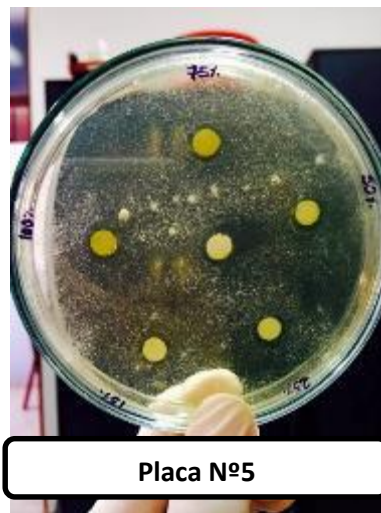
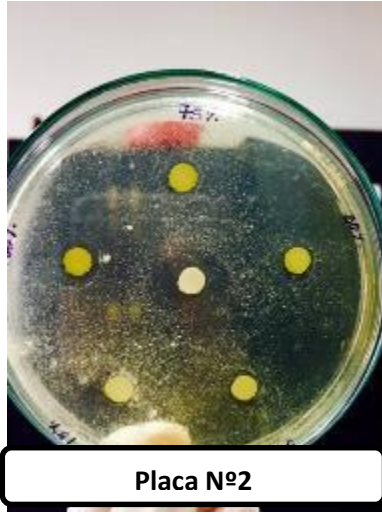
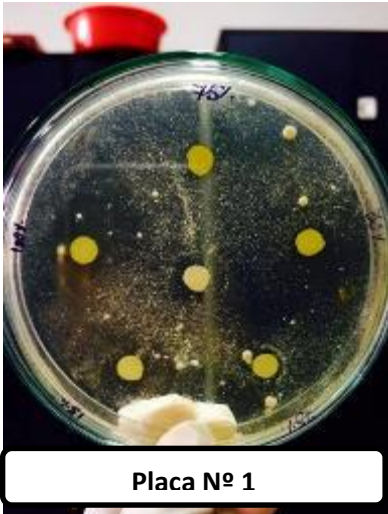
ANEXO 8

6. Preparación de discos de sensibilidad con extrato de piper y confrontación de los discos preparados con dermatofitos.



ANEXO 9

7. Lecturas de halos de inhibición



ANEXO 10

8. Concentración mínima inhibitoria.



Anexo 11

ESTADISTICA	KETO	100%	75%	50%	25%	15%
Media	17.6	19.8	15.4	15.9	12.2	12.2
Mediana	17.3	20.0	15.3	16.1	12.2	10.3
Desviación estándar	2.9	1.7	2.3	1.1	0.2	3.7
Rango intercuartil	4.8	2.7	5.0	2.2	0.2	7.4

ANOVA					
HALO					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	317.5	5	63.5	11.8	.000
Dentro de grupos	192.9	36	5.4		
Total	510.4	41			

ANEXO 12

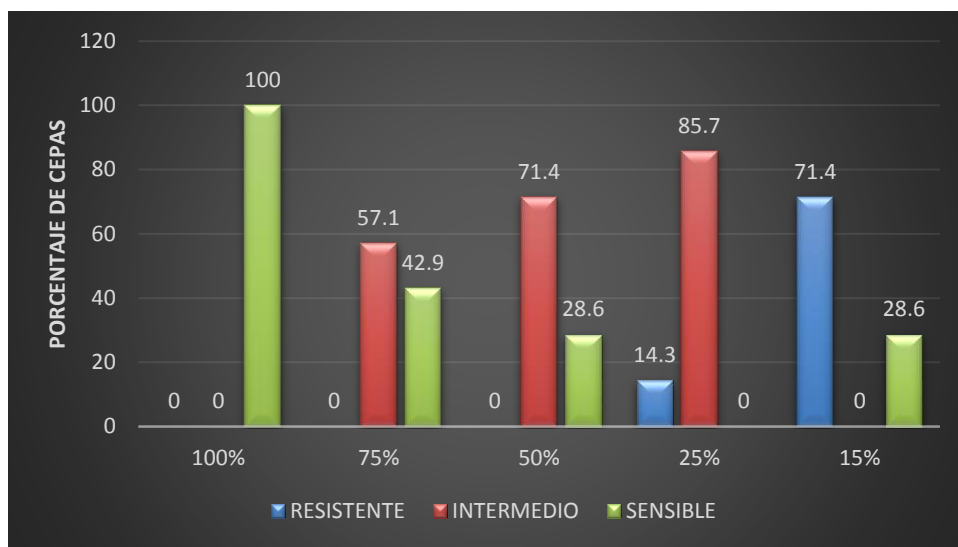
Comparaciones múltiples						
Variable dependiente:						
HSD Tukey						
GRUPO		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
KETOCONAZOL	15,00	5,42857*	1.2	.001	1.7058	9.1514
	25,00	5,42857*	1.2	.001	1.7058	9.1514
	50,00	1.68571	1.2	.749	-2.0371	5.4085
	75,00	2.18571	1.2	.499	-1.5371	5.9085
	100,00	-2.21429	1.2	.485	-5.9371	1.5085
15,00	1,00	-5,42857*	1.2	.001	-9.1514	-1.7058
	25,00	.00000	1.2	1.000	-3.7228	3.7228
	50,00	-3,74286*	1.2	.048	-7.4657	-.0200
	75,00	-3.24286	1.2	.118	-6.9657	.4800
	100,00	-7,64286*	1.2	.000	11.3657	-3.9200
25,00	1,00	-5,42857*	1.2	.001	-9.1514	-1.7058
	15,00	.00000	1.2	1.000	-3.7228	3.7228
	50,00	-3,74286*	1.2	.048	-7.4657	-.0200
	75,00	-3.24286	1.2	.118	-6.9657	.4800
	100,00	-7,64286*	1.2	.000	11.3657	-3.9200
50,00	1,00	-1.68571	1.2	.749	-5.4085	2.0371
	15,00	3,74286*	1.2	.048	.0200	7.4657
	25,00	3,74286*	1.2	.048	.0200	7.4657
	75,00	.50000	1.2	.998	-3.2228	4.2228
	100,00	-3,90000*	1.2	.035	-7.6228	-.1772
75,00	1,00	-2.18571	1.2	.499	-5.9085	1.5371
	15,00	3.24286	1.2	.118	-.4800	6.9657
	25,00	3.24286	1.2	.118	-.4800	6.9657
	50,00	-.50000	1.2	.998	-4.2228	3.2228
	100,00	-4,40000*	1.2	.013	-8.1228	-.6772
100,00	1,00	2.21429	1.2	.485	-1.5085	5.9371
	15,00	7,64286*	1.2	.000	3.9200	11.3657
	25,00	7,64286*	1.2	.000	3.9200	11.3657
	50,00	3,90000*	1.2	.035	.1772	7.6228
	75,00	4,40000*	1.2	.013	.6772	8.1228

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 13

FIGURA N° 01

DETERMINAR EL EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL PIPER ACUTIFOLIUM SOBRE LA INHIBICIÓN EN TRICHOPHYTON RUBRUM SEGÚN DILUCIONES.



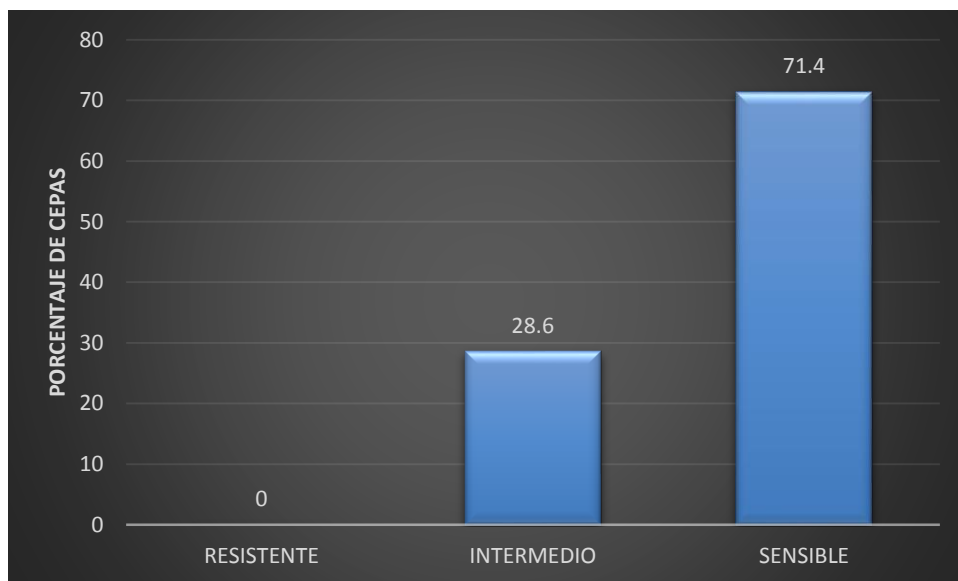
Fuente: Elaborada por el investigador

Como se observa en la concentración al 100% del extracto ha sido sensible en el 100% de la cepas (7). Mientras que al 75% de concentración solo 42.9 %(3). De la concentración de 50% a menos, no superaron al 30%.

ANEXO 14

FIGURA N°02

EFFECTO DEL KETOCONAZOL SOBRE LA INHIBICIÓN EN TRICHOPHYTON RUBRUM



Fuente: Elaborada por el investigador

*El 71.4% de las cepas fue sensible al ketoconazol. Mientras que el 28.6% fue intermedio



FICHA DE EVALUACIÓN INSTRUMENTO POR EXPERTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS								
	CONTENIDO <i>(Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)</i>		CONSTRUCTO <i>(Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)</i>		RELEVANCIA <i>(El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)</i>		COHERENCIA INTERNA <i>(El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)</i>		CLARIDAD <i>(El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)</i>		SUFICIENCIA <i>(Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)</i>		
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1													
2													
3													
4													
5													

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES			SI	NO	OBSERVACION
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos					
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación					
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial					
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir					
VALIDEZ					
APLICABLE		NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN	

Validado por: Dr. Polo Gamboa Jaime

Fecha:

20/11/2016

Firma y sello