

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD**



**Microbiota fúngica patógena pédica y su control mediante cuero  
funcionalizado con nanopartículas de óxido de zinc**

**TESIS**

**para optar el grado académico de doctor en ciencias de la salud**

**MSc. Rosa Liliana Solis Castro**

**Tumbes, Perú**

**2022**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD**



**Microbiota fúngica patógena pédica y su control mediante cuero funcionalizado con nanopartículas de óxido de zinc**

**TESIS**

**para optar el grado académico de doctor en ciencias de la salud**

**Tesis aprobada en forma y estilo por:**

**Dra. Amarilis Calle Cáceres**

Presidente

**Dr. José Luis Saly Rosas Solano**

Secretario

**Dra. Marilú Elena Barreto Espinoza**

Miembro

**Tumbes**

**2022**

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

## ESCUELA DE POSGRADO

### DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD



#### Microbiota fúngica patógena pédica y su control mediante cuero funcionalizado con nanopartículas de óxido de zinc

#### TESIS

para optar el grado académico de doctor en ciencias de la salud

Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido y forma:

**MSc. Rosa Liliana Solis Castro**

**Autora**

**Dr. Gerardo J. F. Cruz Cerro**

**Asesor**

**Dra. Maria Edith Solis Castro**

**Co-Asesora**

**Maria Edith Solis Castro**  
Docente

**Tumbes**

**2022**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES  
Licenciada  
Resolución del Consejo Directivo N° 155-2019-SUNEDUCO  
ESCUELA DE POSGRADO  
Tumbes – Perú

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Tumbes, siendo las dieciocho horas del cinco de octubre del dos mil veintidos, se reunieron mediante la modalidad virtual por la plataforma zoom <https://us02web.zoom.us/j/8032254956> ID de reunión: 803 225 4956, los miembros del jurado conformado con la Resolución N° 065-2022/UNTUMBES-EPG-D, del 30 de abril de 2021: Dra. Amarilis Calle Cáceres (presidente), Dr. José Luis Saly Rosas Solano (secretario), Dra. Marilú Elena Barreto Espinoza (miembro), para proceder al acto de sustentación y defensa de la tesis titulada: **MICROBIOTA FÚNGICA PATÓGENA PÉDICA Y SU CONTROL MEDIANTE CUERO FUNCIONALIZADO CON NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC** presentada por la doctoranda Rosa Liliana Solís Castro para optar el grado académico de Doctora en Ciencias de la Salud .

Actuó en la condición de asesor, el Dr. Gerardo Juan Francisco Cruz Cerro

Concluido el acto de sustentación y defensa, absueltas las preguntas formuladas y efectuadas las correspondientes observaciones, el jurado calificador decidió declarar: APROBADA la tesis, por unanimidad con el calificativo de MUY BUENA, en conformidad con lo normado en el artículo 91. del Reglamento de Tesis para Pregrado y Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las dieinueve horas con quince minutos, se dio por concluido el indicado acto académico y en expresión de conformidad se procedió a la suscripción de la presente acta.

Tumbes, 05 de octubre de 2022.

AMARILIS CALLE CACERES  
DNI N° 00214762  
ORCID N°: /0000-0002-6702-8572  
(PRESIDENTE)

JOSÉ LUIS, SALY ROSAS SOLANO  
DNI N° 19219041  
ORCID N° 0000-0001-5457-8236  
(SECRETARIO)

MARILU ELENA BARRETO ESPINOZA  
DNI N° 00250182  
ORCID N° 0000-0001-8883-5501  
(MIEMBRO)

C.c. Jurado de Tesis (3), Asesor (1), sustentante (1), UI (2)

*A mi familia por todo su amor, su apoyo y por estar siempre  
presente en las decisiones más importantes de mi vida.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo de investigación se inició gracias a la financiación económica del Banco Mundial mediante el proyecto N°02-2018-FONDECYT-BM-IADT-MU denominado “Funcionalización de textiles naturales y cuero mediante nanopartículas y microcápsulas para la obtención de indumentaria con propiedades antimicrobianos, antimicóticas, repelentes con protección UV” a cargo del Dr. José Luis Solís Veliz.

A mis asesores Dr. Gerardo Cruz Cerro y María Edith Solís Castro por el apoyo y confianza en mi trabajo.

Al Dr. José Solís por la confianza depositada para la realización de esta investigación.

A la Dra. Nicolaza Pariona y al Dr. Daniel López por los conocimientos compartidos y su hospitalidad durante mi estadía en la Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.

A Rosita Chang por la amistad, colaboración y su disponibilidad en ayudarme con el avance de los experimentos.

A los trabajadores del Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Tumbes, en especial al Ing. Andy García.

Finalmente, a todos quienes contribuyeron directa o indirectamente con la realización de este estudio.

¡Muchas gracias!

## INDICE GENERAL

Resumen.....	12
Abstract.....	13
I. Introducción.....	14
II. Estado del arte	
2.1. Bases teórico científicas.....	18
2.1.1. La microbiota fúngica del pie en salud y enfermedad.....	18
2.1.2. La nanotecnología.....	20
2.2. Antecedentes.....	21
2.2.1. Microbiota fúngica patógena del pie.....	21
2.2.2. Control del crecimiento de dermatofitos por nanopartículas y nanomateriales.....	25
2.3. Definición de términos.....	28
III. Material y métodos	
3.1. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis.....	30
3.2. Población, muestra y muestreo.....	30
3.3. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	30
3.3.1. Obtención de la muestra.....	31
3.3.2. Identificación de los hongos cultivables.....	32
3.3.3. Obtención de las nanopartículas de zinc y del cuero funcionalizado con nanopartículas de óxido de zinc.....	32
3.3.4. Determinación de la actividad antifúngica del óxido de zinc.....	33
3.3.5. Determinación de la actividad antifúngica del óxido de zinc en cuero.....	34
3.4. Plan de procesamiento y análisis de datos.....	34
3.5. Principios éticos de la investigación.....	35
IV. Resultados y Discusión	
4.1. Identificación de hongos cultivables.....	39
4.2. Determinación de la actividad antifúngica del oxido de zinc.....	41
4.2.1. Obtención y caracterización de las nanopartículas de óxido de zinc.....	41
4.2.2. Actividad antifúngica de las nanopartículas de óxido de zinc.....	43

4.3. Determinación de la actividad antifúngica del cuero funcionalizado con óxido de zinc.....	48
4.3.1. Obtención y caracterización del cuero funcionalizado con nanopartículas de ZnO.....	48
4.3.2. Determinación del efecto antifúngico del cuero funcionalizado con nanopartículas de ZnO.....	52
V. Conclusiones.....	58
VI. Recomendaciones.....	60
VII. Referencias bibliográficas.....	61
VIII. Anexos.....	71

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Acción de las Nanopartículas metálicas frente a los diversos microorganismos.....	25
Tabla 2. Materiales funcionalizados con Nanopartículas y su actividad antimicrobiana.....	27
Tabla 3. Proceso de funcionalización del cuero wet blue con ZnO.....	33
Tabla 4. Especies de hongos aislados según zona de la lesión en los pies de hombres y mujeres de Tumbes, 2021.....	37

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Correlación entre la influencia de los parámetros esenciales de las nanopartículas de ZnO.....	21
Figura 2. Zonas de lesión fúngica en los pies de los participantes.....	39
Figura 3. Especies de hongos aislados de lesiones en pie, en zona plantar, interdigital y uña de adultos de Tumbes.....	39
Figura 4. Nanopartículas de ZnO sintetizadas a la temperatura de 30°C..	41
Figura 5. Difractograma de rayos X de las nanopartículas de ZnO.....	42
Figura 6. Micrografía de las nanopartículas de ZnO.....	43
Figura 7. Actividad de las nanopartículas de ZnO sobre el crecimiento de levaduras aisladas de lesión fúngica del pie.....	44
Figura 8. Actividad de las nanopartículas de ZnO sobre el crecimiento de <i>Candida tropicalis</i> , <i>C. krusei</i> y <i>Trichosporon inkin</i> .....	45
Figura 9. Actividad de las nanopartículas de ZnO sobre el crecimiento de dermatofitos y mohos.....	46
Figura 10. Susceptibilidad de dermatofitos y no dermatofitos a concentraciones de ZnO (0, 0.5, 0.75 y 1 mg/ml).....	47
Figura 11. Aspectos de la parte flor y parte carne de los cueros sin funcionalizar y funcionalizados con NPs de ZnO en la etapa de recurtido.....	48
Figura 12. Micrografía parte flor recurtida sin funcionalizar y funcionalizada. Espectro EDS parte flor sin funcionalizar y funcionalizada.....	49

Figura 13. Micrografía parte carne recurtida sin funcionalizar y funcionalizada. Espectro EDS parte carne sin funcionalizar y funcionalizada.....	51
Figura 14. Actividad del cuero funcionalizado con nanopartículas de ZnO sobre el crecimiento de especies de levaduras.....	52
Figura 15. Halos de inhibición del cuero control y funcionalizado con nanopartículas de ZnO en <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (12R) y <i>C. albicans</i> (4Ca) .....	53
Figura 16. Sensibilidad de <i>Candida tropicalis</i> (7ct), <i>C. glabrata</i> (14cg) y <i>Trichosporon inkin</i> (18T) al cuero funcionalizado con nanopartículas de ZnO.....	53
Figura 17. Crecimiento micelial en los tratamientos de los cueros funcionalizados con 0.8 y 1.2 g/l de NPs-ZnO enfrentados a los dermatofitos <i>Trichophyton rubrum</i> y <i>T. interdigitale</i> .....	54
Figura 18. Cuero funcionalizado y su actividad frente a dermatofitos y no dermatofitos.....	55

## INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado.....	70
Anexo 2. Identificación molecular de los hongos aislados.....	71
Anexo 3. ANOVA TWO WAY para las especies de hongo aisladas con respecto a la parte del pie.....	73
Anexo 4. Prueba de Tukey para las especies de hongos aisladas, y para la parte del pie de.....	74
Anexo 5. Actividad del Fluconazol (25 µg/ml) sobre el crecimiento de levaduras aisladas de micosis en pies.....	80
Anexo 6. ANOVA TWO WAY para las especies de levaduras y la concentración de nanopartículas de ZnO.....	81
Anexo 7. Prueba de Tukey para las especies de levaduras, y la concentración de nanopartícula de ZnO.....	82
Anexo 8. ANOVA TWO WAY para las especies de dermatofitos y no dermatofitos y la concentración de nanopartículas de ZnO.....	85
Anexo 9. Prueba de Tukey para las especies de dermatofitos y no dermatofitos y la concentración de nanopartícula de ZnO.....	86
Anexo 10. Actividad del Fluconazol (25µg/ml) y Anfotericina B (20 µg/ml) sobre el crecimiento de hongos dermatofitos y no dermatofitos...	88
Anexo 11. Inhibición del crecimiento de hongos dermatofitos y no dermatofitos por acción de las nanopartículas de ZnO.....	89
Anexo 12. ANOVA TWO WAY para las especies de levaduras el cuero funcionalizado con nopartículas de ZnO.....	90
Anexo 13. Prueba de Tukey para las especies de levaduras y el cuero funcionalizado con nanopartícula de ZnO.....	91

## RESUMEN

Las infecciones fúngicas que afectan a los pies en su mayoría no responden al tratamiento con antimicóticos, empleándose nuevas tecnologías como las nanopartículas de óxido de zinc (NPs-ZnO), las que han mostrado actividad antimicrobiana, y pueden depositarse en soportes obteniéndose materiales funcionalizados. El cuero funcionalizado con NPs-ZnO (Cuero-NPs-ZnO) puede ser una manera preventiva para mantener la salud de los pies y controlar la población de hongos patógenos. Se determinó la acción del cuero-NPs-ZnO en el control de la microbiota fúngica patógena pédica. Se recolectaron muestras de lesión fúngica en pies para el aislamiento de hongos, identificándose molecularmente. Se usaron concentraciones de 0.5, 0.75 y 1 mg/ml de NPs-ZnO en dermatofitos y no dermatofitos, adicionalmente 2, 5, 10 y 50 mg/ml en levaduras, y cuero funcionalizado con 0.8, 1.2 y 2 g/l de NPs-ZnO. Se aislaron levaduras de los géneros *Candida*, *Rhodotorula* y *Trichosporon*, los dermatofitos *Trichophyton rubrum* y *T. interdigitale*, y no dermatofitos de los géneros *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Chaetomium* y *Acrophialophora*. Concentraciones >10 mg/ml inhibieron a *Trichosporon inkin*-18, *Candida tropicalis*-7 y *C. krusei*-15. Con 1 mg/ml el género *Trichophyton* disminuyó su crecimiento colonial entre 46.87 y 85.75%, y en no dermatofitos fue entre 56.84 y 87.136%. Con cuero funcionalizado, *Candida tropicalis*-7, *C. glabrata*-14 y *Trichosporon inkin*-18 mostraron inhibición según aumentó la concentración de NPs-ZnO, y en dermatofitos y no dermatofitos fue con 2 g/l de NPs-ZnO. La inhibición del crecimiento fue directamente proporcional a la cantidad de nanopartícula empleada, pero varió según el tipo de hongo.

**Palabras clave:** Oxido de zinc, nanopartículas, dermatofitos, cuero funcionalizado, actividad antifúngica.

## ABSTRACT

Fungal infections that affect the feet mostly do not respond to treatment with antifungals, using new technologies such as zinc oxide nanoparticles (NPs-ZnO), which have shown antimicrobial activity, and can be deposited on supports, obtaining functionalized materials. Functionalized leather with NPs-ZnO (Leather-NPs-ZnO) can be a preventive way to maintain foot health and control the population of pathogenic fungi. The action of leather-NPs-ZnO in the control of foot pathogenic fungal microbiota was determined. Foot fungal lesion samples were collected for fungal isolation and molecular identification. Concentrations of 0.5, 0.75 and 1 mg/ml of ZnO-NPs were used in dermatophytes and non-dermatophytes, additionally 2, 5, 10 and 50 mg/ml in yeasts, and functionalized leather with 0.8, 1.2 and 2 g/l of NPs-ZnO. Yeasts of the genera *Candida*, *Rhodotorula* and *Trichosporon*, the dermatophytes *Trichophyton rubrum* and *T. interdigitale*, and non-dermatophytes of the genera *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Chaetomium* and *Acrophialophora* were isolated. Concentrations >10 mg/ml inhibited *Trichosporon inkin*-18, *Candida tropicalis*-7 and *C. krusei*-15. With 1 mg/ml, the genus *Trichophyton* decreased its colonial growth between 46.87 and 85.75%, and in non-dermatophytes it was between 56.84 and 87.136%. With functionalized leather, *Candida tropicalis*-7, *C. glabrata*-14 and *Trichosporon inkin*-18 showed inhibition according to the higher concentrations of NPs-ZnO, and in dermatophytes and non-dermatophytes it was with 2 g/l of NPs-ZnO. Growth inhibition was directly proportional to the amount of nanoparticle used, but varied according to the type of fungus.

**Keywords:** Zinc oxide, nanoparticles, dermatophytes, functionalized leather, antifungal activity.

## I. INTRODUCCIÓN

La microbiota cutánea comprende a las bacterias, arqueobacterias, hongos, virus, y ácaros, aunque varía según la parte del cuerpo y entre individuos<sup>(1)</sup>. Sin embargo, los microorganismos que habitan la piel pueden verse influenciados por el microambiente de la piel como la humedad, ambiente sebáceo y por características como sexo, edad, ropa, higiene, y ocupación del individuo<sup>(2)</sup>. La microbiota fúngica patógena en los pies está compuesta principalmente por el grupo de los dermatofitos, los cuales son adquiridos por ciertas prácticas relacionadas con mala higiene, contagio por el uso de objetos compartidos, y uso de zapatos inadecuados, lo cual ayuda a la proliferación de estos microorganismos.

Las infecciones fúngicas, denominadas dermatofitosis, en pies, sólo son vistas como un problema cosmético, sin embargo, éstas pueden ocasionar un problema sobre la calidad de vida del paciente, especialmente cuando se tratan de micosis crónicas como el de pie de atleta y la onicomycosis. El 70% de la población es infectada con pie de atleta en alguna etapa de su vida<sup>(3)</sup>, y el 50% de todas las enfermedades producidas en las uñas son debidas a onicomycosis<sup>(4)</sup>, no obstante, su incidencia no es afectada por el grupo étnico o racial<sup>(3)</sup>. De las micosis en pies, la onicomycosis además de ser un problema cosmético, puede llevar a celulitis en adultos mayores, o a úlceras en el pie de pacientes con diabetes<sup>(5)</sup>.

La incidencia de pie de atleta es mayor en algunos grupos ocupacionales, por ejemplo, 72% en mineros, 31% en maratonistas, 58% de soldados, mientras que la prevalencia de onicomycosis está en el rango del 1 al 8% en Europa y Estados Unidos y < 1% en África Central y la mayoría de los países de América Latina<sup>(6)</sup>. En los países de América Latina, la incidencia de onicomycosis y pie de atleta varía, respectivamente en Brasil con 48.5% y 33.1%<sup>(7)</sup>, Chile<sup>(8)</sup>, 58.1% y 16.3%,

Colombia<sup>(9)</sup> 65% y 44.2%, Venezuela<sup>(10)</sup> 66.8% y 16.4% y en Perú<sup>(11)</sup> con 54.3% y 25%.

Los agentes etiológicos para el pie de atleta principalmente corresponden a los géneros *Trichophyton* y *Epidermophyton*<sup>(3)</sup>, siendo *T. rubrum* el dermatofito predominante<sup>(7, 12)</sup>, mientras que para la onicomicosis son los dermatofitos y las levaduras<sup>(6)</sup>, con mayor incidencia de los integrantes del género *Candida*<sup>(9)</sup>. Por lo tanto, es fundamental que se identifique el agente etiológico para generar datos de epidemiología y para encaminar el tratamiento adecuado<sup>(10)</sup>.

Cuando las infecciones fúngicas no han sido tratadas con antifúngicos en la etapa aguda o no se ha cumplido el tratamiento, las infecciones micóticas progresan a crónicas, donde las terapias suelen ser prolongadas y con recidivas, y se incrementa la dosis del tratamiento antifúngico en los pacientes. Muchas veces al no ver mejoría, el paciente se frustra, adicionado a esto, el desarrollo de resistencia a antimicóticos y hepatotoxicidad producida por el consumo prolongado de antimicóticos<sup>(4, 6, 13)</sup>. La erradicación de la infección es la clave para una mejoría, sin embargo, en especial para la onicomicosis no es fácil lograrlo debido a que, es una zona no vascular y de pobre permeabilidad a drogas<sup>(5)</sup>.

En la actualidad es difícil controlar el crecimiento de ciertos microorganismos con el uso de antimicrobianos convencionales, debido a que pueden poseer resistencia, y ante este problema surge la necesidad de emplear nuevas tecnologías para combatir las infecciones bacterianas y fúngicas. Una opción es la nanotecnología, que sintetiza nuevos nanomateriales, principalmente las nanopartículas metálicas que representan una alternativa prometedora para mitigar las infecciones causadas por bacterias u hongos<sup>(13, 14)</sup>. De esta manera, la nanotecnología estudia la materia a una escala nanométrica manipulando las propiedades de una molécula, para obtener nuevas propiedades de los materiales, pero a escala nanométrica. Por consiguiente, las nanopartículas son partículas cuyas dimensiones se encuentran entre 1 y 100 nanómetros <sup>(15)</sup>.

Al introducirse las nanopartículas metálicas cargadas en matrices, sean polímeros sintéticos o naturales se obtienen los nanocompuestos (o materiales funcionalizados con nanopartículas – término conocido como funcionalización)<sup>(16)</sup>.

Por lo tanto, estos nanocompuestos presentarán características fisicoquímicas mejoradas para ser aplicados en distintos campos como el de la salud<sup>(17)</sup>. Las nanopartículas metálicas han sido probadas de manera individual frente a bacterias<sup>(18-20)</sup>, así como también impregnadas con otros materiales tales como los brackets cerámicos<sup>(21)</sup>, textiles y otros materiales, de tal manera que se inhiba el crecimiento de bacterias<sup>(22, 23)</sup>.

Existe información de la efectividad de las nanopartículas metálicas<sup>(24-27)</sup> y de nanopartículas funcionalizadas en medias para combatir dermatofitos<sup>(28)</sup>. En investigaciones relacionadas a las micosis en los pies y calzado, se ha evidenciado el uso de microcápsulas de aceite esencial de hojas de té funcionalizadas en cuero para inhibir infecciones y mal olor en los pies<sup>(29)</sup>. A la fecha, el uso de nanopartículas funcionalizadas en cuero es incipiente<sup>(30)</sup>, por lo cual esta tecnología en el campo médico no es conocida.

De las nanopartículas usadas, el óxido de zinc posee propiedades antimicrobianas, lo cual ha sido demostrado sobre bacterias<sup>(18, 19, 31, 32)</sup>, no obstante, son escasas las investigaciones sobre el efecto de estas partículas y de nanopartículas funcionalizadas sobre dermatofitos.

Considerando que, una persona usa calzado por largas horas al día, con factores como la humedad, temperatura adecuada y falta de ventilación del pie, conlleva a que proliferen mohos, levaduras y bacterias. Adicionalmente, los hongos del pie son difíciles de eliminar, debido probablemente al tratamiento empírico, automedicación, y a la disminución de la capacidad inmune frente a este proceso infeccioso<sup>(11, 33)</sup>. Una alternativa para el cuidado preventivo del pie frente a la microbiota patógena podría ser el uso de cuero funcionalizado con nanopartículas como agentes antimicrobianos.

En el Perú, no se han evidenciado trabajos relacionados a esta temática por lo que se planteó contestar a la siguiente pregunta de investigación: ¿Es factible controlar la microbiota fúngica patógena pédica mediante cuero funcionalizado con nanopartículas de óxido de zinc? Por lo tanto, el objetivo general de este trabajo fue determinar la acción del cuero funcionalizado con nanopartículas de óxido de zinc en el control de la microbiota fúngica patógena pédica. Para ello se

utilizaron nanopartículas de óxido de zinc, así como cuero funcionalizado con nanopartículas de óxido de zinc, sintetizadas y producido respectivamente, en la Universidad Nacional de Ingeniería. Ambos materiales fueron caracterizados por técnicas de difracción de rayos X (XRD) y microscopía electrónica de barrido (SEM).

Los objetivos específicos desarrollados han permitido el estudio de la microbiota fúngica cultivable causante de micosis en los pies, identificándose las cepas de hongos mediante técnicas moleculares como PCR y secuenciación molecular, utilizando además, la base de datos NCBI (Centro Nacional para la Información Biotecnológica).

Asimismo, durante el desarrollo del experimento, se logró estandarizar una metodología factible de realizar en nuestro laboratorio. A través de esta técnica se determinaron las concentraciones de nanopartículas de óxido de zinc que controlan el crecimiento de los hongos patógenos aislados de los pies, y se evaluó la actividad del cuero funcionalizado con nanopartículas de óxido de zinc sobre los hongos patógenos aislados de los pies.

La aplicación de nanomateriales funcionalizados en soportes como cuero, le brinda un valor agregado, sin embargo, la búsqueda de materiales que controlen a patógenos es incipiente sobre todo en la industria del calzado que busca crear calzado que controle microorganismos contaminantes y patógenos importantes en salud.

## II. ESTADO DEL ARTE

### 2.1. BASES TEÓRICO-CIENTÍFICAS

#### 2.1.1. La microbiota fúngica del pie en salud y enfermedad

La microbiota del pie, ha sido examinada desde dos aspectos, en pie enfermo, y en pie sano. Findley et al.<sup>(34)</sup> han mostrado que la microbiota fúngica de los pies es diversa, y en personas sanas, el talón de la planta del pie el sitio con más hongos (riqueza media de ~80 géneros) seguido de otros sitios del pie como los dedos del pie y la uña de los dedos (~60 y ~40 géneros, respectivamente). De los géneros encontrados en la planta del pie, hay representantes de *Malassezia*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Epicoccum*, entre otros. Especies de *Candida* como *tropicalis*, *parapsilosis*, y *orthopsilosis*, y especies de *Cryptococcus* como *flavus*, *dimennae*, y *diffluens*, que son consideradas como microbiota normal, son posibles patógenos en heridas de pacientes inmunocomprometidos. Además, el talón plantar, la piel de los dedos del pie y la uña del pie, son sitios comunes de enfermedad fúngica humana recurrente, que puede ser recalcitrante al tratamiento<sup>(34)</sup>.

En el plano patológico, la microbiota fúngica causante de micosis está representada por los dermatofitos, que causan una infección denominada dermatofitosis. Los dermatofitos tienen capacidad de invadir la piel y sus anexos, ricos en queratina, siendo clasificados en tres géneros anamórficos, *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton*<sup>(35, 36)</sup>. Los dermatofitos que infectan humanos, pueden causar infección en animales, se transmiten por contacto directo y pueden ocurrir en personas de cualquier edad<sup>(37)</sup>, pudiendo causar

infecciones crónicas, las que son difíciles de resolver espontáneamente<sup>(38)</sup>. Entre las infecciones por tiña, la tiña corporis, tiña cruris, tiña pedis y onicomicosis son los tipos más predominantes<sup>(37)</sup>.

La tiña del pie (*Tinea pedis*), también llamada pie de atleta, es la infección de los dermatofitos en los pies, especialmente los dedos y la región intertriginosa, siendo ésta última la más frecuente. Los síntomas de esta manifestación son maceración, descamación y fisuras, principalmente entre el cuarto y quinto dedo<sup>(35, 37)</sup>. Otra presentación común es hiperqueratósico crónico, con finas escamas en las plantas, talones y costados del pie<sup>(35)</sup>. En la tiña de las uñas (*Tinea unguium*), el dermatofito invade la capa córnea, ya sea, una infección subungueal invasiva (distal y proximal) y la micótica blanca superficial (leuconiquia trichophytica). En el último, el hongo infecta la capa superficial de la uña<sup>(17, 35, 38)</sup>.

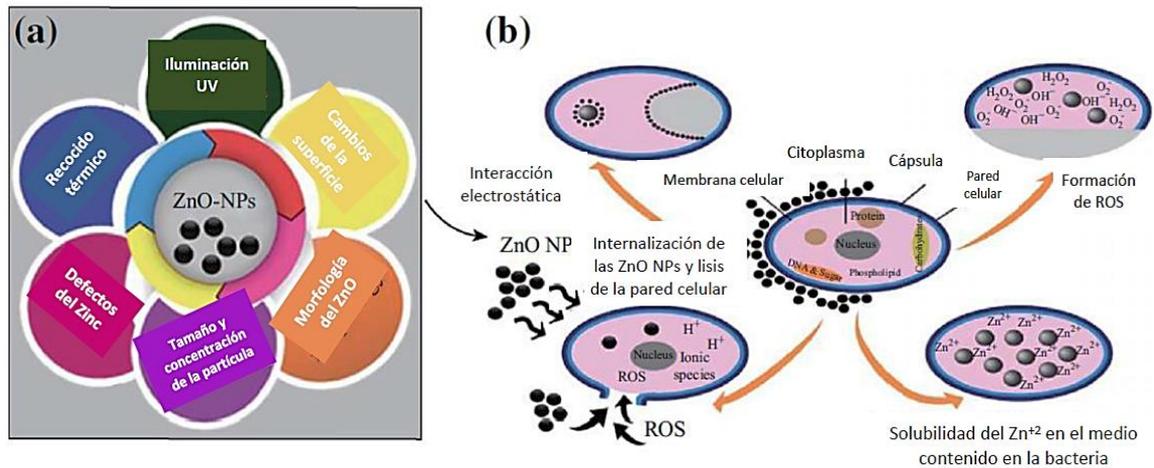
Se ha señalado que la infección fúngica de los pies es común, siendo la prevalencia de infección de la uña de los dedos (*Tinea unguium*) cercana a 3%, y de la piel del pie (*Tinea pedis*) alrededor del 15%. De esto, el 60% de los casos son debidos a *Trichophyton rubrum*, 25% debido a *Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale*, menos del 10% a *Epidermophyton floccosum*, y alrededor del 5% de los casos es infección mixta<sup>(39)</sup>. Una revisión realizada por Gupta et al.<sup>(6)</sup>, informa que en los países del oeste el 80-90% de los casos de onicomicosis se deben a dermatofitos, con el 5-17% debido a levaduras y el 2-3% a hongos no dermatofitos. En los países del sur de Europa el 40-68% de los casos son causados por dermatofitos, y el 21-55% a levaduras. En países de Asia y del Este medio, el 40-48% de los casos son debidos a dermatofitos y el 43-46% a levaduras. Mientras que en África las infecciones de onicomicosis son ocasionadas a levaduras<sup>(6)</sup>.

### 2.1.2. La nanotecnología

La nanotecnología es una nueva ciencia que hace uso de los materiales sólidos a escala nanométrica, llamadas nanopartículas (NPs), las cuales pueden crearse y diseñarse con características específicas que permitan crear productos innovadores, así como aportar soluciones a un problema de la sociedad<sup>(15, 16)</sup>. Las NPs pueden ser obtenidas por varias metodologías, ya sea física<sup>(11, 29)</sup>, química (síntesis asistida por el uso de polioles)<sup>(20)</sup> o biológica denominada síntesis verde<sup>(18, 40, 41)</sup>. Las nanopartículas inorgánicas, cuya estructura exhibe nuevas y mejores propiedades físicas, químicas y biológicas, es debido a su tamaño a nanoescala, lo cual ha provocado su interés <sup>(15, 42)</sup>.

Cuando se aplican las nanopartículas sobre los microorganismos, se produce un proceso antibacteriano que, inicialmente se da a través del contacto con la pared celular del microorganismo<sup>(36)</sup>. Esto crea interacciones electrostáticas y liberación de iones que alteran la permeabilidad celular<sup>(13)</sup>, facilitando la entrada de las nanopartículas e interfiriendo con los procesos de crecimiento celular<sup>(18)</sup>, produciendo disrupción de la pared celular y pérdida del contenido celular<sup>(13, 17)</sup>. En la Figura 1 se muestran los factores estructurales y fisicoquímicos, que influyen y afectan la actividad de las NPs de ZnO y consecuentemente tendrán un impacto potencial sobre el mecanismo de toxicidad resultante.

El efecto antibacteriano se realiza debido a las características de las nanopartículas como son, carga de las nanopartículas, solubilidad, tamaño, morfología y área superficial específica<sup>(26, 27, 43)</sup>, y este efecto puede verse incrementado por la dosis empleada y el tiempo de tratamiento<sup>(27, 36)</sup>. Adicionalmente, se ha mencionado que, las nanopartículas exhiben una actividad no específica, por lo que el desarrollo de resistencia contra ellas es muy bajo<sup>(27)</sup>.



**Figura 1** Correlación entre la influencia de los parámetros esenciales de las nanopartículas de ZnO sobre la respuesta antibacteriana (a) y los posibles mecanismos de la actividad antibacteriana de las NPs-ZnO (b) (Adaptado de Sirelkhatim et al.<sup>(42)</sup>).

Dobrucka, Długaszewska y Kaczmarek<sup>(18)</sup> han demostrado, que la mayor resistencia de los hongos hacia las nanopartículas de ZnO, en comparación a las bacterias, no solo radica en las diferencias de la estructura de la pared celular, sino que los hongos son menos sensibles a las especies reactivas de oxígeno (ROS). Por otro lado, la histidina muestra un efecto inhibitorio sobre la toxicidad mediada por ZnO en cultivos de *C. albicans*, y esto explicaría el papel que tienen las ROS en la destrucción de *C. albicans*<sup>(44)</sup>.

## 2.2. ANTECEDENTES

### 2.2.1. Microbiota fúngica patógena del pie

Malta-Purim et al.<sup>(45)</sup>, observaron que la tiña del pie se diagnosticó con mayor frecuencia entre individuos no deportistas, y la microbiota fúngica estuvo compuesta por *Trichophyton rubrum* (40%), *Trichophyton mentagrophytes* (36.4%) y *Candida spp* (20%). Ilkit y Durdu<sup>(3)</sup>, realizan una revisión donde exponen que ciertos grupos ocupacionales están

expuestos a un alto riesgo de infección a pie de atleta, con un 72% en mineros, 31% en maratonistas, 58% de soldados, y de 29.5% de personas que acuden a mezquitas. Además, la exposición a traumas, zapatos cerrados, sudor y áreas comunes predisponen a que en estos grupos se incremente la incidencia de *tinea pedis*.

En América del Sur, Mazza et al.<sup>(12)</sup> reportaron 3966 casos de dermatofitosis entre 2002 y 2007, en 31 municipios de Buenos Aires, siendo *tinea unguium* la forma clínica más común (51.83%) mientras que *tinea pedis* estuvo en 6.77%. La especie más común fue *Trichophyton rubrum* (42.03%), encontrándose asociación entre zonas urbanas y la presencia de *T. rubrum* y *T. mentagrophytes*. En Paraguay, las dermatofitosis están distribuidas en *tinea corporis* (60%), *tinea pedis* (17.3%), *tinea faciei* (11.1%), *tinea cruris* (3.2%) y con un 8.4% otras localizaciones. Las especies más frecuentes fueron *T. rubrum* (70%), *Microsporum canis* (17.9%), *M. gypseum* (5.8%) *T. mentagrophytes* (4.7%) y *T. tonsurans* (1.6%), observándose que en adultos predominan las infecciones por *T. rubrum* (43.6%)<sup>(46)</sup>. Mientras que, en Valparaíso, Chile, durante 2007-2009, se diagnosticó micosis superficial en 1004 pacientes (todas las edades), siendo la lesión más común la onicomicosis (58.1%), seguida por *tinea pedis* e *interdigitale* (16.3%). Entre los dermatofitos, el más predominante fue *T. rubrum* (78.9%), y las especies de *Candida* (95.4%) predominaron en onicomicosis<sup>(8)</sup>.

En países más tropicales, como Colombia, Folleco y Gonzales<sup>(33)</sup> informaron que entre enero de 2008 y diciembre de 2010, se recolectaron muestras cutáneas y de uñas de 136 pacientes del Cauca, aislándose *Trichophyton interdigitale* (12.5%), *Trichophyton rubrum* (8.8 %) y *Candida albicans* (7.4 %), anatómicamente los pies (35.2 %) y la uña del dedo hallux (22.7 %) fueron los más afectados. Asimismo, Villanueva, Diaz, y Luna<sup>(9)</sup>, en Cali, determinaron los agentes causales de la onicomicosis en 113 pacientes en un hospital de tercer nivel. De 56 pacientes con infección micótica, el 44.2 % presentó onicomicosis (distal 65 %), siendo *Candida* spp el agente causal en 68.9% de los pacientes.

Del mismo modo, Sabogal et al.<sup>(47)</sup>, caracterizaron la micosis en pies en pacientes de un centro de referencia de Bogotá entre 2011 y 2016. Se incluyeron 305 pacientes, de los cuales el 82% vivían en zona urbana. La forma clínica común fue la micosis interdigital, y el 35 % de los casos presentaron simultáneamente *tinea pedis* y onicomycosis. El 95.2% de los aislamientos correspondió a dermatofitos<sup>(47)</sup>.

En Brasil, Heidrich et al.<sup>(7)</sup> reportaron la prevalencia de micosis durante el periodo de 1996-2011, en un área metropolitana de Porto Alegre, en 9048 casos. La ocurrencia de dermatofitos fue de *Trichophyton rubrum* (59.6%), *Trichophyton interdigitale* (34%), y < 2.6% para *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum*, *M. gypseum* y *Trichophyton tonsurans* (0.9%). *Tinea unguium* se presentó en el 48.5% de los casos, seguida por *tinea pedis* (33.1%). En Venezuela, Capote et al.<sup>(10)</sup> realizan una investigación retrospectiva durante el período 2001-2014, en el Instituto Nacional de Higiene de Caracas, procesando 3228 resultados. Del total de muestras, el 34% fueron positivas, de las cuales el 79.5% correspondió a dermatofitos, 10.9% a levaduras, 5.1% a hongos no dermatofitos y 4.5% a *Malassezia* spp. El Complejo *Trichophyton rubrum* tuvo mayor prevalencia (70.1%), Complejo *T. mentagrophytes* (15.1%), *Microsporum canis* (9.4%) y *Epidermophyton floccosum* (4%). La *tinea unguium* se presentó en el 66.8% y la *tinea pedis* en 16.4% y *tinea capitis* en 8.1%<sup>(10)</sup>.

En el Perú, trabajos publicados en revistas son escasos, pudiendo mencionar el de Romero y Guevara<sup>(48)</sup>, realizado en alumnos de un colegio primario de Lima, encontraron infección interdigital en pies (47%), seguida de la cara (29.4%) y el tronco (19.15%), siendo *T. mentagrophytes* (48.5%) el más aislado, seguido de *T. rubrum* (26.5%). Asimismo, Flores et al.<sup>(49)</sup> identificaron infecciones fúngicas superficiales en 257 pacientes de Lima y Callao, resultando que los hombres fueron más afectados que las mujeres (64% vs. 36%). *Tinea pedis* fue observada en 62.6%, mientras que onicomycosis en 24%, y *T. rubrum* fue identificado en 86 casos (59.7%)<sup>(49)</sup>. Bejar et al.<sup>(11)</sup>, en un estudio

retrospectivo de 30 años de estudio de infecciones micóticas en el Instituto de Medicina Tropical Daniel A. Carrión, informan que las dermatomicosis más frecuentes, en el grupo etario de 16 a 30 años, entre hombres y mujeres, fueron las onicomicosis (43.6%), y los agentes patógenos con mayor prevalencia fueron *Trichophyton rubrum* (33.2%), *Candida albicans* (15.3%), *Candida no albicans* (11.8%), *Trichophyton mentagrophytes* (9.4%), y *Malassezia* spp (9.1%).

En diabéticos, un estudio realizado en A Coruña, mostró que de 19 pacientes con infección fúngica (22.9%), el 31,6% presentó *tinea pedis* y el 78.9% presentó *tinea unguium*, mientras que 2 pacientes (10.5%) presentaron simultáneamente ambas patologías, aunque no menciona los microorganismos implicados<sup>(50)</sup>. Con aumento de la incidencia de infecciones por hongos, resistencia microbiana a los medicamentos existentes (el polieno anfotericina B, y los azoles antifúngicos como clotrimazol, econazol nitrato y fluconazol), el costo y los efectos secundarios, hay la necesidad de un fármaco antimicótico que pueda superar todas estas limitaciones<sup>(17, 36, 37)</sup>. Una de las alternativas el uso de la nanotecnología, con su diversa gama de nanopartículas metálicas, debido a que son estructuras funcionalizables, frente a limitaciones de la terapéutica antimicrobiana<sup>(4, 16)</sup>.

Se han reportado infecciones en humanos causadas por hongos oportunistas, aunque en algunas ocasiones han causado infección en personas inmunocompetentes. Entre ellos se encuentra el género *Trichosporon* que alberga a un grupo de levaduras que pueden causar infecciones invasivas en pacientes inmunocomprometidos<sup>(51)</sup>. Cepas del grupo *Chaetomium* causan infección en piel, ojos, infección cerebral y peritonitis<sup>(52)</sup>, mientras que *C. globosum* ha sido referido de producir onicomicosis<sup>(53)</sup>. *Fusarium* ha sido asociado principalmente a casos de queratitis, sin embargo, puede producir infecciones superficiales y sistémicas<sup>(54, 55)</sup>. Casos de neumonía y queratitis han sido atribuidos a especies de *Achrophialophora*<sup>(56, 57)</sup>.

## 2.2.2. Control del crecimiento de dermatofitos por nanopartículas y nanomateriales

En la siguiente tabla, se describen los estudios que han empleado las nanopartículas utilizadas frente a dermatofitos y otros hongos, los cuales han demostrado actividad, con diferentes enfoques experimentales.

**Tabla 1** Acción de Nanopartículas metálicas frente a diversos microorganismos

Autor	NPs – Dosis	Microorganismo	Resultado
El-Diasty et al. <sup>(25)</sup>	ZnO Dosis: 5, 10, 20, 30 and 40 mg/ml	<i>T. mentagrophytes</i> , <i>Microsporum canis</i> , <i>Candida albicans</i> y <i>A. fumigatus</i> , aislados de animales.	La mayor inhibición en la terminación de todos los hongos testados fue observada en la más alta concentración de nanopartículas de ZnO (40 mg/ml)
Amiri et al. <sup>(32)</sup>	CuO Dosis: 1-1000 µg/ml	<i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> y <i>C. glabrata</i> , de cavidad oral	El valor de la MIC50 de la NPs de CuO se determinó en 1000 µg/ml, aunque fue menor para otras especies microbianas cariogénicas.
Ishida et al. <sup>(13)</sup>	Ag, síntesis verde. Dosis: 0.1 to 54 µg/ml	<i>Candida</i> y <i>Cryptococcus</i>	Gran actividad antifúngica contra los géneros <i>Candida</i> y <i>Cryptococcus</i> , con concentración mínima inhibitoria de valores ≤ 1.68 µg/ml.
Dobrucka, Dlugaszewska y Kaczmarek <sup>(18)</sup>	ZnO, síntesis verde. Dosis: 20 a 2590 Mm	<i>C. albicans</i> ATCC 10231, <i>A. niger</i> ATCC 16404, <i>T. rubrum</i> ATCC 28188, y cepas clínicas de <i>C. albicans</i>	Los valores de MIC para la actividad antifúngica estuvo en el rango de 80 µM a 120 µM, mientras que para bacterias fue de 20 a 120 µM
Kadhim, Haleem, Abbas <sup>(26)</sup>	CuO Dosis: 25, 50 y 100 µg/ml	<i>T. rubrum</i>	CuO NPs a 100 µg/ml mostraron una alta inhibición de crecimiento en <i>T. rubrum</i> .
George et al. <sup>(27)</sup>	ZnO, Ti <sub>2</sub> O Dosis: 12µg/ml	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Trichophyton</i> , <i>Fonsecaea</i> , <i>A. flavus</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Ramichloridium schulzeri</i> y <i>Cladosporium</i>	Ambas nanopartículas de óxido de Zinc y dióxido de Titanio exhibieron una actividad antifúngica considerable, a una concentración de 12µg/ml, contra todos los hongos testados.

...continuación Tabla 1

Autor	NPs – Dosis	Microorganismo	Resultado
Ayatollahi Mousavi, Salari, Hadizadeh <sup>(24)</sup>	Ag Dosis: 0, 40, 80, 120, 160, 170 and 200 µg.mL <sup>-1</sup>	<i>Microsporium canis</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , and <i>Microsporium gypseum</i> .	La concentración mínima inhibitoria (MIC) en <i>M. canis</i> , <i>T. mentagrophytes</i> y <i>M. gypseum</i> fue de 200, 180 y 170 µg.ml <sup>-1</sup> , respectivamente. Estas cepas mostraron MIC de 25, 100 y 50 µg.ml <sup>-1</sup> para Griseofulvina.
Pereira et al. <sup>(41)</sup>	Ag, síntesis biológica. Dosis: 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0 and 7.5 µg.mL <sup>-1</sup>	<i>Trichophyton rubrum</i>	Las Chem-AgNP y las Bio-AgNP (media geométrica de MIC=1.19 y 2.89 mg.ml <sup>-1</sup> , respectivamente) exhibieron una inhibición más fuerte que el fluconazol (geométrica media de los valores de MIC = 5.65 µg.ml <sup>-1</sup> ).
Lipovsky et al. <sup>(44)</sup>	ZnO Dosis: 0.01 a 1 mg.mL <sup>-1</sup> .	<i>Candida albicans</i>	El número de células viables disminuyó al aumentar la concentración de ZnO. A 0,1 mg.ml <sup>-1</sup> se redujo el 97,5%, mientras que a 1 mg.ml <sup>-1</sup> se observó una muerte casi completa del 99,5%.
Ronávari al. <sup>(40)</sup>	et Ag y Au, síntesis verde. Dosis: AgNP (10 o 30 µg/mL) AuNP (10 o 30 µg/mL y después 300 µg/MI	<i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton</i> , <i>Candida</i> y <i>Cryptococcus neoformans</i>	El extracto libre de células de <i>P. rhodozyma</i> es un material adecuado para la síntesis de AgNP y AuNP biogénicos. Las nanopartículas son potentes contra los dermatofitos que causan micosis cutánea y las especies de levaduras oportunistas, y no son tóxicas para los queratinocitos humanos.

Son escasas las investigaciones acerca del uso de nanomateriales empleados en calzado, y de la actividad antifúngica sobre la microbiota patógena del pie. Sin embargo, se destacan algunas investigaciones realizadas con nanomateriales como son textiles funcionalizados con nanopartículas metálicas y su actividad antimicrobiana mohos

ambientales y dermatofitos. En la siguiente Tabla se detallan esos hallazgos.

**Tabla 2** Materiales funcionalizados con Nanopartículas y su actividad antimicrobiana

Autor	Nanopartícula – funcionalización	Microorganismos o Situación	Resultados
Zatcoff, Smith, Borkow <sup>(28)</sup>	CuO – medias	<i>Tratamiento de tinea pedis</i>	En 9 días, todos los pacientes mostraron mejoría o resolución del eritema, fisuras, erupciones vesiculares, descamación, ardor y picazón. A los 40 días hubo mejoría o resolución de los síntomas. No se observaron reacciones adversas al usar calcetines impregnados con óxido de cobre.
Bao et al. <sup>(58)</sup>	Emulsión de poliacrilato/ZnO en cuero	<i>Aspergillus flavus</i>	El diámetro de la zona de inhibición de la matriz de cuero acabada con emulsión de poliacrilato y emulsión compuesta de poliacrilato/ZnO de tipo columna hueca fue de 39,7 mm y 45,3 mm, respectivamente.
Liu et al. <sup>(59)</sup>	Emulsión de poliacrilato/ZnO	<i>Aspergillus flavus</i>	El cuero acabado con poliacrilato/ZnO muestran un excelente comportamiento antimicrobiano. Casi no había colonias de <i>Aspergillus flavus</i> creciendo en el cuero acabado con nanocompuestos de poliacrilato/ZnO.
Lkhagvajav et al. <sup>(30)</sup>	Recubrimiento de nano plata (nAg) en cuero	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Candida albicans</i> y <i>Aspergillus niger</i>	Se demostró que > 20 ug/cm <sup>2</sup> de nAg en las muestras de cuero fueron efectivas contra todos los microorganismos probados. Las pruebas cuantitativas mostraron que las muestras de cuero tratadas con 20 ug/cm <sup>2</sup> de nAg demostraron la mayor actividad antibacteriana contra <i>E. coli</i> con una eliminación de bacterias del 99,25%, mientras que una concentración de 10 ug/cm <sup>2</sup> de nAg en el cuero fue suficiente para exhibir el excelente porcentaje reducción frente a <i>S. aureus</i> del 99,91%.

Aunque la tecnología del trabajo con nanopartículas aparentemente es nueva, en nuestro país dicha tecnología solo ha sido estudiada en textiles, por lo que es innovador probar el efecto de las nanopartículas de zinc funcionalizado en cuero. Con esto, se tendría una base para futuras investigaciones en tecnología de calzado dirigido a combatir infecciones en pies.

### 2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- a) Microbiota: La microbiota cutánea comprende a las bacterias, arqueobacterias, hongos, virus, y ácaros, aunque varía según la parte del cuerpo y entre individuos<sup>(1)</sup>.
- b) Nanopartículas: Por consiguiente, las nanopartículas son partículas cuyas dimensiones se encuentran entre 1 y 100 nanómetros<sup>(15)</sup>.
- c) Nanomateriales: polímeros sintéticos o naturales funcionalizados con nanopartículas metálicas u otros. Los nanocompuestos (o materiales funcionalizados), poseen características fisicoquímicas mejoradas para ser aplicados en distintos campos como el de la salud<sup>(17)</sup>.
- d) Dermatofitos: Son un grupo de hongos, que causan una infección denominada dermatofitosis. Los dermatofitos tienen capacidad de invadir la piel y sus anexos, ricos en queratina, siendo clasificados en tres géneros anamórficos, *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton*<sup>(35, 36)</sup>.
- e) Levaduras: Son organismos eucariotas unicelulares que forman parte de los hongos. A menudo son patógenas y pueden causar infecciones severas en humanos, siendo *Candida albicans* la levadura más común de infecciones fúngicas en humanos<sup>(60)</sup>.
- f) Metagenómica: Es una técnica que se basa en el uso de métodos moleculares para el estudio de la diversidad de los genomas

microbianos. Generalmente utiliza el gen rRNA 16S para bacterias y el gen ITS1-ITS4 para hongos<sup>(61)</sup>.

- g) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Es una reacción que depende de reacciones de ciclaje térmico, que comprende ciclos repetidos de calentamiento y enfriamiento. Durante estos ciclos, el molde de DNA es desnaturalizados repetidamente y replicado enzimáticamente<sup>(62)</sup>.
- h) Ácido Desoxiribonucleico (DNA): Polímero orgánico que contiene la información genética de los organismos, y que es transmitida de generación en generación. La molécula de DNA es ampliamente utilizada en la mayoría de aplicaciones de biología molecular como PCR, Southern blotting, Fingerprinting, reacciones de digestión y secuenciamiento<sup>(62)</sup>.
- i) Primers: Secuencias cortas de DNA sintético, que contienen secuencias complementarias al DNA molde, y junto con el buffer de reacción, nucleótidos (dNTPs) y enzimas polimerasa facilitan la amplificación selectiva y repetida<sup>(62)</sup>.
- j) ITS: Internal transcribed spaciator, las regions ITS se encuentran entre el DNA ribosómico (rDNA) 18S y 5.8S rDNA (referido a ITS1) y entre el 5.8S rDNA y 28S rDNA (referido a ITS2) en el genoma eucariota y son altamente variables. Debido a esto, proveen suficiente información para la clasificación de microorganismos eucariotas (hongos y levaduras) a nivel de especie<sup>(63)</sup>.
- k) Secuenciamiento: Es un conjunto de metodologías que permiten decodificar los ácidos nucleicos, determinando el orden de los nucleótidos, lo que permite la identificación de géneros y de especies microbianas. Es aplicable a la decodificación de algunos genes hasta un genoma completo<sup>(62)</sup>.

### **III. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1. TIPO DE ESTUDIO Y DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS**

Estudio aplicado, transversal, prospectivo, con enfoque cuantitativo, experimental.

La hipótesis se contrastó por el diseño factorial (cepas de hongos x concentraciones de nanopartículas y/o cuero funcionalizado).

#### **3.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO**

La población estuvo constituida por la Microbiota fúngica patógena de los pies, y la muestra la constituyeron los hongos patógenos aislados de los pies.

Se consideró como Unidad muestral a cada Hongo que pertenece a los géneros *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Candida* u otro que sea considerado como patógeno.

Cada hongo fue aislado de las zonas que presentaron lesión visible: zona plantar, interdigital y de uña del pie de personas mayores de 25 años de la ciudad de Tumbes.

#### **3.3. MÉTODOS, TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Los métodos están referidos a la obtención de la muestra para el aislamiento de la microbiota fúngica cultivable del piel, constituida por el conjunto de hongos aislados, en los que se realizó el test.

Si bien los sujetos de estudio son los hongos, éstos fueron obtenidos de participantes voluntarios del estudio. A los participantes del estudio se les explicó el objetivo del estudio, así como de la metodología a aplicar para obtener las muestras (principio de beneficencia). De las muestras se obtuvo la microbiota fúngica patógena. A los participantes voluntarios se les presentó el consentimiento informado, el cual firmaron si estuvieron de acuerdo en incluirlos en el estudio, manteniéndose la confidencialidad en todo momento (principio de respeto por las personas) (Anexo 1).

En el estudio se incluyó a personas mayores de 25 años de Tumbes, con lesión similar a micosis, que no hayan realizado la aplicación de cremas antifúngicas por 5 días anteriores a la toma de la muestra. No se excluyó a aquellos que se aplicaron crema hidratante o talco. Las pruebas se realizaron con los hongos aislados que fueron aislados de cualquiera de las zonas del pie muestreadas, y que son clasificados como patógenos.

No se realizó la toma de muestra a las personas que estuvieron recibiendo medicación, o que se colocaron crema antifúngica en los pies. Asimismo, a las personas que presentaban herida abierta o que hayan tenido lesión ulcerativa previa en los pies, a menores de 25 años, y aquellas que no desearon participar.

### **3.3.1. Obtención de la muestra**

Las muestras se obtuvieron de las zonas plantar, interdigital y de uña, de las cuales se realizó el cultivo. Cada muestra fue obtenida de manera aséptica por hisopado, raspado<sup>(48)</sup> y por cinta adhesiva<sup>(64)</sup> de lesión observable en piel, y por raspado en uñas<sup>(48)</sup>. Las muestras colectadas fueron colocadas en recipientes estériles herméticos, y transportadas a temperatura entre 2 a 8 °C al Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias de la Salud (FCS) de la Universidad Nacional de Tumbes.

### **3.3.2. Identificación de los hongos cultivables**

Las muestras fueron sembradas en agar sabouraud, e incubadas por 3 a 7 días para su aislamiento. Se realizó la obtención de cultivos puros para la identificación macroscópica y microscópica. Las cepas de hongos fueron sembradas en tubos con agar sabouraud y luego mantenidas a temperatura de refrigeración (8 a 10 °C) hasta su uso. Para la identificación molecular se realizó la extracción de DNA de cada cepa, y con el DNA obtenido se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando primers para las secuencias ITS1 e ITS4, siguiendo las condiciones de PCR según White et al.<sup>(65)</sup>. Los productos de PCR fueron secuenciados en el Laboratorio EcoBiotech de la ciudad de Trujillo, y luego analizados con el software libre Blast Nucleotide del NCBI (National Center for Biotechnology Information) para su identificación.

### **3.3.3. Obtención de las nanopartículas de zinc y del cuero funcionalizado con nanopartículas de óxido de zinc**

Las nanopartículas, así como el cuero funcionalizado con las nanopartículas fueron proporcionadas por el Dr. José Solís V., de la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI). Las muestras de nanopartículas de zinc sintetizadas y el cuero funcionalizado se caracterizaron por DXR (Difracción de rayos X) y microscopía electrónica de barrido (SEM). Las muestras de cuero fueron funcionalizadas con tres concentraciones de nanopartículas cortadas en círculos de 1 cm de diámetro, o en cuadrados de 1 cm<sup>2</sup>.

El proceso completo de funcionalización se llevó a cabo en el botal de curtiembre con una velocidad de rotación de 15 rpm. Como materia prima se utilizó cuero wet-blue, y el proceso se resume en la siguiente tabla. La caracterización se realizó por SEM y Espectroscopía de Energía Dispersada (EDS).

**Tabla 3.** Proceso de funcionalización del cuero wet-blue con ZnO

Proceso	%Peso	Producto	Rodar (15 rpm)
<b>Lavado</b>	200%	Agua de 35 °C	10 min
Escurrido			
<b>Neutralizado</b>	100%	Agua de 35 °C	
	0.5%	Formiato de sodio	20 min
	1%	Bicarbonato de sodio (1:10)	45 min
			pH=5.0
Escurrido y lavado			
<b>Recurtido</b>	150%	Agua de 45 °C	
		Recurtiente compacto (Kroatán FS)	90 min
	1%	NP's de ZnO	
Escurrido y lavado			
<b>Engrase</b>	150%	Agua de 65 °C	
	10%	Aceite sintético (F61.46L)	45 min
	0.2%	Acido fórmico (1:10)	15 min
Escurrido y lavado			
Secado al aire libre			

### 3.3.4. Determinación de la actividad antifúngica del óxido de zinc

La actividad anti-dermatofitos fue probada en placas de agar Sabouraud conteniendo nanopartículas de óxido de zinc con concentración final de 0.5 mg/ml, 0.75 mg/ml y 10 mg/ml. Del dermatofito de crecimiento de 5 días, se obtuvieron esporas, y la suspensión preparada tuvo una concentración de  $1 \times 10^5$  UFC/ml (esporas), y se colocó un volumen de 5 ul de la suspensión en el centro de la superficie del agar sabouraud. Posteriormente, las placas se incubaron durante 13 días a 32 °C, pasado ese tiempo, se midió el diámetro de la colonia del hongo frente a un testigo, crecido en medio de cultivo sin aplicación de nanopartículas<sup>(66)</sup>. Todos los experimentos se realizaron con tres réplicas.

La actividad de las nanopartículas de óxido de zinc frente a las levaduras se realizó en placas con agar Sabouraud, siguiendo el método de Parveen et al.<sup>(67)</sup>. Las levaduras fueron cultivadas por 24 horas a 37 °C, y se realizó una suspensión conteniendo  $1 - 3 \times 10^8$  células/ml (OD = 0.08 - 0.1,  $\lambda = 620$  nm). Se sembró en toda la superficie con ayuda de

un hisopo estéril, y se dejó secar por 5 minutos. Con un sacabocado de 6 mm se realizaron hoyos en el agar, y se colocaron 50  $\mu$ l de nanopartículas de ZnO a concentración 0.5, 0.75, 1.0, 2.0, 5.0, 10 y 50 mg/ml. Se utilizó control de Fluconazol (25  $\mu$ g/ml). Las placas se incubaron por 24 a 48 horas. Se realizó la lectura mediante la medición de los halos de inhibición, y se comparó con el producido por los discos de antimicóticos.

### **3.3.5. Determinación de la actividad antifúngica del óxido de zinc en cuero**

El dermatofito a una concentración de  $1 \times 10^5$  UFC/ml, fue sembrado en la superficie del cuero e incubado en cámara húmeda por 13 días a 32 °C. La lectura se realizó mediante la observación microscópica, en estereoscopio, de crecimiento de micelio sobre el cuero<sup>(59)</sup>. La prueba fue realizada por triplicado.

Para determinar la actividad del cuero funcionalizado sobre las levaduras, se utilizó la metodología de Lkhagvajav et al.<sup>(30)</sup>. En agar Sabouraud se sembró una suspensión de  $10^8$  levaduras/ml mediante hisopado sobre la superficie del agar. Luego se colocaron porciones de 1 cm de diámetro del cuero funcionalizado con diferentes concentraciones de nanopartículas de óxido de zinc (0.8, 1.2 y 2.0 g/l). Se incubaron por 24 a 48 horas, a 35-37 °C. Al final de ese periodo se midió la zona de inhibición. La prueba fue realizada por triplicado.

## **3.4. PLAN DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.**

Se emplearon pruebas estadísticas del paquete Origin 2021.

Se empleó un nivel de 99% de confianza con un  $\alpha=0.01$  para la prueba ANOVA, y un 95% de confianza con un  $\alpha=0.05$  para la prueba de Tukey.

Los valores de los halos de inhibición están expresados como promedio.

Se utilizó ANOVA para las diferentes concentraciones y especies de hongos patógenos.

### **3.5. PRINCIPIOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN**

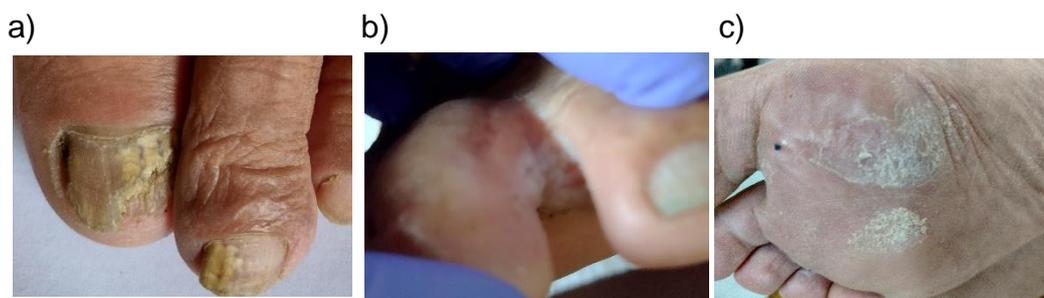
Para la investigación de la microbiota con la cual se ha trabajado, se obtuvieron las muestras de los participantes. El autor reconoce haber respetado los criterios bioéticos de no maleficencia, beneficencia, autonomía y justicia a través del consentimiento informado. Asimismo, se respeta la confidencialidad, y los datos de identificación de los participantes no serán publicados.

Una vez que se identificaron los hongos, a cada participante se les remitió el resultado o fue entregado de forma personal. Se les indicó la búsqueda de tratamiento médico, además se les orientó en prácticas de asepsia para evitar la multiplicación de los hongos en los pies.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. IDENTIFICACIÓN DE HONGOS CULTIVABLES

Se recolectó muestras de la zona plantar, interdigital y uñas del pie con signos de lesión (Figura 2) de 31 participantes. Del cultivo de las muestras en agar Sabouraud, se obtuvo el crecimiento de dermatofitos, mohos y levaduras, sin embargo, dos muestras resultaron negativas. Del análisis bioinformático de las secuencias se identificaron los hongos, utilizando la plataforma Nucleotide del NCBI.



**Figura 2** Zonas de lesión fúngica en los pies de los participantes, a) uñas, b) interdigital y c) zona plantar.

Las lesiones producidas por los hongos en el cuerpo humano son diversas, y en los pies se presenta en la zona interdigital del 3<sup>er</sup>, 4<sup>o</sup> y 5<sup>o</sup> dedo cuya característica es descamación, maceración y la presencia de fisuras. En la planta, talón y costados del pie es característico la aparición de escamas, mientras que en las uñas se observa engrosamiento, cambio de color hacia blanco, negro, marrón, amarillento o morado además de descamación. La presencia de lesión en algunos casos es única, sin embargo, en los casos crónicos simultáneamente se presenta tiña pedis y onicomicosis (6 mujeres y 11 hombres).

De las 31 muestras, 14 provinieron de mujeres, y se aislaron 25 levaduras, 1 dermatofito y 9 mohos, mientras que 17 provinieron de hombres aislándose 34 levaduras, 7 dermatofitos y 4 mohos.

**Tabla 4** Especies de hongos aislados según zona de la lesión en los pies de mujeres y hombres de Tumbes, 2021

Lesión	Mujeres		Hombres	
	Especies de hongo	N° cepas	Especies de hongo	N° cepas
UÑA	<i>Aspergillus sp</i>	1	<i>Acrophialophora sp.</i>	1
	<i>Aspergillus sydowii</i>	2	<i>Aspergillus chavelieri</i>	1
	<i>Aspergillus versicolor</i>	1	<i>Candida albicans</i>	1
	<i>Candida krusei</i>	1	<i>Candida glabrata</i>	2
	<i>Candida parapsilosis</i>	2	<i>Candida krusei</i>	1
	<i>Candida tropicalis</i>	1	<i>Candida parapsilosis</i>	2
	<i>Fusarium keratoplasticum</i>	1	<i>Candida tropicalis</i>	2
	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1	<i>Chaetomium globosum</i>	1
	<i>Trichophyton rubrum</i>	1	<i>Trichophyton interdigitale</i>	2
		<i>Trichophyton rubrum</i>	5	
PLANTAR	<i>Aspergillus sp</i>	1	<i>Candida albicans</i>	1
	<i>Candida glabrata</i>	2	<i>Candida glabrata</i>	2
	<i>Candida parapsilosis</i>	2	<i>Candida krusei</i>	1
	<i>Candida tropicalis</i>	4	<i>Candida parapsilosis</i>	4
	<i>Penicillium sp</i>	1	<i>Candida tropicalis</i>	2
	<i>Trichosporon inkin</i>	1	<i>Trichosporon inkin</i>	1
		<i>Trichosporon debeurmannianum</i>	2	
INTERDIGITAL	<i>Aspergillus sp</i>	1	<i>Candida albicans</i>	1
	<i>Candida catenulata</i>	1	<i>Candida glabrata</i>	3
	<i>Candida glabrata</i>	2	<i>Candida krusei</i>	2
	<i>Candida krusei</i>	2	<i>Candida metapsilosis</i>	1
	<i>Candida parapsilosis</i>	2	<i>Candida parapsilosis</i>	2
	<i>Candida tropicalis</i>	4	<i>Candida tropicalis</i>	5
	<i>Penicillium sp</i>	1	<i>Fusarium penzigii</i>	1
		<i>Trichosporon inkin</i>	1	

En la Tabla 4 se muestran las especies de levaduras, dermatofitos y mohos, las cuales fueron aisladas de participantes de ambos sexos. En

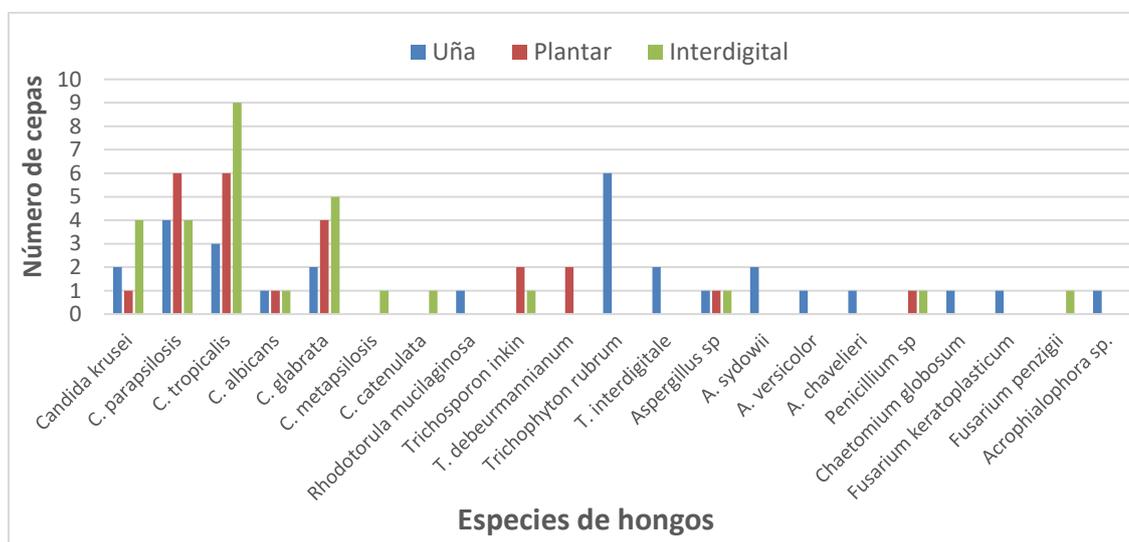
total fueron aislados de uña: 8 dermatofitos del género *Trichophyton*, 8 no dermatofitos de los géneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Acrophialophora* y *Chaetomium*. De la zona plantar se aislaron 2 no dermatofitos de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*, 18 levaduras del género *Candida* y 4 levaduras del género *Trichosporon*. De la zona interdigital se aislaron 3 no dermatofitos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, 25 levaduras del género *Candida* y 1 levadura del género *Trichosporon*. Asimismo, se señala la zona del pie de la cual se aislaron dichas especies de hongos. La identificación de las especies se realizó por PCR utilizando los primers ITS1 e ITS4, y las secuencias genéticas de cada hongo, se compararon con la base de datos del NCBI para su identificación (Anexo 2). Las pruebas estadísticas de ANOVA y Tukey demostraron que hay diferencia estadística entre las especies aisladas, sin embargo, estas especies pueden ser aisladas de cualquiera de las partes del pie muestreadas (Anexo 3 y Anexo 4).

La biodiversidad de hongos en las tres áreas de muestreo, estuvo dominada en el grupo de los hombres<sup>(11, 49)</sup>, sin embargo, muchos factores pueden afectar la prevalencia en hombres y mujeres, como la higiene, actividad ocupacional y la exposición a los agentes contaminantes<sup>(68)</sup>. En relación a los dermatofitos de las especies *Trichophyton rubrum* y *T. interdigitale* fueron aislados solo de las uñas (Figura 3), estos dermatofitos desarrollan en presencia de queratina debido a que poseen actividad queratinolítica<sup>(69)</sup>, y son considerados como patógenos por excelencia de las onicomicosis<sup>(3, 7, 8, 10, 12, 33, 49, 70, 71)</sup>, además son agentes comunes en tinea pedis oculta en pacientes asintomáticos<sup>(72)</sup>. *Trichophyton* fue aislado en su gran mayoría de onicomicosis en hombres, lo cual ha sido asociado previamente<sup>(72)</sup>.

Las levaduras se aislaron de las tres zonas del pie. Las especies de *Candida* fueron aisladas mayormente de la zona interdigital (Figura 3), y en menor proporción de la zona plantar y de uña. El género *Candida*, así como los géneros *Rhodotorula* y *Trichosporon* son parte de la microbiota del pie sano<sup>(34, 51, 69)</sup>, no obstante, en nuestro estudio fueron los

patógenos más comunes, y de acuerdo a otras investigaciones<sup>(8, 9, 11, 33, 70, 71)</sup>, las especies de *Candida* son reconocidas como agentes etiológicos de tinea pedis, interdigital y onicomicosis. Por otro lado, en nuestro estudio se ha informado la presencia de *Trichosporon* en el pie y zona interdigital, y aunque raramente está implicado en onicomicosis<sup>(70, 73)</sup>, se propone que pudiera jugar algún rol en tiña del pie y onicomicosis. *Rhodotorula mucilaginosa* fue encontrada en uña (Figura 3, Tabla 4), habiéndose reportado anteriormente en casos de onicomicosis en pacientes inmunocompetentes e inmunocomprometidos.<sup>(73-75)</sup>

Otros géneros de hongos como *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Acrophialophora* y *Chaetomium* también fueron aislados, y excepcionalmente los dos últimos géneros se encontraron solo en las muestras de uña (Figura 3). Estos hongos son saprófitos o patógenos de plantas, y son encontrados en el suelo, por lo tanto, no son agentes comunes de las micosis en pies, principalmente de onicomicosis<sup>(54)</sup>. Se ha reportado que los hongos no dermatofitos tiene una prevalencia del 2.3% de los casos de micosis en pies.<sup>(76)</sup>



**Figura 3** Especies de hongos aislados de lesiones en pie, en zona plantar, interdigital y uña de adultos de Tumbes.

El género *Fusarium* fue aislado en uña y en la zona interdigital, y la onicomycosis no dermatofítica son atribuidas a especies de este género<sup>(68, 77, 78)</sup>, y son los agentes etiológicos no dermatofitos más comunes de onicomycosis en América del Sur<sup>(79)</sup>. *Fusarium* ha sido aislado de piscinas y duchas públicas, y *F. keratinoplasticum* es un patógeno reconocido que habita en las cañerías<sup>(80)</sup>, y ha sido encontrado en onicomycosis<sup>(78)</sup>. *Fusarium penzigii* ha sido asociado a queratitis<sup>(54)</sup>, sin embargo, en este estudio lo hemos encontrado en zona interdigital, por lo cual consideramos que puede comportarse como agente productor de micosis como se reporta a otras especies de *Fusarium* de producir tiña pedis interdigital en inmunocompetentes en Senegal<sup>(81)</sup>. Asimismo, hemos aislado especies del género *Aspergillus* (5/21 casos) principalmente de uña, este dato concuerda con lo mostrado por Bongomin et al.<sup>(82)</sup>, donde reportan que en 42 estudios epidemiológicos los casos de onicomycosis por especies de *Aspergillus* varía entre <1 y 35%, acrecentándose en adultos mayores. Una de las especies aislada fue *A. sydowii*, el cual ha sido reportado de ocasionar onicomycosis en un paciente HIV positivo.<sup>(83)</sup>

*Penicillium* fue aislado de la zona interdigital y zona plantar, aunque es difícil de identificarlo molecularmente, por lo cual la prevalencia es baja, se ha mostrado de estar involucrado en enfermedades de la piel y anexos<sup>(84)</sup>, y en onicomycosis su incidencia fluctúa entre 17 a 30% de los casos<sup>(68)</sup>. Los miembros del género *Acrophialophora* son hongos oportunistas de rápido crecimiento, y están distribuidos en zonas templadas como tropicales, en la literatura no se encuentran casos de micosis en pie producidas por este hongo, no obstante, se ha reportado a *A. fusispora* en queratitis e infección pulmonar, mientras que a *A. levis* en un caso fatal de pneumonia<sup>(56, 57)</sup>. *Chaetomium sp.* desarrolla sobre material celulósico y es un contaminante ambiental<sup>(85)</sup>, y aunque se desconoce la prevalencia en infecciones humanas debido a que la identificación mediante estructuras diagnósticas a menudo falla<sup>(52)</sup>, este hongo ha sido asociado a onicomycosis tanto en individuos inmunocompetentes como inmunocomprometidos.<sup>(53)</sup>

## 4.2. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DEL OXIDO DE ZINC

Para esta parte se realizó la obtención de las NPs de ZnO por método químico, su caracterización por microscopía y por difracción de rayos X, para finalmente ser enfrentadas a levaduras y a los dermatofitos y no dermatofitos aislados.

### 4.2.1. Obtención y caracterización de las nanopartículas de óxido de zinc

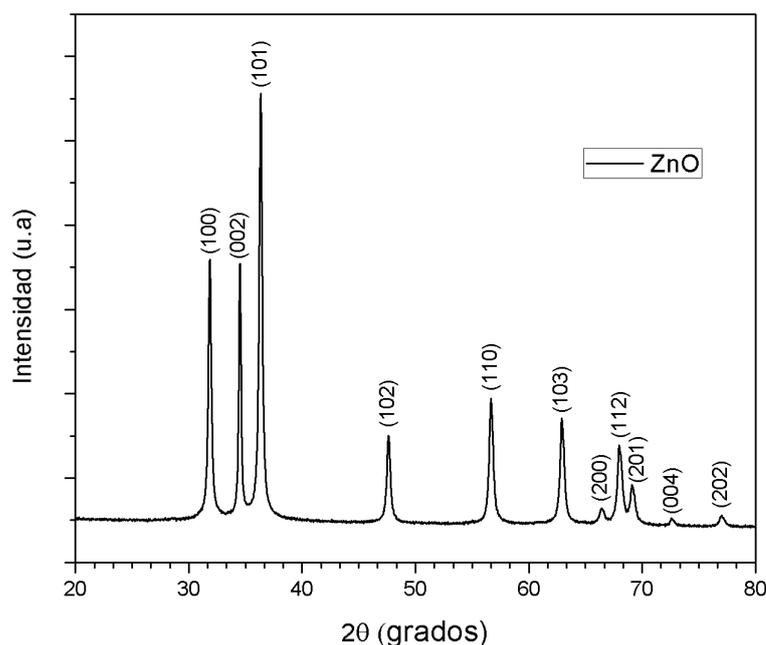
Las nanopartículas de ZnO se sintetizaron por el método de precipitación rápida, utilizándose como precursor el nitrato de zinc hexahidratado  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  al 99% de pureza (®Himedia) y como agente precipitante el hidróxido de sodio NaOH al 99% de pureza (®Sharlau). La temperatura de reacción fue de 30 °C. La muestra obtenida se secó a 80 °C por 24 h y luego fue molida (Figura 4) para su posterior análisis.



**Figura 4** Nanopartículas de ZnO sintetizadas a la temperatura de 30°C.

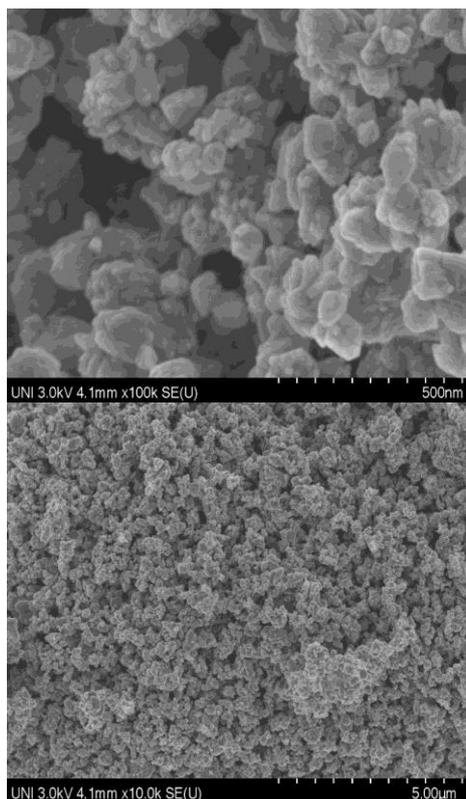
La caracterización de las nanopartículas de ZnO se realizó por la técnica de difracción de rayos X en un difractómetro operado a una fuente de radiación de  $Cu\ k\alpha_1$  ( $\lambda=0.15406\text{ nm}$ ) a 40 kV y 30 mA. El rango de la medida fue realizado desde 5° hasta 80° ( $2\theta$ ) con un paso de 0.022 grados y un tiempo de 97.92 s por paso. Se observó la estructura

cristalina hexagonal tipo wurtzita de las nanopartículas de ZnO. En la Figura 5 se muestra el espectro de difracción de rayos X de las nanopartículas de óxido de zinc sintetizadas a 30 °C. En el difractograma se puede observar picos bien definidos para los ángulos 31.86°, 34.5°, 36.35°, 47.62°, 56.69°, 62.94° y 68.03° debido a las reflexiones en los planos (100), (002), (101), (102), (110), (103) y (112) respectivamente, correspondientes al ZnO.<sup>(66, 86)</sup>



**Figura 5** Difractograma de rayos X de las nanopartículas de ZnO.

La morfología y distribución de las nanopartículas de ZnO se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido (SEM) utilizando el equipo Hitachi SU-8230 operado con un voltaje de aceleración de 3 kV y una corriente de emisión de 10.5  $\mu$ A. La Figura 6 muestra las imágenes de las nanopartículas obtenidas por el método de precipitación a la temperatura de reacción de 30 °C, con un aumento de baja y alta magnificación. En la micrografía se puede observar que las nanopartículas presentan una morfología semiesférica y aglomeración entre ellas.



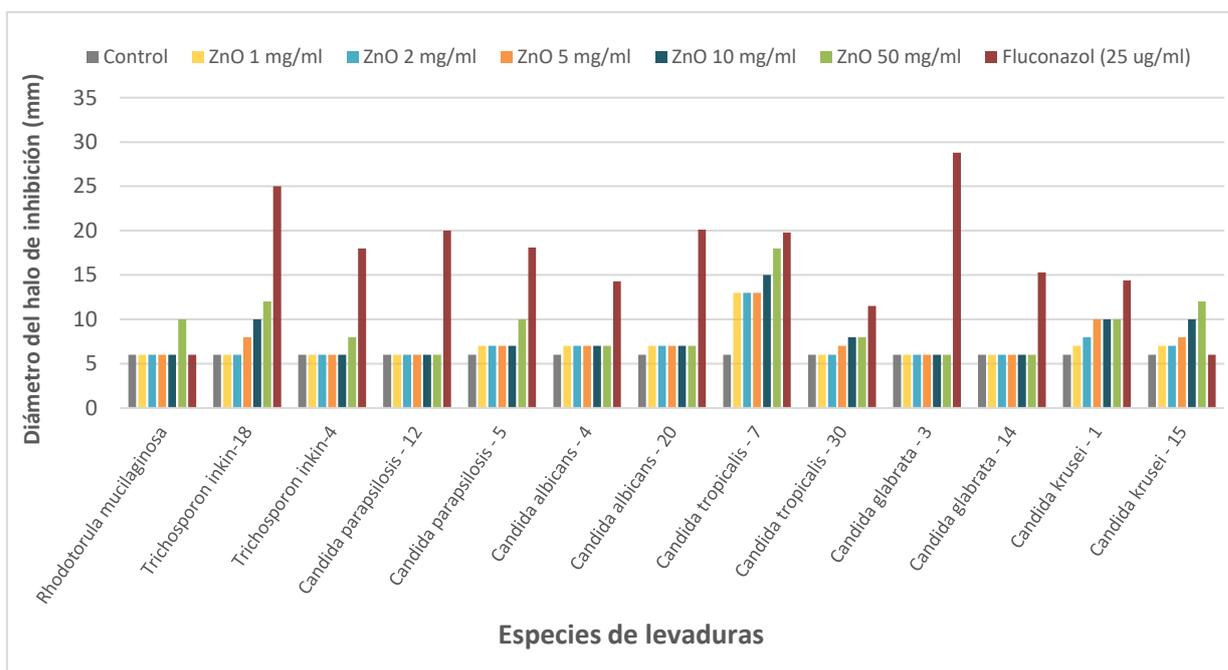
**Figura 6** Micrografía de las nanopartículas de ZnO.

#### **4.2.2. Actividad antifúngica de las NPs de ZnO**

Se utilizaron 3 concentraciones de nanopartículas óxido de zinc (0.5, 0.75 y 1.0 mg/ml) tanto para los dermatofitos y mohos. Para las levaduras se utilizaron las concentraciones de 0.5, 0.75, 1.0, 2.0, 5.0, 10 y 50 mg/ml. Para las concentraciones de 0.5 y 0.75 mg/ml todas las levaduras fueron resistentes.

En la Figura 7 se muestra la actividad de las nanopartículas de ZnO sobre las levaduras (*Candida spp.* y *Rhodotorula mucilaginosa*) con su control sin nanopartículas de ZnO, así como de antifúngico (Fluconazol 25 μg/ml). La concentración de nanopartículas de ZnO que tuvo mayor actividad inhibitoria fue la de 50 mg/ml, sin embargo, solo las cepas *Trichosporon inkin*-18 y *Candida krusei*-15 mostraron halos de inhibición de 12 mm, mientras que *Candida tropicalis*-7 tuvo un halo de inhibición de 18 mm. Es importante mencionar que la actividad mostrada por la concentración más alta fue menor a producida por Fluconazol, aunque

las cepas *T. inkin-18*, *C. parapsilosis-12*, *C. albicans-20*, *C. tropicalis-7* y *C. glabrata-3* solo fueron sensibles a este antimicótico (sensibilidad  $\geq 19$  mm) (Anexo 5). Las pruebas estadísticas de ANOVA y Tukey mostraron que existe diferencia estadística entre la sensibilidad de *C. tropicalis-7* versus *Rhodotorula*, *T. inkin-4*, *C. glabrata-14*, *C. krusei-15*, *C. tropicalis-30*, *C. parapsilosis-12* y *C. albicans-4* y *C. albicans-20*, pero no existe diferencia estadística entre las concentraciones utilizadas (Anexo 6 y Anexo 7).

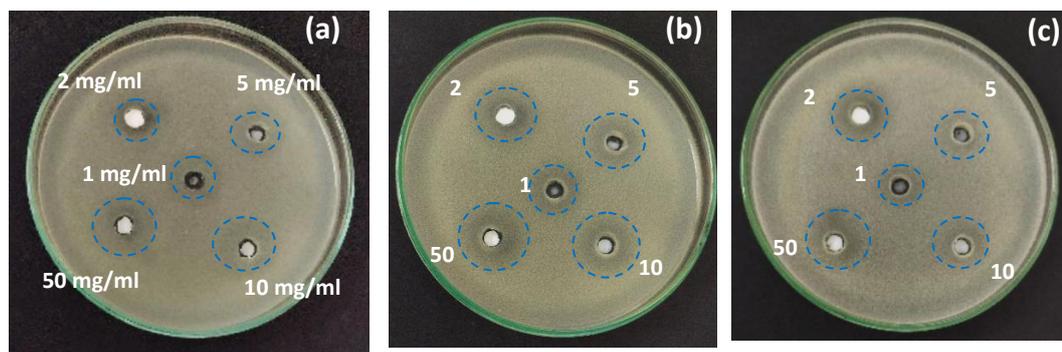


**Figura 7** Actividad de las nanopartículas de ZnO sobre el crecimiento de levaduras aisladas de lesión fúngica del pie.

Dobrucka, Dlugaszewska y Kaczmarek<sup>(18)</sup> encontraron que las nanopartículas de ZnO presentaron actividad inhibitoria sobre cepas de *C. albicans* a una concentración de 6.5 mg mucho menor a la empleada en este trabajo. Lipovsky et al.<sup>(44)</sup> también han demostrado que utilizando concentraciones de 0.1 mg/ml se ha producido un 95% de inhibición del crecimiento de *C. albicans*. Particularmente, El-Diasty et al.<sup>(25)</sup> encontraron que al utilizar 40 mg/ml se logró inhibir a levaduras de *C. albicans*, este resultado es cercano al obtenido, no obstante, con concentraciones mayores para algunas cepas. Cabe resaltar que la

susceptibilidad según se ha observado es independiente de la especie, y la susceptibilidad es dependiente de la concentración de la nanopartícula<sup>(25)</sup>. Sin embargo, es importante mencionar que el tamaño de la nanopartícula puede influir en su ingreso hacia el citoplasma de las células levaduriformes<sup>(18, 44)</sup>, y el mecanismo de acción de las nanopartículas puede variar de acuerdo con el medio utilizado. Además, Dobrucka, Dlugaszewska y Kaczmarek<sup>(18)</sup> han enunciado que algunos hongos son resistentes a las NPs debido a que son menos sensibles a las especies reactivas de oxígeno (ROS).

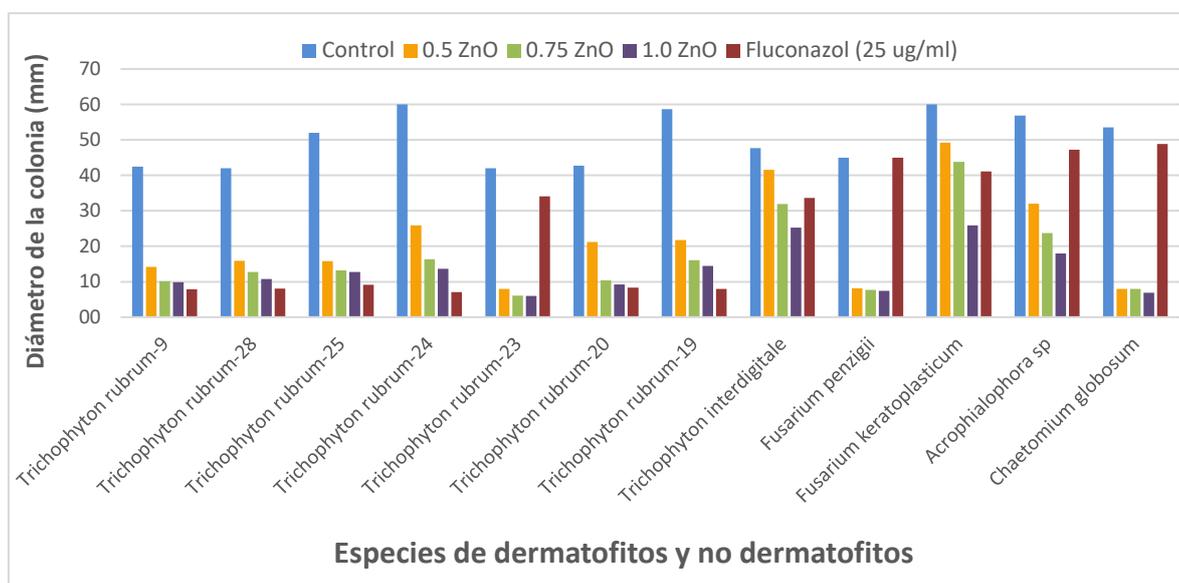
En la Figura 8 se observa la actividad inhibitoria de las NPs de ZnO sobre las levaduras *Trichosporon inkin*-18, *Candida krusei*-15 y *Candida tropicalis*-7 mediante la formación de halos de inhibición de crecimiento.



**Figura 8** Actividad de las nanopartículas de ZnO sobre el crecimiento de (a) *Candida tropicalis*, (b) *C. krusei*, (c) *Trichosporon inkin*.

En la Figura 9 se observa el efecto antifúngico de las nanopartículas de ZnO sobre los dermatofitos y los mohos, luego de un tiempo de incubación de 13 días a una temperatura de 35 °C. La concentración de nanopartículas de ZnO capaz de inhibir el crecimiento fue diferente para cada hongo, y algunas especies se mostraron más resistentes que otras. Sin embargo, se aprecia que el efecto de inhibición de los dermatofitos y mohos es dependiente de la concentración de las nanopartículas de ZnO, y se suprime el crecimiento de la colonia microbiana a medida que se aumenta la concentración de nanopartícula, y esto afecta las

funciones celulares del hongo<sup>(19)</sup>. La prueba estadística de ANOVA muestra diferencias significativas entre las especies de hongo y entre la concentración de nanopartícula empleada (Anexo 8). *F. keratinoplasticum* presentó diferencia significativa frente *T. rubrum-9*, *T. rubrum-28*, *T. rubrum-25*, *T. rubrum-23*, *T. rubrum-20* y *F. penzigii*, y hubo diferencia significativa entre cada una de las concentraciones de NP-ZnO frente al testigo, y del fluconazol frente a la concentración de 1 mg/ml de NP-ZnO (Anexo 9).

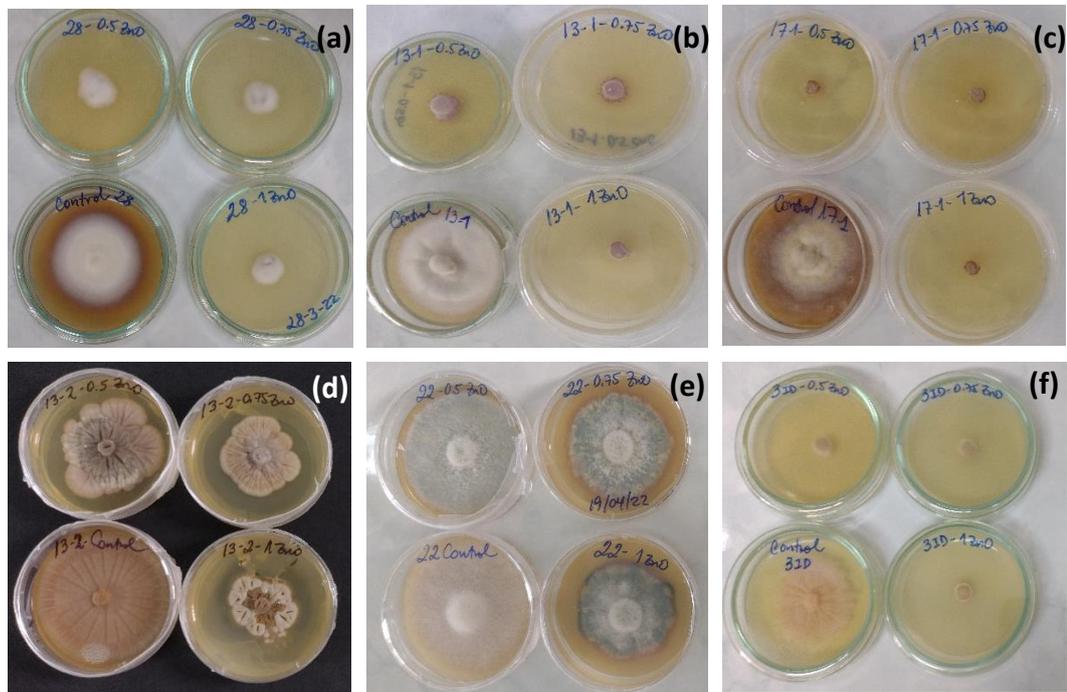


**Figura 9** Actividad de las nanopartículas de ZnO sobre el crecimiento de dermatofitos y mohos

Resultado similar ha sido observado en experiencias enfrentando NPs de ZnO con *Trichophyton rubrum*<sup>(18)</sup> que mostró una actividad fungistática con 6.5 mg, inhibición del crecimiento de *T. mentagrophytes*, *A. fumigatus* y *Microsporum canis* con 40 mg/ml<sup>(25)</sup>, e inhibición de hongos ambientales como *Aspergillus* y *Fusarium* con concentración de 12 µg/ml de NPs de ZnO<sup>(27)</sup>. Es interesante apreciar que la actividad del antimicótico es inhibitoria en 6 cepas de dermatofitos, sin embargo, en los hongos no dermatofitos no se observa inhibición del crecimiento colonial. Se aprecia que para *Fusarium penzigii* y en *Chaetomium*

*globosum* las nanopartículas de ZnO tienen mejor actividad que el antimicótico, con lo cual se corrobora que, la concentración requerida de nanopartícula varía en el caso de los diferentes hongos<sup>(27)</sup>. La actividad de fluconazol y anfotericina B se muestra en el Anexo 10.

En la Figura 10 se muestran fotografías del crecimiento colonial de los dermatofitos y no dermatofitos frente a la actividad de las nanopartículas de ZnO. La inhibición del crecimiento cuando se enfrentó a 1 mg/ml, fue de 46.87 a 85.75% para las especies de *Trichophyton*, y para los no dermatofitos entre un 56.84 a 87.13% (Anexo 11), y se puede apreciar que para el caso de *Fusarium keratinoplasticum* y *Fusarium penzigii* la coloración de la colonia varió.



**Figura 10** Susceptibilidad de dermatofitos y no dermatofitos a concentraciones de ZnO (0, 0.5, 0.75 y 1 mg/ml). (a) *Trichophyton rubrum*, (b) *T. interdigitale*, (c) *Chaetomium globosum*, (d) *Acrophialophora* sp., (e) *Fusarium keratinoplasticum*, (f) *F. penzigii*.

#### **4.3. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL CUERO FUNCIONALIZADO CON ÓXIDO DE ZINC**

El cuero utilizado en esta investigación recurtido junto a nanopartículas de ZnO en la Universidad Nacional de Ingeniería. Una vez obtenido el cuero se caracterizó por técnicas de SEM y EDS (Espectroscopía de Energía Dispersada), así como el enfrentamiento a levaduras y a dermatofitos y no dermatofitos.

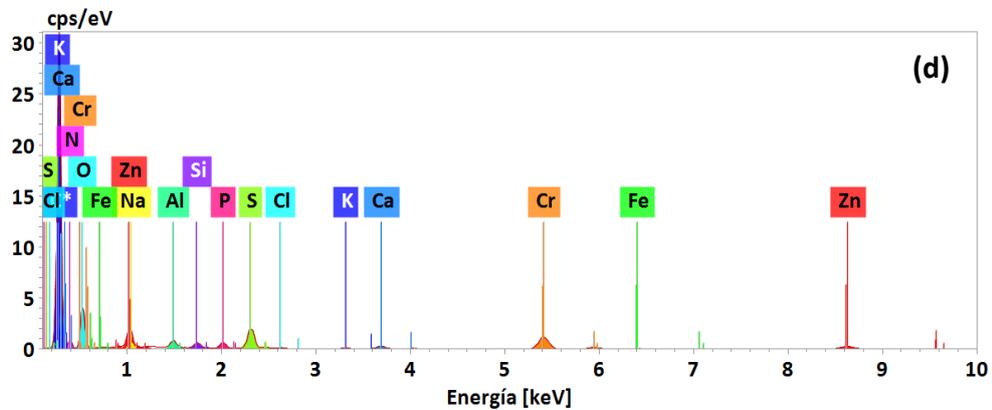
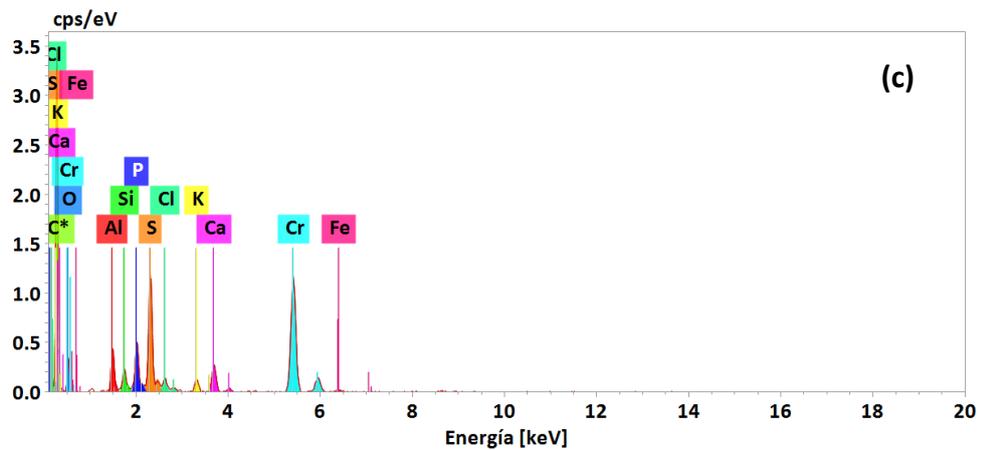
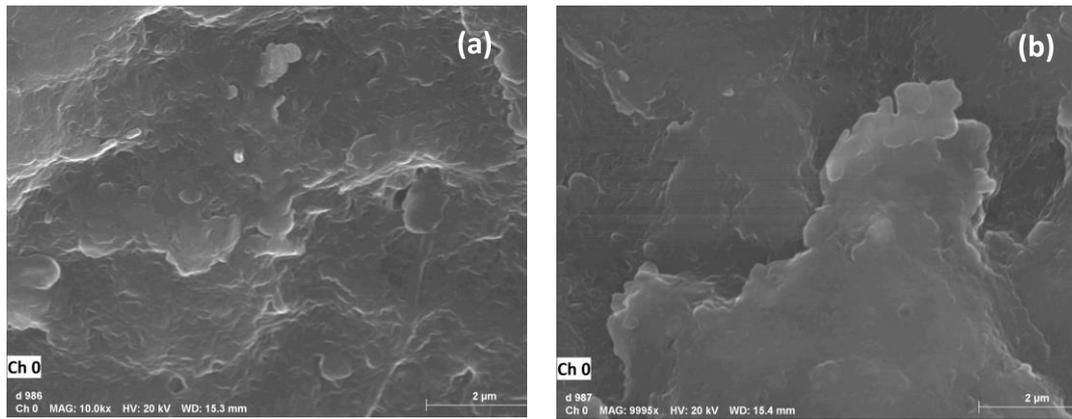
##### **4.3.1. Obtención y caracterización del cuero funcionalizado con nanopartículas de ZnO**

En la Figura 11 se puede observar que el cuero recurtido funcionalizado con 2% (w/w) de ZnO cambia a un color oscuro, en cambio el cuero control presenta un color pálido.



Figura 11. Aspectos de la parte flor y parte carne de los cueros sin funcionalizar (a) y funcionalizados con NPs de ZnO (b) en la etapa de recurtido.

En la Figura 12 se puede observar las micrografías SEM y el espectro EDS (Espectroscopía de Energía Dispersada) de la parte flor del cuero recurtido sin funcionalizar y funcionalizada con 2% (w/w) de nanopartículas de óxido de zinc, sintetizadas previamente a la temperatura de reacción de 30 °C.



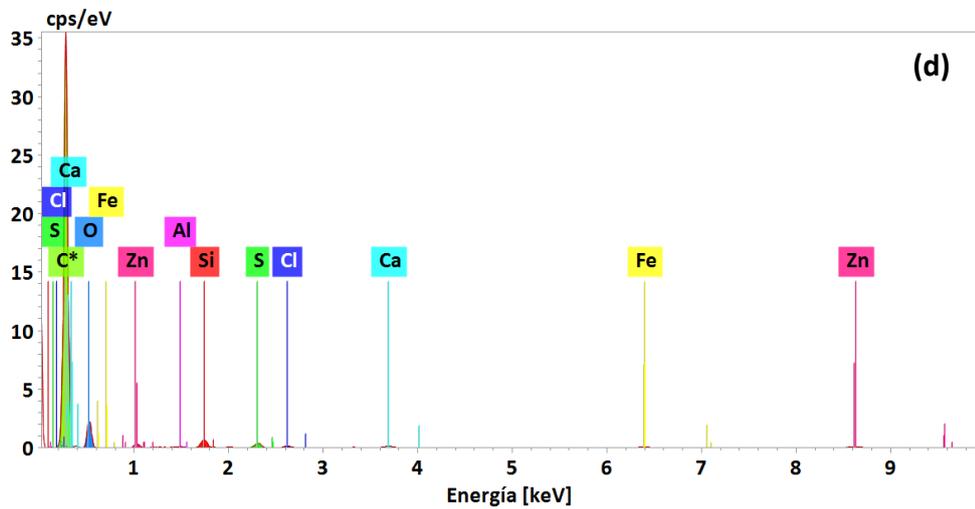
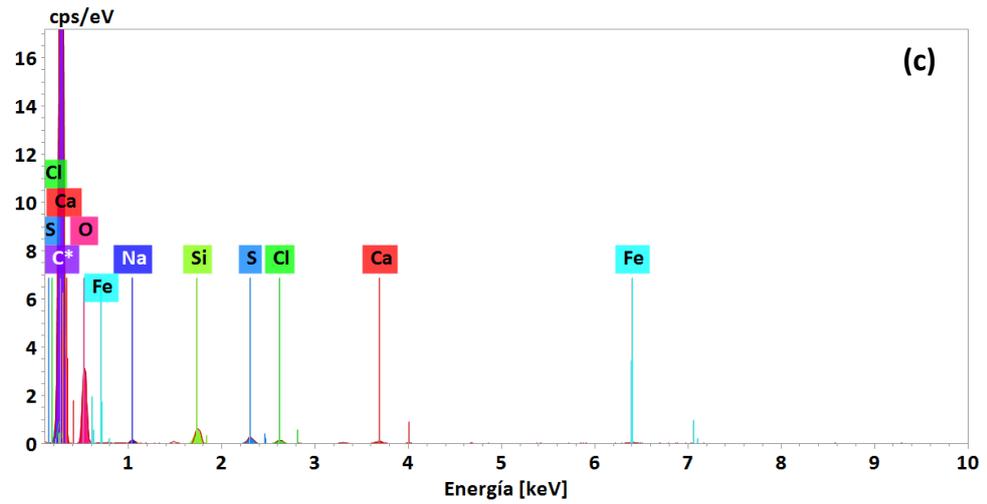
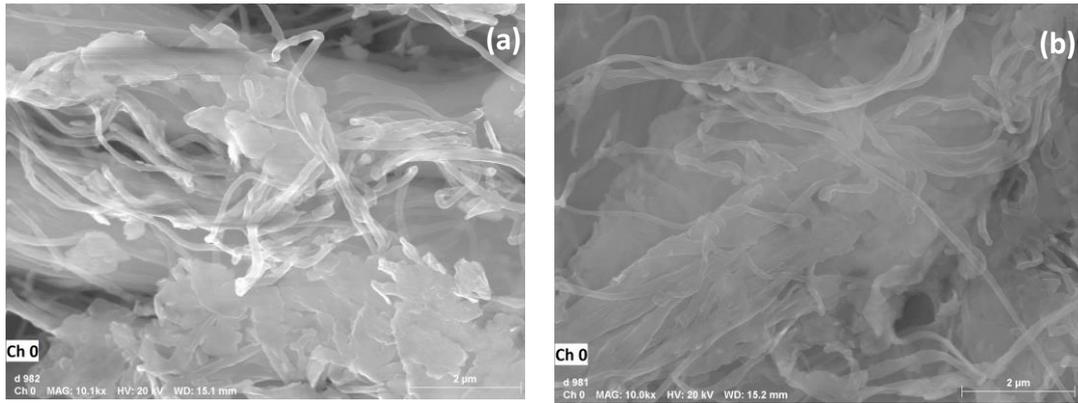
**Figura 12** Micrografía parte flor recurtida (a) sin funcionalizar y (b) funcionalizada. Espectro EDS parte flor (c) sin funcionalizar y (d) funcionalizada.

Los análisis SEM y EDS muestran que la parte flor del cuero presenta una superficie rugosa con relieves, cabe señalar que el lado flor del cuero es parte de la capa externa de la dermis, llamada zona papilar, la

cual está formada por diferentes elementos como glándulas, folículos pilosos y fibras de colágeno. En la etapa de curtido se utilizó sales de cromo, por ello se puede observar un buen porcentaje del elemento cromo en los espectros EDS. Además, debido a la composición de las proteínas y al recurtiente orgánico que se aplicó, se observa también un buen porcentaje de carbono y oxígeno en los espectros. Finalmente se observa la presencia de zinc (con un porcentaje en masa de 9.25%) en el cuero funcionalizado, a diferencia del cuero que está sin funcionalizar.

En la Figura 13 se puede observar las micrografías y el espectro EDS de la parte carne del cuero recurtido sin funcionalizar y funcionalizada con 2% (w/w) de nanopartículas de óxido de zinc.

La parte carne del cuero pertenece a la capa interna de la dermis, llamada zona reticular, la cual está formada mayormente por fibras de colágeno tal como podemos observar en las micrografías de la Figura 13. El espectro EDS de la parte carne del cuero recurtido, muestra un buen porcentaje de cromo debido a las sales de cromo que se utilizó en el curtido. Los elementos carbono, oxígeno y nitrógeno presentes en el espectro son correspondientes a las proteínas de colágeno y al recurtiente. De igual manera que en la parte flor, en la parte carne del cuero funcionalizado se observa la presencia de zinc (con un porcentaje en masa de 3.1%) a diferencia de la parte carne del cuero sin funcionalizar.

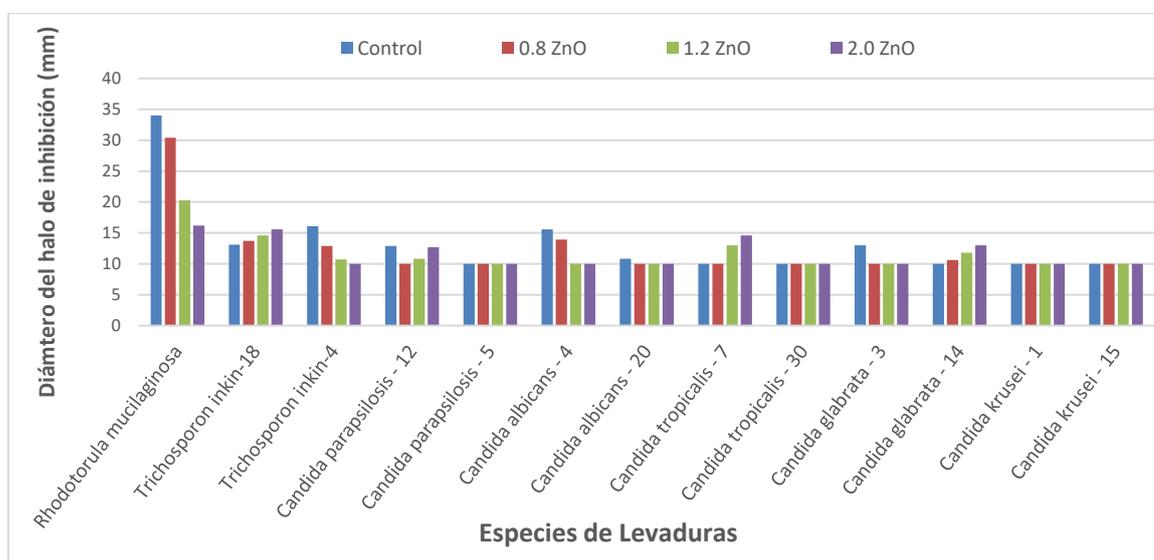


**Figura 13** Micrografía parte carne recurtida (a) sin funcionalizar y (b) funcionalizada. Espectro EDS parte carne (c) sin funcionalizar y (d) funcionalizada.

#### 4.3.2. Determinación del efecto antifúngico del cuero funcionalizado con nanopartículas de ZnO.

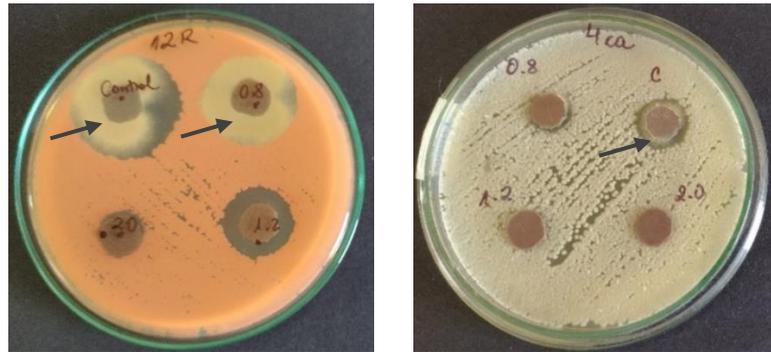
En la Figura 14 se muestra la sensibilidad presentada por las diferentes especies de levaduras frente al cuero funcionalizado con nanopartículas de ZnO en concentración de 0, 0.8, 1.2 y 2 mg. La inhibición observada en las cepas varía, sin embargo, solo se observó inhibición creciente de acuerdo con el aumento de concentración de nanopartículas de ZnO en las especies *Candida tropicalis*-7, *C. glabrata*-14 y *Trichosporon inkin*-18. El cuero control presentó mayor inhibición para algunas levaduras, lo que hace suponer que el tratamiento de curtido del cuero, donde se utilizan ácidos, inhibe el crecimiento de algunas levaduras.

Aunque el cuero control causó la formación de halos de inhibición, a los 4 días de incubación se observó crecimiento de mohos, lo que hace suponer que cuando se realiza el proceso de curtido quedan restos de los químicos que pueden inhibir a ciertos hongos como las levaduras.



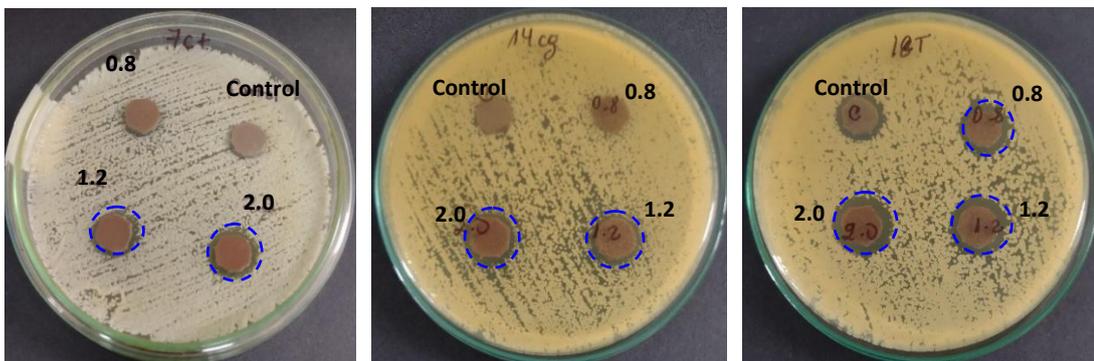
**Figura 14** Actividad del cuero funcionalizado con nanopartículas de ZnO sobre el crecimiento de especies de levaduras.

Sin embargo, las esporas de los hongos ambientales resisten a este proceso de curtido, y por lo tanto han desarrollado en presencia de medio de cultivo. En la Figura 15 se aprecia que, aunque *Rhodotorula mucilaginosa* fue sensible al cuero control, 0.8 y 1.2 g/l de ZnO, a las 72 horas se apreció crecimiento de un moho ambiental que emergió del cuero control y funcionalizado con 0.8 g/l de ZnO. Resultado similar fue obtenido con el cuero control en *C. albicans*-4.



**Figura 15** Halos de inhibición del cuero control y funcionalizado con nanopartículas de ZnO en *Rhodotorula mucilaginosa*(12R) y *C. albicans* (4Ca). Se aprecia crecimiento de hongo (flecha) a partir del cuero control y con 0.8 g/l de nanopartículas de ZnO.

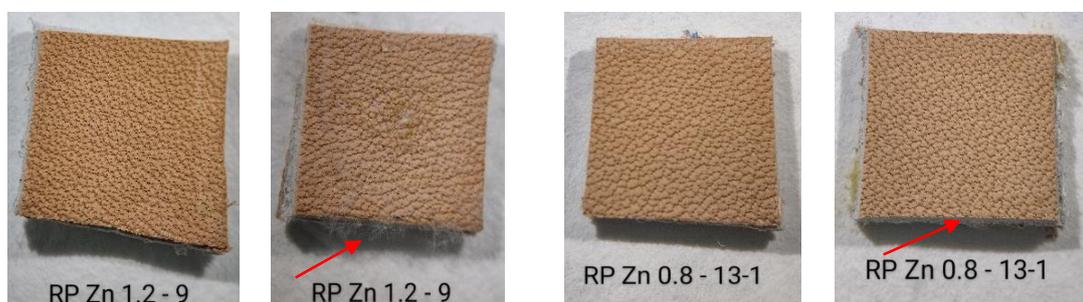
Asimismo, se muestran gráficamente el resultado para las tres especies que mostraron sensibilidad a la concentración 2 g/l de NPs de ZnO en cuero funcionalizado (Figura 16).



**Figura 16** Sensibilidad de *Candida tropicalis* (7ct), *C. glabrata* (14cg) y *Trichosporon inkin* (18T) al cuero funcionalizado con nanopartículas de ZnO.

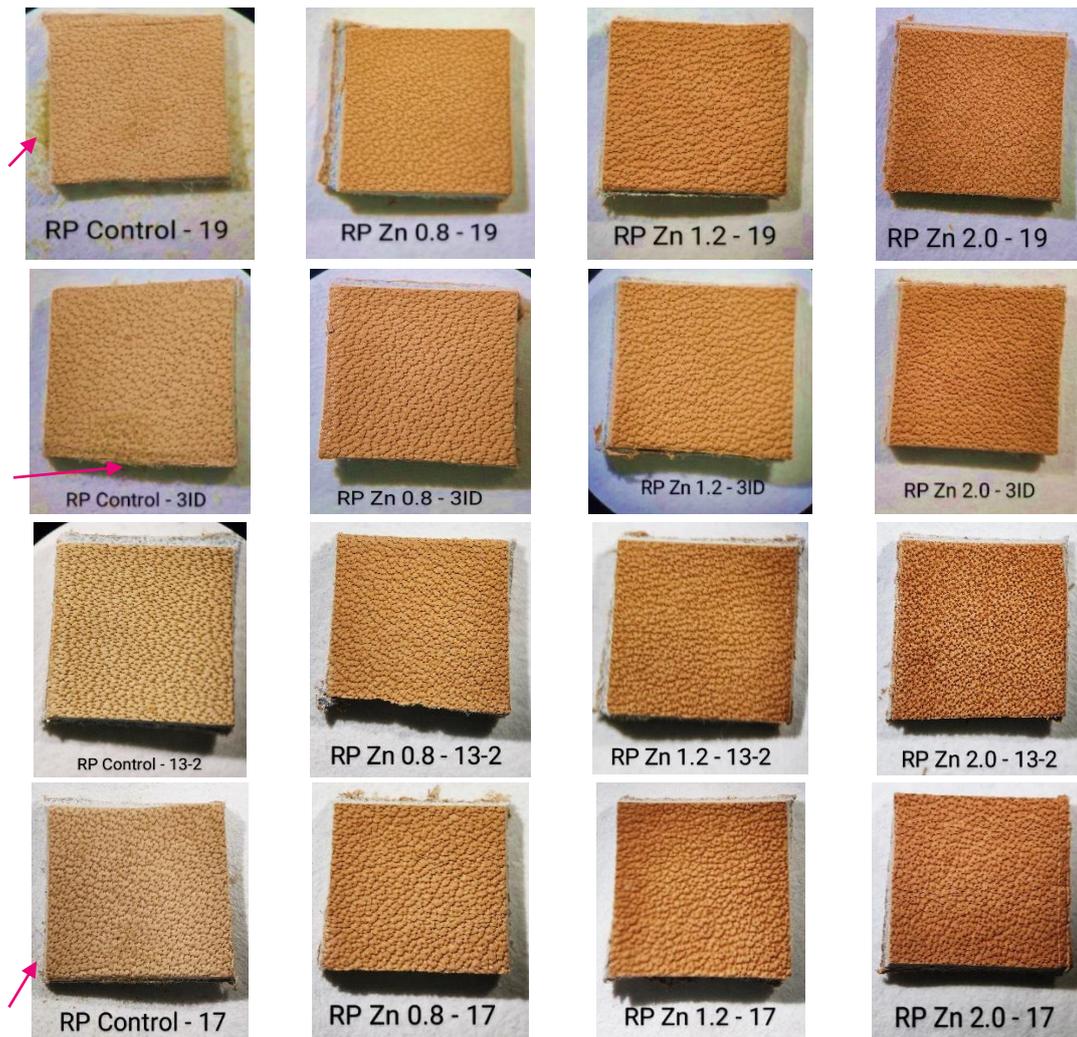
La prueba estadística de ANOVA mostró que hubo diferencia estadísticamente significativa entre el comportamiento de las especies de levaduras frente al cuero funcionalizado, pero no hubo diferencia significativa entre las concentraciones de nanopartículas de ZnO del cuero funcionalizado (Anexo 12). La prueba de Tukey determinó que hubo diferencia significativa entre la susceptibilidad de *Rhodotorula mucilaginosa* con las diferentes especies de *Candida* y *T. inkin* (Anexo 13).

El enfrentamiento de cuero funcionalizado con nanopartículas de ZnO contra dermatofitos y no dermatofitos se realizó por cuatuplicado, empleando 4 cuadrados de 1 cm<sup>2</sup> para cada dermatofito y no dermatofito. En los controles hubo crecimiento, sin embargo, se trató de un hongo ambiental que crecía desde el cuero no tratado. En los tratamientos con los hongos *Trichophyton rubrum*-9 y *Trichophyton interdigitale*-13.1, los cueros con concentraciones de 0.8 y 1.2 g/l de NPs-ZnO, mostraron crecimiento micelial en el 50% de las repeticiones, no obstante, correspondió al hongo ambiental (Figura 17). En todos los tratamientos con cuero funcionalizados no se evidenció crecimiento.



**Figura 17** Crecimiento micelial en los tratamientos de los cueros funcionalizados con 0.8 y 1.2 g/l de NPs-ZnO enfrentados a los dermatofitos *Trichophyton rubrum* y *T. interdigitale*.

En la Figura 18 se muestra el efecto antimicótico del cuero funcionalizado con NPs-ZnO sobre los dermatofitos de la especie *Trichophyton rubrum* y las especies de no dermatofitos *Fusarium penzigii*, *Acrophialophora sp.* y *Chaetomium sp.*



**Figura 18** Cuero funcionalizado y su actividad frente a dermatofitos y no dermatofitos. Las flechas rojas indican el crecimiento del hongo en los controles (*Trichophyton rubrum*-19, *F. penzigii*-3ID, *Acrophialophora sp.*-13.2 y *Chaetomium sp.*-17).

Los dermatofitos para su crecimiento precisan de la presencia de queratina, debido a que están especializados para crecer en dicho sustrato. En el cuero recurtido y con poca concentración de nanopartículas, se ha observado que desarrollan hongos ambientales, aunque este dato es concordante a lo reportado por Bao et al, que mostró la disminución del crecimiento de *Aspergillus flavus* cuando aplicó acabado de poliacrilato/emulsión compuesta de ZnO columnar (0.5%) en cuero, lo cual le dio un mejor rendimiento higiénico y antibacteriano en comparación con la emulsión de poliacrilato puro.<sup>(58)</sup>

De manera similar, Liu et al.<sup>(59)</sup> prepararon nanocompuestos de óxido de zinc a base de metacrilato de metilo y acrilato de butilo por la técnica de polimerización en emulsión. Inicialmente, para mejorar la dispersión de ZnO en medio acuoso, se usó un polímero aniónico (PA30) antes del proceso de polimerización. El tamaño del ZnO modificado con PA30 era de aproximadamente 329,8 nm. El nanocompuesto preparado es térmicamente estable (300 °C) y de naturaleza cristalina. El nanocompuesto preparado fue rociado sobre cuero y verificado para el crecimiento de hongos usando *Aspergillus flavus*, al cual inhibió. Si bien esta metodología es diferente a la utilizada en este trabajo, *Aspergillus sp.* un hongo ambiental puede ser inhibido a concentraciones mayores a 1.2 g/l de NPs de ZnO cuando están funcionalizadas en cuero recurtido, en cambio en la metodología empleada por Bao et al.<sup>(58)</sup> y Liu et al.<sup>(59)</sup>, también obtiene disminución del crecimiento empleando una emulsión de poliácido/Zn mediante aspersión dando un acabado al cuero con formación de una película superficial.

Tratamientos con otras nanopartículas en cuero, como el realizado por Lkhagvajav et al.<sup>(30)</sup>, han mostrado que para el caso de soluciones de NPs de Ag, cepas bacterianas como *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger* son sensibles a las concentraciones de NPs de Ag de 10-20 µg/cm<sup>2</sup>, dado que las nanopartículas de Ag poseen una mayor actividad antimicrobiana aún en concentraciones muy pequeñas, y esto ya ha sido demostrado anteriormente<sup>(13, 24, 41)</sup>.

En nuestra experiencia, el cuero funcionalizado ha mostrado fuerte actividad antimicrobiana contra dermatofitos, sin embargo, hay que tener en cuenta que la actividad cambia de acuerdo a las propiedades físico-químicas de las NPs de ZnO, así como de las técnicas de funcionalización del cuero. La actividad antimicótica posiblemente sea similar a lo que sucede en bacterias, donde la actividad antimicrobiana de las nanopartículas es debido a la interacción entre el área superficial de las nanopartículas y los microorganismos<sup>(18)</sup>. Las NPs de ZnO son capaces de inducir la producción de especies activas de oxígeno (ROS) que incluye al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, lo cual causa un estrés oxidativo, y una vez que las NPs están dentro de la

célula interactúan con las proteínas y los ácidos nucleicos dañando la actividad enzimática.<sup>(18, 27, 44)</sup>

De acuerdo con el resultado de los cueros funcionalizados frente a los dermatofitos y para algunas de las levaduras, el nivel mínimo de nanopartículas de óxido de zinc es de 2 g/l, ha logrado inhibir el crecimiento de hongos resistentes a fluconazol, los resultados son prometedores.

## V. CONCLUSIONES

- La microbiota fúngica cultivable de las lesiones fúngicas fue diversa. En las muestras de uñas se aislaron 8 dermatofitos del género *Trichophyton*, 8 hongos no dermatofitos de los géneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Acrophialophora* y *Chaetomium*, 12 levaduras del género *Candida* y 1 levadura del género *Rhodotorula*. De la zona plantar se aislaron 2 no dermatofitos de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*, 18 levaduras del género *Candida* y 4 levaduras del género *Trichosporon*. De la zona interdigital se aislaron 3 no dermatofitos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, 25 levaduras del género *Candida* y 1 levadura del género *Trichosporon*.
- Las nanopartículas de óxido de zinc en concentración de 50 mg/ml inhibieron solo a 3 especies de levaduras *Trichosporon inkin*-18, *Candida krusei*-15 y *Candida tropicalis*-7, lo cual indica que dependiendo de la especie presentan diferente sensibilidad.
- El control del crecimiento de los dermatofitos y no dermatofitos es dependiente de la concentración de nanopartículas de óxido de zinc, sin embargo, se causa mayor inhibición del crecimiento con 1 mg/ml de NPs-ZnO.
- El cuero funcionalizado con nanopartículas de óxido de zinc en las concentraciones de 0.8, 1.2 y 2 g/l presentó actividad inhibitoria creciente en tres (3/13) especies de levaduras: *Candida tropicalis*-7, *C. glabrata*-14 y *Trichosporon inkin*-18 lo que estaría mostrando solo un efecto fungistático.

- En cuanto a los dermatofitos y no dermatofitos, fueron inhibidos totalmente con el cuero funcionalizado con 2 g/l de NPs-ZnO, lo que sugiere que con esta concentración se tiene un efecto fungicida.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Probar concentraciones de NPs de ZnO mayores a 2 mg/ml de para mohos y dermatofitos, y mayores a 50 mg/ml para levaduras.
- Estandarizar metodología para homogenizar la cantidad de NPs de ZnO que se funcionalizan en el cuero.
- Realizar pruebas de toxicidad en cultivos celulares según sea la concentración obtenida que cause la inhibición total de los hongos.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Becerra Manrique AM, Preciado MP, Riaño D, Sierra JV, Microbiota de la piel identidad de cada individuo. *Biociencias*. 2017;2:53-9.
2. Shami A, Al-Mijalli S, Pongchaikul P, Al-Barrag A, AbduRahim S. The prevalence of the culturable human skin aerobic bacteria in Riyadh, Saudi Arabia. *BMC Microbiol*. 2019;19(1):189.
3. Ilkit M, Durdu M. Tinea pedis: the etiology and global epidemiology of a common fungal infection. *Crit Rev microbiol*. 2015;41(3):374-88.
4. Dhamoon RK, Popli H, Gupta M. Novel drug delivery strategies for the treatment of onychomycosis. *Pharm Nanotechnol*. 2019;7(1):24-8.
5. Westerberg DP, Voyack MJ. Onychomycosis: Current trends in diagnosis and treatment. *American Family Physician* 2013;88(11):762-70.
6. Gupta AK, Mays RR, Versteeg SG, Piraccini BM, Takwale A, Shemer A, et al. Global perspectives for the management of onychomycosis. *Int J Dermatol*. 2019;58(10):118-29.
7. Heidrich D, Garcia D, Garcia MR, Stopiglia CD, Magagnin CM, Daboit TC, Vettoratto G, et al. Dermatophytosis: a 16-year retrospective study in a metropolitan area in southern Brazil. *J Infect Dev Ctries*. 2015;9(8):865-71.
8. Cruz RC, Ponce EE, calderón RL, Delgado VN, Vieille OP, Piontelli LE. Micosis superficiales en la ciudad de Valparaíso, Chile- Período 2007-2009. *Rev Chil Infectol*. 2011;28(5):404-9.
9. Villanueva JDP, Díaz CJ, Luna J. Perfil epidemiológico de la onicomycosis En un servicio de Dermatología de un hospital de tercer nivel en Cali, Colombia. *Rev la Asoc Colomb Dermatología y Cirugía Dermatológica*. 2013;21(1):31-7.

10. Capote AM, Ferrara G, Panizo MM, García N, Alarcón V, Reviakina V, et al. Micosis superficiales: casuística del Departamento de Micología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Caracas, Venezuela (2001-2014). *Investigación Clínica* 2016;57(1):47-58.
11. Béjar V, Villanueva F, Guevara JM, González S, Vergaray G, Abanto E, et al. Epidemiología de las dermatofitosis en 30 años de estudio en el Instituto de Medicina Tropical Daniel A Carrión, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2014;75(2).
12. Mazza M, Refojo N, Davel G, Lima N, Dias N, Passos da Silva CMF, et al. Epidemiology of dermatophytoses in 31 municipalities of the province of Buenos Aires, Argentina: A 6-year study. *Rev. Iberoam Micol*. 2018;35(2):97-102.
13. Ishida K, Cipriano TF, Rocha GM, Weissmueller G, Gomes F, Miranda K, et al. Silver nanoparticle production by the fungus *Fusarium oxysporum*: nanoparticle characterization and analysis of antifungal activity against pathogenic yeasts. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014;109(2):220-8.
14. Raghunath A, Perumal E. Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: a promise for the future. *Int J Antimicrob Agents*. 2017;49(2):137-52.
15. Padilla-Vaca F, Mendoza-Macías CL, Franco B, Anaya-Velásquez F, Ponce-Noyola P, Flores-Martínez A. El mundo micro en el mundo nano: importancia y desarrollo de nanomateriales para el combate de enfermedades causadas por bacterias, protozoarios y hongos. *Mundo Nano Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología*. 2018;11(21).
16. Castrillón L, Palma A. Actividad antimicótica de nanopartículas. *Mundo Nano Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología*. 2014;7(12):6-18.
17. Higa LH, Schilrreff P, Perez AP, Morilla MJ, Romero EL. The intervention of nanotechnology against epithelial fungal diseases. *Journal of Biomaterials and tissue Engineering*. 2013;3(1):70-88.

18. Dobrucka R, Dlugaszewska J, Kaczmarek M. Cytotoxic and antimicrobial effects of biosynthesized ZnO nanoparticles using of *Chelidonium majus* extract. *Biomed Microdevices*. 2017;20(1):5.
19. Kairyte K, Kadys A, Luksiene Z. Antibacterial and antifungal activity of photoactivated ZnO nanoparticles in suspension. *J Photochem Photobiol B*. 2013;128:78-84.
20. Ramyadevi J, Jeyasubramanian K, Marikani A, Rayakumar G, Rahuman AA. Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. *Materials Letters*. 2012;71:114-6.
21. Sánchez Reyna PA. Síntesis caracterización y evaluación antimicrobiana de AgNPs, TiO<sub>2</sub>NPs, y Ag/TiO<sub>2</sub>NPs utilizando como soporte Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Proveniente de brackets cerámicos [Tesis de Doctorado]: Universidad Autónoma del Estado de México 2016.
22. Perelshtein I, Lipovsky A, Perkas N, Tzanov T, Capital ACM, Leseva M, et al. Making the hospital a safer place by sonochemical coating of all its textiles with antibacterial nanoparticles. *Ultrason Sonochem*. 2015;25:82-8.
23. Uribe C, Meneses E, Brañez D, Álvarez J, Román E, Maurtua D, et al. Funcionalización de textiles de algodón con ZnO<sub>2</sub>. *Rev Soc Química Perú*. 2016;82(2):216-31.
24. Ayatollahi Mousavi SA, Salari S, Hadizadeh S. Evaluation of antifungal effect of silver nanoparticles against *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* and *Microsporum gypseum*. *Iran J Biotechnol*. 2015;13(4):38-42.
25. El-Diasty E, Ahmed MA, Okasha N, Mansour S, El-Dek SI, El-Khalek HMA, et al. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against dermatophytic lesions of cattle. *Rom J Biophys*. 2013;23(3):191-202.
26. Kadhim A, Haleem AM, Abbas RH. Copper oxide NPs: Synthesis and their Anti-Dermatophyte activity against *Trichophyton rubrum*. *Eng Technol J*. 2017;35:276-81.
27. George SA, Raj MS, Solomon D, Roselin PA. Comparative study of the Anti-Fungal Activity of Zinc Oxide and Titanium Oxide nano and bulk

- particles with Anti-Fungals against Fungi isolated from infected skin and dandruff flakes. *Res Rev j Microbiol Biotechnol.* 2014;3(3):23-30.
28. Zatzoff RC, Smith MS, Borkow G, Treatment of tinea pedis with socks containing copper-oxide impregnated fibers. *Foot (Edinb).* 2008;18(3):136-41.
  29. Sánchez Navarro MM. microencapsulación de sustancias activas para su incorporación en calzado [Tesis de Doctorado]: Universidad de Alicante; 2016.
  30. Lkhagvajav N, Koizhaiganova M, Yasa I, Celik E, Sari O. Characterization and antimicrobial performance of nano silver coatings on leather materials. *Braz J Microbiol.* 2015;46:(1):41-8.
  31. Ali SS, Morsy R, El-Zawawy NA, Fareed MF, Bedaiwy MY. Synthesized zinc peroxide nanoparticles (ZnO<sub>2</sub>-NPs): a novel antimicrobial, anti-elastase, anti-keratinase, and anti-inflammatory approach toward polymicrobial burn wounds. *Int J Nanomedicine.* 2017;12:6059-73.
  32. Amiri M, Etemadifar Z, Daneshkazemi A, Nateghi M. Antimicrobial Effect of copper Oxide Nanoparticles of Some Oral Bacteria and Candida Species. *J Dent biomater.* 2017;4(1):347-52. s. *J Dent Biomater.* 2017;4(1):347-52.
  33. Folleco E, González FE. Frecuencia de agentes etiológicos causante de micosis superficiales en el laboratorio de Micrología Clínica de la Universidad del Cauca. *Rev la Fac Ciencias la Salud.* 2014;16(1):17-23.
  34. Findley K, Oh J, Yang J, Conlan S, Deming C, Meyer JA, et al. Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. *nature.* 2013;498(7454):367-70.
  35. Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8(2):240-59.
  36. Kumar R, Shukla SK, Pandey A, Srivastava SK, Dikshit A. Copper oxide nanoparticles: an antidermatophytic agent for *Trichophyton* spp. *Nanotechnology Reviews.* 2015;4(5).
  37. Lakshmi pathi DT, Kannabiran K. Review on dermatomycosis: pathogenesis and treatment. *Natural Science.* 2010;02(07):726-31.

38. Lemsaddek A. Estudo de dermatófitos por métodos moleculares: identificação, resistência, a antifúngicos e virulência [Tesis de Doctorado, Microbiologia]: Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciência; 2008.
39. Smith AG. Skin infections of the foot. *The Foot*. 1999;9(2):56-9.
40. Ronavari A, Igaz N, Gopisetty MK, Szerencses B, Kovacs D, Papp C, et al. Biosynthesized silver and gold nanoparticles are potent antimycotics against opportunistic pathogenic yeast and dermatophytes, *Int J Nanomedicine*. 2018;13:695-703.
41. Pereira L, Dias N, Carvalho J, Fernandes S, Santos C, Lima N. Synthesis, characterization and antifungal activity of chemically and fungal-produced silver nanoparticles against *Trichophyton rubrum*. *J Appl Microbiol*. 2014;117(6):1601-13.
42. Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ann LC, Bakori SKM, et al. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nanomicro Lett*. 2015;7(3):219-42.
43. Yamamoto O. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *Int Inorg Mater*. 2001;3(7):643-6.
44. Lipovsky A, Nitzan Y, Gedanken A, Lubart R. Antifungal activity of ZnO nanoparticles--the role of ROS mediated cell injury. *Nanotechnology* 2011;22(10):105101.
45. Malta Purim KSM, Bordignon GPS, de Queiroz-Telles F. Fungal infection of the feet in soccer players and non-athlete individuals. *Rev Iberoam Micol*. 2005;22:34-8.
46. Meza M, Insfran L, Aldama M, Aldama O, Pereira J. Dermatofitos y hongos levaduriformes causantes de micosis superficiales de piel lampiña en un centro dermatológico, San Lorenzo-Paraguay. *J Chem Inf Model*. 2019;53(9):1689-99.
47. Sabogal M, Jiménez H, Morales C, Alvarado Z, Colmenares C. Micosis en los pies: descripción clínico-epidemiológica en un centro de referencia de Bogotá, Colombia. *Infectio*. 2018;23(1):39-49.

48. Romero S, Guevara R. Dermatofitosis en estudiantes de la Institución Educativa "San Juan de la Frontera", Ayacucho, Perú, 2010. *Rev Peru Epidemiol.* 2011;15(1):65-8.
49. Flores JM CV, Franco FC, Huata AB. Superficial fungal infections: Clinical and epidemiological study in adolescents from marginal districts of Lima and Callao, Peru. *J infect Dev Ctries.* 2009;3(4):313-7.
50. Iglesias K. Prevalencia y factores asociados de la infección fúngica y bacteriana no ulcerativa en los pies de pacientes con diabetes mellitus tipo 2: estudio preliminar [Tesis de Grado, Podología]: Universidade da Coruña; 2019.
51. Guo LN, Yu SY, Hsueh PR, Al-Hatmi AMS, Meis JF, Hagen F, et al. Invasive Infections Due to *Trichosporon*: Species Distribution, Genotyping, and Antifungal Susceptibilities from a Multicenter Study in China. *J Clin Microbiol.* 2019;57(2).
52. Ahmed SA, Khan Z, Wang X-w, Moussa TAA, Al-Zahrani HS, Almaghrabi OA, et al. *Chaetomium*-like fungi causing opportunistic infections in humans: a possible role for extremotolerance. *Fungal Diversity.* 2015;76(1):11-26.
53. Shi D, Lu G, Mei H, de Hoog GS, Zheng H, Liang G, et al. Onychomycosis due to *Chaetomium globosum* with yellowish black discoloration and periungal inflammation. *Med Mycol Case Rep.* 2016;13:12-6.
54. do Carmo A, Costa E, Marques M, Quadrado MJ, Tome R. *Fusarium dimerum* Species Complex (*Fusarium penzigii*) Keratitis After Corneal Trauma. *Mycopathologia.* 2016;181(11-12):879-84.
55. Limon JJ, Skasli JH, Underhill DM. Commensal Fungi in Health and Disease. *Cell host Microbe.* 2017;22(2):156-65.
56. Guarro J, Mendiratta DK, De Sequeira H, Rodriguez V, Thamke D, Gomes AM, et al. *Acrophialophota fuispora*: an emerging agent of human mycosis. A report of 3 new clinical cases. *Diagn Microbiol Dis.* 2007;59(1):85-8.

57. Huang J, Liiu Z. The first case of *Acrophialophora levis*-induced severe pneumonia: a case report and literature review. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):843.
58. Bao Y, Feng C, Wang C, Ma J, Tian C. Hygienic, antibacterial, UV-shielding performance of polyacrylate/ZnO composite coatings on a leather matrix. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects.* 2017;518:232-40.
59. Liu J, Ma J, Bao Y, Wang J, Tang H, Zhang L. Polyacrylate/Surface-Modified ZnO Nanocomposite as Film-Forming Agent for Leather Finishing *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials.* 2014;62(16):809-14.
60. Lotfali E, Shahverdi AR, Mohammadi R, Noorbakhsh F, Ghajari A, Ansari S, et al. In Vitro Activity of Two Nanoparticles on Clinical isolates of *Candida parapsilosis*, Showing Resistance Against Antifungal Agents in Children. *Archives of Clinical Infectious Diseases.* 2017;12(4).
61. Cortés-López NG, Ordóñez-Baquera PL, Domínguez-Viveros J. Herramientas moleculares utilizadas para el análisis metagenómico. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias.* 2020;11(4):1150-73.
62. Tüzmen Ş, Baskin Y, Feyda Nursal A, Eraslan S, Esemem Y, Çalibaşı G, et al. Techniques for Nucleic Acid Engineering. *Omics Technologies and Bio-Engineering* 2018.p.247-315.
63. Sujaya IN, Tamura Y, Tanaka T, Yamaki T, Ikeda T, Kikushima N, et al. Development of internal transcribed spacer regions amplification restriction fragment length polymorphism method and its application in monitoring the population of *Zygosaccharomyces rouxii* M2 in miso fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 2003;96(5):438-47.
64. Zhang E, Tanaka T, Tajima M, Tsuboi R, Nishikawa A, Sugita T. Characterization of the skin fungal microbiota in patients with atopic dermatitis and in healthy subjects. *Microbiol Immunol.* 2011;55(9):625-32.
65. White TJ, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics PCR

Protocols: A Guide to Methods and Applications: Academic Press; 1990. p. 315-22.

66. Pariona N, Paraguay-Delgado F, Basurto-Cereceda S, Morales-Mendoza JE, Hermida-Montero LA, Mtz-Enriquez AI. Shape-dependant antifungal activity of ZnO particles against phytopathogenic fungi. *Applied nanoscience*. 2020;10:435-43.
67. Parveen S, Wani AH, Shah MA, Devi HS, Bhat MY, Koka JA. Preparation, characterization and antifungal activity of iron oxide nanoparticles. *Micro Pathog*. 2018;115:287-92.
68. Khodadadi H, Zomorodian K, Nouraei H, Zareshahrabadi Z, Barzegar S, Zare MR, et al. Prevalence of superficial-cutaneous fungal infections in Shiraz, Iran: A five-year retrospective study (2015-2019). *J Clin Lab Anal*. 2021;35(7):e23850.
69. Adamczyk K, Garnarczyk A, Antonczak P, Wcislo-Dziadecka D. The foot microbiome. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(5):1039-43.
70. Cengiz FP, Cemil BC, Emiroglu N, Bahali AG, Ozkaya DB, Su O, et al. Etiology of Onychomycosis in Patients in Turkey. *J Am Podiatr Med Assoc*. 2018;108(3):253-6.
71. Wang X, Ding C, Xu Y, Yu H, Zhang S, Yang C. Analysis on the pathogenic fungi in patients with superficial mycosis in the Northeastern China during 10 years. *Exp Ther Med*. 2020;20(6):281.
72. Sakka N, Shemer A, Barzilai A, Farhi R, Daniel R. Occult tinea pedis in an Israeli population and predisposing factors for the acquisition of the disease. *International Journal of Dermatology*. 2015;54:146-9.
73. Ge G, Li D, Mei H, Lu G, Zheng H, Liu W, et al. Different toenail onychomycosis due to *Rhodotorula mucilaginosa* and *Candida parapsilosis* in an immunocompetent young adult. *Med Mycol Case Rep*. 2019;24:69-71.
74. Idris NFB, Huang G, Jia Q, Yuan L, Li Y, Tu Z. Mixed infection of Toe Nail Caused by *Trichosporon asahii* and *Rhodotorula mucilaginosa*. *Mycopathologia*. 2020;185(2):373-6.

75. Mot AC, Parvu M, Parvu AE, Rosca-Casian O, Dina NE, Leopold N, et al. Reversible naftifine-induced carotenoid depigmentation in *Rhodotorula mucilaginosa* (A Jorg.) F.C. Harrison causing onychomycosis. *Sci Rep.* 2017;7(1):11125.
76. Hwang SM, Suh MK, Ha GY. Onychomycosis Due to Nondermatophytic Molds. *Ann Dermatol.* 2012;24(2):175-80.
77. Najafzadeh MJ, Dolatabadi S, de Hoog S, Esfahadi MK, Haghani I, Aghili SR, et al. Phylogenetic Analysis of Clinically Relevant *Fusarium* Species in Iran. *Mycopathologia.* 2020;185(3):515-25.
78. Rosa PD, Heidrich D, Correa C, Scroferneker ML, Vettorato G, Fuentefria AM, et al. Genetic diversity and antifungal susceptibility of *Fusarium* isolates in onychomycosis. *Mycoses.* 2017;60(9):616-22.
79. Hirose M, Noguchi H, Matsumoto T, Kimura U, Hiruma M, Kano R, et al. Ungual hyalohyphomycosis caused by *Fusarium cugenangense*. *Clin case Rep.* 2020;8(12):3533-8.
80. Tupaki-Sreepurna A, Kindo AJ. *Fusarium*: The versatile pathogen. *Indian J Med Microbiol.* 2018;36(1):8-17
81. Diongue K, Diallo MA, Ndiaye M, Seck MC, Badiane AS, Ndiaye D.[Interdigital tinea pedis resulting from *Fusarium* spp in Dakar, Senegal]. *J Mycol Med.* 2018;28(1):227-31.
82. Bongomin F, Batac CR, Richardson MD, Denning DW. A Review of Onychomycosis Due to *Aspergillus* Species. *Mycopathologia.* 2018;183(3):485-93.
83. Borgohain P, Barua P, Dutta PJ, Shaw D, Rudramurthy SM. Onychomycosis Associated with Superficial Skin Infection Due to *Aspergillus sydowii* in an Immunocompromised Patient. *Mycopathologia.* 2019;184(5):683-9.
84. Pakshir K, Kamali M, Nouraei H, Zomorodian K, Motamedi M, Mahmoodi M. Molecular characterization and antifungal activity against non-dermatophyte molds causing onychomycosis. *Scientific Reports.* 2021;11(1):20736.

85. Salo JM, Kedves O, Mikkola R, Kredics L, Anderson MA, Kurnitski J, et al. Detection of *Chaetomium globosum*, *Ch. cochliodes* and *Ch. rectangulare* during the Diversity Tracking of Mycotoxin-Producing *Chaetomium*-Like Isolates Obtained in Buildings in Finland. *Toxins (Basel)*. 2020;12(7).
86. Aquino P, Osorio AM, Ninána E, Torres F. Caracterización de nanopartículas de ZnO sintetizadas por el método de precipitación y su evaluación en la incorporación en pinturas esmalte. *Rev Soc Quím Perú*. 2018;84(1):5-17.



## ANEXO 1

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

..... con D.N.I  
....., acepto, participar en la investigación “Microbiota fúngica patógena pédica y su control mediante cuero funcionalizado con nanopartículas de óxido de zinc” a cargo de la MSc. Liliana Solis, y asesorado por el Dr. Gerardo Cruz Cerro.

Este trabajo de investigación tiene como objetivo: Evaluar la actividad de las nanopartículas de óxido de zinc y de nanopartículas de ZnO funcionalizadas en cuero sobre la microbiota fúngica patógena aislada de los pies.

**ACEPTO**, a que se tomen muestras (por duplicado) de raspado-cinta de los pies, que corresponden a las zonas de talón, interdigital, y muestra de uña.

La información que se obtenga será tratada confidencialmente por el investigador y de su asesor, quienes garantizan el secreto y respeto a mi privacidad. Soy consciente que el informe de la investigación será publicado no siendo mencionados los nombres de los participantes, teniendo libertad de retirar mi consentimiento en cualquier momento y dejar de participar del estudio sin que esto genere algún perjuicio y/o gasto. Sé que de tener dudas de mi participación podré aclararlas con las investigadoras. Por último, declaro que después de las aclaraciones convenientemente realizadas, consiento participar de la presente investigación.

-----  
Firma del participante.

Tumbes, ..... de.....del 2021

## ANEXO 2

### Identificación molecular de los hongos aislados

Código	Nombre científico	Fuente de aislamiento	Código de referencia Blast
2u	<i>Candida parapsilosis</i>	uña	MT482736.1
3U	<i>Candida parapsilosis</i>	uña	OM996017.1
3ID	<i>Fusarium penzigii</i>	interdigital	MT348214.1
3PL	<i>Candida parapsilosis</i>	Planta del pie	OM996017.1
4PL	<i>Trichosporon debeurmaniannum</i>	Planta del pie	FJ943428.1
6IL	<i>Candida parapsilosis</i>	interdigital	OM996017.1
7B	<i>Aspergillus sp.</i>	interdigital	MN095138.1
9	<i>Trichophyton rubrum</i>	uña	MT623559.1
11	<i>Penicillium sp.</i>	interdigital	MT606202.1
12	<i>Aspergillus sydowii</i>	uña	MT594361.1
12R	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	uña	MK377029.1
13.1	<i>Trichophyton interdigitale</i>	uña	OM951151.1
13.2	<i>Acrophyalophora sp.</i>	uña	MN889997.1
14	<i>Aspergillus sydowii</i>	Planta del pie	MT594361.1
16	<i>Candida catenulata</i>	interdigital	KY103365.1
17	<i>Candida metapsilosis</i>	Interdigital	MT444954.1
17.1	<i>Chaetomium sp.</i>	uña	MT089953.1
18	<i>Trichosporon inkin</i>	Planta del pie	MH820086.1
19	<i>Candida albicans</i>	interdigital	MK805514.1
19u	<i>Trichophyton rubrum</i>	uña	MT623559.1
20	<i>Trichophyton rubrum</i>	uña	MT623559.1
21	<i>Aspergillus versicolor</i>	uña	MT560203.1
22	<i>Fusarium keratoplasticum</i>	uña	MT611194.1
22PL	<i>Trichosporon inkin</i>	Planta del pie	MN809448.1
23 <sup>a</sup>	<i>Aspergillus chevalieri</i>	uña	MT609894.1
23	<i>Trichophyton interdigitale</i>	uña	OM951151.1
23IL	<i>Candida tropicalis</i>	interdigital	MN861068.1

Continuación...

24	<i>Candida parapsilosis</i>	Planta del pie	OM996017.1
24u	<i>Trichophyton rubrum</i>	uña	MT623559.1
25	<i>Trichophyton rubrum</i>	uña	MT623559.1
25IL	<i>Trichosporon inkin</i>	interdigital	MH820086.1
29	<i>Candida parapsilosis</i>	Planta del pie	OM996017.1

---

### ANEXO 3

#### ANOVA TWO WAY para las especies de hongo aisladas con respecto a la parte del pie

Overall ANOVA	DF	Sum of squares	Mean squares	F value	P value
Especie	20	152.60319	7.63016	4.36801	3,62E-05
Parte del pie	2	0.79365	0.39683	0.22717	0,79781
Model	22	153.39683	6.97258	3.99157	7,23E-05
Error	40	69.87302	174683	--	--
Corrected Total	62	223.26984	--	--	--

A un nivel de significancia de 0.01, la media de la población de Especies es significativamente diferentes.

A un nivel de significancia de 0.01, la media de la población de Partes del pie no es significativamente diferente.

## ANEXO 4

### Prueba de Tukey para las especies de hongos aisladas, y para la parte del pie de

Espece	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
<i>C. parapsilosis Candida krusei</i>	2,33333	1,07914	3,05783	0,82254	0,05	0	-1,78681	6,45348
<i>C. tropicalis Candida krusei</i>	3,66667	1,07914	4,80515	0,13431	0,05	0	-0,45348	7,78681
<i>C. tropicalis C. parapsilosis</i>	1,33333	1,07914	1,74733	0,99939	0,05	0	-2,78681	5,45348
<i>C. albicans Candida krusei</i>	-1,33333	1,07914	1,74733	0,99939	0,05	0	-5,45348	2,78681
<i>C. albicans C. parapsilosis</i>	-3,66667	1,07914	4,80515	0,13431	0,05	0	-7,78681	0,45348
<i>C. albicans C. tropicalis</i>	-5	1,07914	6,55248	0,00542	0,05	1	-9,12014	-0,87986
<i>C. glabrata Candida krusei</i>	1,33333	1,07914	1,74733	0,99939	0,05	0	-2,78681	5,45348
<i>C. glabrata C. parapsilosis</i>	-1	1,07914	1,3105	0,99999	0,05	0	-5,12014	3,12014
<i>C. glabrata C. tropicalis</i>	-2,33333	1,07914	3,05783	0,82254	0,05	0	-6,45348	1,78681
<i>C. glabrata C. albicans</i>	2,66667	1,07914	3,49466	0,63165	0,05	0	-1,45348	6,78681
<i>C. metapsilosis Candida krusei</i>	-2	1,07914	2,62099	0,94402	0,05	0	-6,12014	2,12014
<i>C. metapsilosis C. parapsilosis</i>	-4,33333	1,07914	5,67882	0,0301	0,05	1	-8,45348	-0,21319
<i>C. metapsilosis C. tropicalis</i>	-5,66667	1,07914	7,42615	8,54E-04	0,05	1	-9,78681	-1,54652
<i>C. metapsilosis C. albicans</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>C. metapsilosis C. glabrata</i>	-3,33333	1,07914	4,36832	0,2515	0,05	0	-7,45348	0,78681
<i>C. catenulata Candida krusei</i>	-2	1,07914	2,62099	0,94402	0,05	0	-6,12014	2,12014
<i>C. catenulata C. parapsilosis</i>	-4,33333	1,07914	5,67882	0,0301	0,05	1	-8,45348	-0,21319
<i>C. catenulata C. tropicalis</i>	-5,66667	1,07914	7,42615	8,54E-04	0,05	1	-9,78681	-1,54652
<i>C. catenulata C. albicans</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>C. catenulata C. glabrata</i>	-3,33333	1,07914	4,36832	0,2515	0,05	0	-7,45348	0,78681
<i>C. catenulata C. metapsilosis</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Rhodotorula mucilaginosa Candida krusei</i>	-2	1,07914	2,62099	0,94402	0,05	0	-6,12014	2,12014
<i>Rhodotorula mucilaginosa C. parapsilosis</i>	-4,33333	1,07914	5,67882	0,0301	0,05	1	-8,45348	-0,21319
<i>Rhodotorula mucilaginosa C. tropicalis</i>	-5,66667	1,07914	7,42615	8,54E-04	0,05	1	-9,78681	-1,54652
<i>Rhodotorula mucilaginosa C. albicans</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Rhodotorula mucilaginosa C. glabrata</i>	-3,33333	1,07914	4,36832	0,2515	0,05	0	-7,45348	0,78681
<i>Rhodotorula mucilaginosa C. metapsilosis</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Rhodotorula mucilaginosa C. catenulata</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Trichosporon inkin Candida krusei</i>	-1,33333	1,07914	1,74733	0,99939	0,05	0	-5,45348	2,78681
<i>Trichosporon inkin C. parapsilosis</i>	-3,66667	1,07914	4,80515	0,13431	0,05	0	-7,78681	0,45348
<i>Trichosporon inkin C. tropicalis</i>	-5	1,07914	6,55248	0,00542	0,05	1	-9,12014	-0,87986
<i>Trichosporon inkin C. albicans</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Trichosporon inkin C. glabrata</i>	-2,66667	1,07914	3,49466	0,63165	0,05	0	-6,78681	1,45348
<i>Trichosporon inkin C. metapsilosis</i>	0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-3,45348	4,78681
<i>Trichosporon inkin C. catenulata</i>	0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-3,45348	4,78681
<i>Trichosporon inkin Rhodotorula mucilaginosa</i>	0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-3,45348	4,78681
<i>T. debeurmannianum Candida krusei</i>	-1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-5,78681	2,45348

...Continúa								
<i>T. debeurmannianum C. parapsilosis</i>	-4	1,07914	5,24199	0,06581	0,05	0	-8,12014	0,12014
<i>T. debeurmannianum C. tropicalis</i>	-5,33333	1,07914	6,98931	0,00218	0,05	1	-9,45348	-1,21319
<i>T. debeurmannianum C. albicans</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>T. debeurmannianum C. glabrata</i>	-3	1,07914	3,93149	0,42397	0,05	0	-7,12014	1,12014
<i>T. debeurmannianum C. metapsilosis</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>T. debeurmannianum C. catenulata</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>T. debeurmannianum Rhodotorula mucilaginosa</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>T. debeurmannianum Trichosporon inkin</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Trichophyton rubrum Candida krusei</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Trichophyton rubrum C. parapsilosis</i>	-2,66667	1,07914	3,49466	0,63165	0,05	0	-6,78681	1,45348
<i>Trichophyton rubrum C. tropicalis</i>	-4	1,07914	5,24199	0,06581	0,05	0	-8,12014	0,12014
<i>Trichophyton rubrum C. albicans</i>	1	1,07914	1,3105	0,99999	0,05	0	-3,12014	5,12014
<i>Trichophyton rubrum C. glabrata</i>	-1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-5,78681	2,45348
<i>Trichophyton rubrum C. metapsilosis</i>	1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-2,45348	5,78681
<i>Trichophyton rubrum C. catenulata</i>	1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-2,45348	5,78681
<i>Trichophyton rubrum Rhodotorula mucilaginosa</i>	1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-2,45348	5,78681
<i>Trichophyton rubrum Trichosporon inkin</i>	1	1,07914	1,3105	0,99999	0,05	0	-3,12014	5,12014
<i>Trichophyton rubrum T. debeurmannianum</i>	1,33333	1,07914	1,74733	0,99939	0,05	0	-2,78681	5,45348
<i>T. interdigitale Candida krusei</i>	-1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-5,78681	2,45348
<i>T. interdigitale C. parapsilosis</i>	-4	1,07914	5,24199	0,06581	0,05	0	-8,12014	0,12014
<i>T. interdigitale C. tropicalis</i>	-5,33333	1,07914	6,98931	0,00218	0,05	1	-9,45348	-1,21319
<i>T. interdigitale C. albicans</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>T. interdigitale C. glabrata</i>	-3	1,07914	3,93149	0,42397	0,05	0	-7,12014	1,12014
<i>T. interdigitale C. metapsilosis</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>T. interdigitale C. catenulata</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>T. interdigitale Rhodotorula mucilaginosa</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>T. interdigitale Trichosporon inkin</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>T. interdigitale T. debeurmannianum</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>T. interdigitale Trichophyton rubrum</i>	-1,33333	1,07914	1,74733	0,99939	0,05	0	-5,45348	2,78681
<i>Aspergillus sp Candida krusei</i>	-1,33333	1,07914	1,74733	0,99939	0,05	0	-5,45348	2,78681
<i>Aspergillus sp C. parapsilosis</i>	-3,66667	1,07914	4,80515	0,13431	0,05	0	-7,78681	0,45348
<i>Aspergillus sp C. tropicalis</i>	-5	1,07914	6,55248	0,00542	0,05	1	-9,12014	-0,87986
<i>Aspergillus sp C. albicans</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Aspergillus sp C. glabrata</i>	-2,66667	1,07914	3,49466	0,63165	0,05	0	-6,78681	1,45348
<i>Aspergillus sp C. metapsilosis</i>	0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-3,45348	4,78681
<i>Aspergillus sp C. catenulata</i>	0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-3,45348	4,78681
<i>Aspergillus sp Rhodotorula mucilaginosa</i>	0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-3,45348	4,78681
<i>Aspergillus sp Trichosporon inkin</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Aspergillus sp T. debeurmannianum</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>Aspergillus sp Trichophyton rubrum</i>	-1	1,07914	1,3105	0,99999	0,05	0	-5,12014	3,12014
<i>Aspergillus sp T. interdigitale</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>A. sydowii Candida krusei</i>	-1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-5,78681	2,45348

...Continúa								
<i>A. sydowii C. parapsilosis</i>	-4	1,07914	5,24199	0,06581	0,05	0	-8,12014	0,12014
<i>A. sydowii C. tropicalis</i>	-5,33333	1,07914	6,98931	0,00218	0,05	1	-9,45348	-1,21319
<i>A. sydowii C. albicans</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>A. sydowii C. glabrata</i>	-3	1,07914	3,93149	0,42397	0,05	0	-7,12014	1,12014
<i>A. sydowii C. metapsilosis</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>A. sydowii C. catenulata</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>A. sydowii Rhodotorula mucilaginosa</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>A. sydowii Trichosporon inkin</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>A. sydowii T. debeurmannianum</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>A. sydowii Trichophyton rubrum</i>	-1,33333	1,07914	1,74733	0,99939	0,05	0	-5,45348	2,78681
<i>A. sydowii T. interdigitale</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>A. sydowii Aspergillus sp</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>A. versicolor Candida krusei</i>	-2	1,07914	2,62099	0,94402	0,05	0	-6,12014	2,12014
<i>A. versicolor C. parapsilosis</i>	-4,33333	1,07914	5,67882	0,0301	0,05	1	-8,45348	-0,21319
<i>A. versicolor C. tropicalis</i>	-5,66667	1,07914	7,42615	8,54E-04	0,05	1	-9,78681	-1,54652
<i>A. versicolor C. albicans</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>A. versicolor C. glabrata</i>	-3,33333	1,07914	4,36832	0,2515	0,05	0	-7,45348	0,78681
<i>A. versicolor C. metapsilosis</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>A. versicolor C. catenulata</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>A. versicolor Rhodotorula mucilaginosa</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>A. versicolor Trichosporon inkin</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>A. versicolor T. debeurmannianum</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>A. versicolor Trichophyton rubrum</i>	-1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-5,78681	2,45348
<i>A. versicolor T. interdigitale</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>A. versicolor Aspergillus sp</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>A. versicolor A. sydowii</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>A. chavelieri Candida krusei</i>	-2	1,07914	2,62099	0,94402	0,05	0	-6,12014	2,12014
<i>A. chavelieri C. parapsilosis</i>	-4,33333	1,07914	5,67882	0,0301	0,05	1	-8,45348	-0,21319
<i>A. chavelieri C. tropicalis</i>	-5,66667	1,07914	7,42615	8,54E-04	0,05	1	-9,78681	-1,54652
<i>A. chavelieri C. albicans</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>A. chavelieri C. glabrata</i>	-3,33333	1,07914	4,36832	0,2515	0,05	0	-7,45348	0,78681
<i>A. chavelieri C. metapsilosis</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>A. chavelieri C. catenulata</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>A. chavelieri Rhodotorula mucilaginosa</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>A. chavelieri Trichosporon inkin</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>A. chavelieri T. debeurmannianum</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>A. chavelieri Trichophyton rubrum</i>	-1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-5,78681	2,45348
<i>A. chavelieri T. interdigitale</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>A. chavelieri Aspergillus sp</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>A. chavelieri A. sydowii</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>A. chavelieri A. versicolor</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Penicillium sp Candida krusei</i>	-1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-5,78681	2,45348
<i>Penicillium sp C. parapsilosis</i>	-4	1,07914	5,24199	0,06581	0,05	0	-8,12014	0,12014

...Continúa								
<i>Penicillium sp C. tropicalis</i>	-5,33333	1,07914	6,98931	0,00218	0,05	1	-9,45348	-1,21319
<i>Penicillium sp C. albicans</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Penicillium sp C. glabrata</i>	-3	1,07914	3,93149	0,42397	0,05	0	-7,12014	1,12014
<i>Penicillium sp C. metapsilosis</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>Penicillium sp C. catenulata</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>Penicillium sp Rhodotorula mucilaginosa</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>Penicillium sp Trichosporon inkin</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Penicillium sp T. debeurmannianum</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Penicillium sp T. rubrum</i>	-1,33333	1,07914	1,74733	0,99939	0,05	0	-5,45348	2,78681
<i>Penicillium sp T. interdigitale</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Penicillium sp Aspergillus sp</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Penicillium sp A. sydowii</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Penicillium sp A. versicolor</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>Penicillium sp A. chavelieri</i>	0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-3,78681	4,45348
<i>Chaetomium globosum Candida krusei</i>	-2	1,07914	2,62099	0,94402	0,05	0	-6,12014	2,12014
<i>Chaetomium globosum C. parapsilosis</i>	-4,33333	1,07914	5,67882	0,0301	0,05	1	-8,45348	-0,21319
<i>Chaetomium globosum C. tropicalis</i>	-5,66667	1,07914	7,42615	8,54E-04	0,05	1	-9,78681	-1,54652
<i>Chaetomium globosum C. albicans</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Chaetomium globosum C. glabrata</i>	-3,33333	1,07914	4,36832	0,2515	0,05	0	-7,45348	0,78681
<i>Chaetomium globosum C. metapsilosis</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Chaetomium globosum C. catenulata</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Chaetomium globosum Rhodotorula mucilaginosa</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Chaetomium globosum Trichosporon inkin</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Chaetomium globosum T. debeurmannianum</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Chaetomium globosum Trichophyton rubrum</i>	-1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-5,78681	2,45348
<i>Chaetomium globosum T. interdigitale</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Chaetomium globosum Aspergillus sp</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Chaetomium globosum A. sydowii</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Chaetomium globosum A. versicolor</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Chaetomium globosum A. chavelieri</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Chaetomium globosum Penicillium sp</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Fusarium keratoplasticum Candida krusei</i>	-2	1,07914	2,62099	0,94402	0,05	0	-6,12014	2,12014
<i>Fusarium keratoplasticum C. parapsilosis</i>	-4,33333	1,07914	5,67882	0,0301	0,05	1	-8,45348	-0,21319
<i>Fusarium keratoplasticum C. tropicalis</i>	-5,66667	1,07914	7,42615	8,54E-04	0,05	1	-9,78681	-1,54652
<i>Fusarium keratoplasticum C. albicans</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Fusarium keratoplasticum C. glabrata</i>	-3,33333	1,07914	4,36832	0,2515	0,05	0	-7,45348	0,78681
<i>Fusarium keratoplasticum C. metapsilosis</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Fusarium keratoplasticum C. catenulata</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Fusarium keratoplasticum Rhodotorula mucilaginosa</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014

...Continúa								
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>Trichosporon inkin</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>T. debeurmannianum</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>Trichophyton rubrum</i>	-1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-5,78681	2,45348
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>T. interdigitale</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>Aspergillus sp</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>A. sydowii</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>A. versicolor</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>A. chavelieri</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>Penicillium sp</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>Chaetomium globosum</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Candida krusei</i>	-2	1,07914	2,62099	0,94402	0,05	0	-6,12014	2,12014
<i>Fusarium penzigii</i> <i>C. parapsilosis</i>	-4,33333	1,07914	5,67882	0,0301	0,05	1	-8,45348	-0,21319
<i>Fusarium penzigii</i> <i>C. tropicalis</i>	-5,66667	1,07914	7,42615	8,54E-04	0,05	1	-9,78681	-1,54652
<i>Fusarium penzigii</i> <i>C. albicans</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Fusarium penzigii</i> <i>C. glabrata</i>	-3,33333	1,07914	4,36832	0,2515	0,05	0	-7,45348	0,78681
<i>Fusarium penzigii</i> <i>C. metapsilosis</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Fusarium penzigii</i> <i>C. catenulata</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Trichosporon inkin</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Fusarium penzigii</i> <i>T. debeurmannianum</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Fusarium penzigii</i> <i>T. rubrum</i>	-1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-5,78681	2,45348
<i>Fusarium penzigii</i> <i>T. interdigitale</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Aspergillus sp</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Fusarium penzigii</i> <i>A. sydowii</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Fusarium penzigii</i> <i>A. versicolor</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Fusarium penzigii</i> <i>A. chavelieri</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Penicillium sp</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Chaetomium globosum</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Fusarium keratoplasticum</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Acrophialophora sp.</i> <i>Candida krusei</i>	-2	1,07914	2,62099	0,94402	0,05	0	-6,12014	2,12014
<i>Acrophialophora sp.</i> <i>C. parapsilosis</i>	-4,33333	1,07914	5,67882	0,0301	0,05	1	-8,45348	-0,21319
<i>Acrophialophora sp.</i> <i>C. tropicalis</i>	-5,66667	1,07914	7,42615	8,54E-04	0,05	1	-9,78681	-1,54652
<i>Acrophialophora sp.</i> <i>C. albicans</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Acrophialophora sp.</i> <i>C. glabrata</i>	-3,33333	1,07914	4,36832	0,2515	0,05	0	-7,45348	0,78681
<i>Acrophialophora sp.</i> <i>C. metapsilosis</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Acrophialophora sp.</i> <i>C. catenulata</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Acrophialophora sp.</i> <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Acrophialophora sp.</i> <i>Trichosporon inkin</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Acrophialophora sp.</i> <i>T. debeurmannianum</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Acrophialophora sp.</i> <i>Trichophyton rubrum</i>	-1,66667	1,07914	2,18416	0,99061	0,05	0	-5,78681	2,45348

...Continúa								
<i>Acrophialophora sp. T. interdigitale</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Acrophialophora sp. Aspergillus sp</i>	-0,66667	1,07914	0,87366	1	0,05	0	-4,78681	3,45348
<i>Acrophialophora sp. A. sydowii</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Acrophialophora sp. A. versicolor</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Acrophialophora sp. A. chavelieri</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Acrophialophora sp. Penicillium sp</i>	-0,33333	1,07914	0,43683	1	0,05	0	-4,45348	3,78681
<i>Acrophialophora sp. Chaetomium globosum</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Acrophialophora sp. Fusarium keratoplasticum</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014
<i>Acrophialophora sp. Fusarium penzigii</i>	0	1,07914	0	1	0,05	0	-4,12014	4,12014

Parte del pie	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
Plantar Uña	-0,2381	0,40788	0,82554	0,82957	0,05	0	-1,23082	0,75463
Interdigital Uña	0	0,40788	0	1	0,05	0	-0,99273	0,99273
Interdigital Plantar	0,2381	0,40788	0,82554	0,82957	0,05	0	-0,75463	1,23082

La significancia igual a 1 indica que la diferencia de medias es significativa a un nivel de 0.05.

La significancia igual a 0 indica que la diferencia de medias no es significativa a un nivel de 0.05.

## ANEXO 5

### Actividad del Fluconazol (25 µg/ml) sobre el crecimiento de levaduras aisladas de micosis en pies

Especie de Hongo	Inhibición del crecimiento (Θ mm)	Halo de inhibición (Θ mm)*
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	6	Resistente
<i>Trichosporon inkin</i> – 18	25	Sensible
<i>T. inkin</i> – 4	18	Resistente
<i>Candida parapsilosis</i> – 12	20	Sensible
<i>C. parapsilosis</i> – 5	18.1	Sensible
<i>C. albicans</i> – 4	14.3	SDD
<i>C. albicans</i> – 20	20.1	Sensible
<i>C. tropicalis</i> – 7	19.8	Sensible
<i>C. tropicalis</i> – 30	11.5	Resistente
<i>C. glabrata</i> – 3	28.8	Sensible
<i>C. glabrata</i> – 14	15.3	SDD
<i>C. krusei</i> – 1	14.4	SDD
<i>C. krusei</i> – 15	6	Resistente

\*Según Tapia<sup>(87)</sup>: Sensible ≥ 19 mm, Resistente ≤ 14 mm, Sensible dosis dependiente (SDD) 15-18 mm.

## ANEXO 6

### ANOVA TWO WAY para las especies de levaduras y la concentración de nanopartículas de ZnO

Overall ANOVA	DF	Sum of squares	Mean squares	F value	P value
Especie	12	290.09538	24.17462	2.95813	0,00214
Concentración de NP-ZnO	6	1038.21692	173.03615	21.17359	3,73E-14
Model	18	1328.31231	73.79513	9.02995	3,58E-12
Error	72	588.40308	8.17226	--	--
Corrected Total	90	1916.71538	--	--	--

A un nivel de significancia de 0.01, la media de la población de Especies de levaduras es significativamente diferentes

A un nivel de significancia de 0.01, la media de la población de la concentración de nanopartículas de ZnO es significativamente diferente.

## ANEXO 7

### Prueba de Tukey para las especies de levaduras y la concentración de NPs-ZnO

Levadura	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
<i>Trichosporon inkin</i> -18 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	3,85714	1,52805	3,5698	0,37517	0,05	0	-1,37858	9,09286
<i>Trichosporon inkin</i> -4 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1,42857	1,52805	1,32215	0,99919	0,05	0	-3,80715	6,66429
<i>Trichosporon inkin</i> -4 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-2,42857	1,52805	2,24765	0,92751	0,05	0	-7,66429	2,80715
<i>Candida parapsilosis</i> - 12 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1,42857	1,52805	1,32215	0,99919	0,05	0	-3,80715	6,66429
<i>Candida parapsilosis</i> - 12 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-2,42857	1,52805	2,24765	0,92751	0,05	0	-7,66429	2,80715
<i>Candida parapsilosis</i> - 12 <i>Trichosporon inkin</i> -4	0	1,52805	0	1	0,05	0	-5,23572	5,23572
<i>Candida parapsilosis</i> - 5 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	2,3	1,52805	2,12866	0,95029	0,05	0	-2,93572	7,53572
<i>Candida parapsilosis</i> - 5 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-1,55714	1,52805	1,44114	0,99814	0,05	0	-6,79286	3,67858
<i>Candida parapsilosis</i> - 5 <i>Trichosporon inkin</i> -4	0,87143	1,52805	0,80651	0,99999	0,05	0	-4,36429	6,10715
<i>Candida parapsilosis</i> - 5 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	0,87143	1,52805	0,80651	0,99999	0,05	0	-4,36429	6,10715
<i>Candida albicans</i> - 4 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1,32857	1,52805	1,2296	0,99961	0,05	0	-3,90715	6,56429
<i>Candida albicans</i> - 4 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-2,52857	1,52805	2,3402	0,90556	0,05	0	-7,76429	2,70715
<i>Candida albicans</i> - 4 <i>Trichosporon inkin</i> -4	-0,1	1,52805	0,09255	1	0,05	0	-5,33572	5,13572
<i>Candida albicans</i> - 4 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	-0,1	1,52805	0,09255	1	0,05	0	-5,33572	5,13572
<i>Candida albicans</i> - 4 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	-0,97143	1,52805	0,89906	0,99999	0,05	0	-6,20715	4,26429
<i>Candida albicans</i> - 20 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	2,15714	1,52805	1,99644	0,96904	0,05	0	-3,07858	7,39286
<i>Candida albicans</i> - 20 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-1,7	1,52805	1,57335	0,9958	0,05	0	-6,93572	3,53572
<i>Candida albicans</i> - 20 <i>Trichosporon inkin</i> -4	0,72857	1,52805	0,67429	1	0,05	0	-4,50715	5,96429
<i>Candida albicans</i> - 20 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	0,72857	1,52805	0,67429	1	0,05	0	-4,50715	5,96429
<i>Candida albicans</i> - 20 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	-0,14286	1,52805	0,13221	1	0,05	0	-5,37858	5,09286
<i>Candida albicans</i> - 20 <i>Candida albicans</i> - 4	0,82857	1,52805	0,76685	1	0,05	0	-4,40715	6,06429
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	7,4	1,52805	6,84872	4,90E-04	0,05	1	2,16428	12,63572
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Trichosporon inkin</i> -18	3,54286	1,52805	3,27892	0,51164	0,05	0	-1,69286	8,77858
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Trichosporon inkin</i> -4	5,97143	1,52805	5,52657	0,01212	0,05	1	0,73571	11,20715
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	5,97143	1,52805	5,52657	0,01212	0,05	1	0,73571	11,20715
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	5,1	1,52805	4,72006	0,0635	0,05	0	-0,13572	10,33572
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Candida albicans</i> - 4	6,07143	1,52805	5,61912	0,00985	0,05	1	0,83571	11,30715
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Candida albicans</i> - 20	5,24286	1,52805	4,85228	0,04937	0,05	1	0,00714	10,47858
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	0,92857	1,52805	0,8594	0,99999	0,05	0	-4,30715	6,16429
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-2,92857	1,52805	2,7104	0,78025	0,05	0	-8,16429	2,30715
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Trichosporon inkin</i> -4	-0,5	1,52805	0,46275	1	0,05	0	-5,73572	4,73572
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	-0,5	1,52805	0,46275	1	0,05	0	-5,73572	4,73572
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	-1,37143	1,52805	1,26926	0,99946	0,05	0	-6,60715	3,86429
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Candida albicans</i> - 4	-0,4	1,52805	0,3702	1	0,05	0	-5,63572	4,83572
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Candida albicans</i> - 20	-1,22857	1,52805	1,13705	0,99982	0,05	0	-6,46429	4,00715
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Candida tropicalis</i> - 7	-6,47143	1,52805	5,98933	0,00418	0,05	1	11,70715	-1,23571
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	2,68571	1,52805	2,48564	0,86331	0,05	0	-2,55001	7,92144
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-1,17143	1,52805	1,08416	0,99989	0,05	0	-6,40715	4,06429

...Continúa								
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Trichosporon inkin</i> -4	1,25714	1,52805	1,16349	0,99978	0,05	0	-3,97858	6,49286
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	1,25714	1,52805	1,16349	0,99978	0,05	0	-3,97858	6,49286
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	0,38571	1,52805	0,35698	1	0,05	0	-4,85001	5,62144
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Candida albicans</i> - 4	1,35714	1,52805	1,25604	0,99951	0,05	0	-3,87858	6,59286
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Candida albicans</i> - 20	0,52857	1,52805	0,48919	1	0,05	0	-4,70715	5,76429
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Candida tropicalis</i> - 7	-4,71429	1,52805	4,36309	0,11986	0,05	0	-9,95001	0,52144
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Candida tropicalis</i> - 30	1,75714	1,52805	1,62624	0,99434	0,05	0	-3,47858	6,99286
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	0,75714	1,52805	0,70074	1	0,05	0	-4,47858	5,99286
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-3,1	1,52805	2,86906	0,71084	0,05	0	-8,33572	2,13572
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Trichosporon inkin</i> -4	-0,67143	1,52805	0,62141	1	0,05	0	-5,90715	4,56429
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	-0,67143	1,52805	0,62141	1	0,05	0	-5,90715	4,56429
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	-1,54286	1,52805	1,42792	0,9983	0,05	0	-6,77858	3,69286
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida albicans</i> - 4	-0,57143	1,52805	0,52886	1	0,05	0	-5,80715	4,66429
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida albicans</i> - 20	-1,4	1,52805	1,2957	0,99934	0,05	0	-6,63572	3,83572
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida tropicalis</i> - 7	-6,64286	1,52805	6,14798	0,00286	0,05	1	11,87858	-1,40714
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida tropicalis</i> - 30	-0,17143	1,52805	0,15866	1	0,05	0	-5,40715	5,06429
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida glabrata</i> - 3	-1,92857	1,52805	1,7849	0,98736	0,05	0	-7,16429	3,30715
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	2,77143	1,52805	2,56497	0,83634	0,05	0	-2,46429	8,00715
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-1,08571	1,52805	1,00483	0,99995	0,05	0	-6,32144	4,15001
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Trichosporon inkin</i> -4	1,34286	1,52805	1,24282	0,99956	0,05	0	-3,89286	6,57858
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	1,34286	1,52805	1,24282	0,99956	0,05	0	-3,89286	6,57858
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	0,47143	1,52805	0,43631	1	0,05	0	-4,76429	5,70715
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida albicans</i> - 4	1,44286	1,52805	1,33537	0,99911	0,05	0	-3,79286	6,67858
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida albicans</i> - 20	0,61429	1,52805	0,56852	1	0,05	0	-4,62144	5,85001
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida tropicalis</i> - 7	-4,62857	1,52805	4,28376	0,13674	0,05	0	-9,86429	0,60715
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida tropicalis</i> - 30	1,84286	1,52805	1,70557	0,99141	0,05	0	-3,39286	7,07858
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida glabrata</i> - 3	0,08571	1,52805	0,07933	1	0,05	0	-5,15001	5,32144
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida glabrata</i> - 14	2,01429	1,52805	1,86423	0,98193	0,05	0	-3,22144	7,25001
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1,42857	1,52805	1,32215	0,99919	0,05	0	-3,80715	6,66429
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-2,42857	1,52805	2,24765	0,92751	0,05	0	-7,66429	2,80715
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Trichosporon inkin</i> -4	0	1,52805	0	1	0,05	0	-5,23572	5,23572
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	0	1,52805	0	1	0,05	0	-5,23572	5,23572
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	-0,87143	1,52805	0,80651	0,99999	0,05	0	-6,10715	4,36429
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida albicans</i> - 4	0,1	1,52805	0,09255	1	0,05	0	-5,13572	5,33572
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida albicans</i> - 20	-0,72857	1,52805	0,67429	1	0,05	0	-5,96429	4,50715
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida tropicalis</i> - 7	-5,97143	1,52805	5,52657	0,01212	0,05	1	11,20715	-0,73571
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida tropicalis</i> - 30	0,5	1,52805	0,46275	1	0,05	0	-4,73572	5,73572
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida glabrata</i> - 3	-1,25714	1,52805	1,16349	0,99978	0,05	0	-6,49286	3,97858
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida glabrata</i> - 14	0,67143	1,52805	0,62141	1	0,05	0	-4,56429	5,90715
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida krusei</i> - 1	-1,34286	1,52805	1,24282	0,99956	0,05	0	-6,57858	3,89286

Concentración de NPs-ZnO	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
1 0	0,92308	1,12128	1,16423	0,98176	0,05	0	-2,47808	4,32423
2 0	1	1,12128	1,26125	0,97269	0,05	0	-2,40115	4,40115
2 1	0,07692	1,12128	0,09702	1	0,05	0	-3,32423	3,47808
5 0	1,46154	1,12128	1,84336	0,84815	0,05	0	-1,93962	4,86269
5 1	0,53846	1,12128	0,67913	0,99903	0,05	0	-2,86269	3,93962
5 2	0,46154	1,12128	0,58211	0,9996	0,05	0	-2,93962	3,86269
10 0	2	1,12128	2,5225	0,56321	0,05	0	-1,40115	5,40115
10 1	1,07692	1,12128	1,35827	0,96075	0,05	0	-2,32423	4,47808
10 2	1	1,12128	1,26125	0,97269	0,05	0	-2,40115	4,40115
10 5	0,53846	1,12128	0,67913	0,99903	0,05	0	-2,86269	3,93962
50 0	3,23077	1,12128	4,0748	0,07351	0,05	0	-0,17039	6,63192
50 1	2,30769	1,12128	2,91057	0,38845	0,05	0	-1,09346	5,70885
50 2	2,23077	1,12128	2,81355	0,43024	0,05	0	-1,17039	5,63192
50 5	1,76923	1,12128	2,23144	0,6966	0,05	0	-1,63192	5,17039
50 10	1,23077	1,12128	1,55231	0,92682	0,05	0	-2,17039	4,63192
Fluconazol (25 ug/ml) 0	10,71538	1,12128	13,51476	4,45E-08	0,05	1	7,31423	14,11654
Fluconazol (25 ug/ml) 1	9,79231	1,12128	12,35053	4,86E-08	0,05	1	6,39115	13,19346
Fluconazol (25 ug/ml) 2	9,71538	1,12128	12,25351	4,89E-08	0,05	1	6,31423	13,11654
Fluconazol (25 ug/ml) 5	9,25385	1,12128	11,67139	3,16E-08	0,05	1	5,85269	12,655
Fluconazol (25 ug/ml) 10	8,71538	1,12128	10,99226	3,77E-08	0,05	1	5,31423	12,11654
Fluconazol (25 ug/ml) 50	7,48462	1,12128	9,43996	1,04E-07	0,05	1	4,08346	10,88577

La significancia igual a 1 indica que la diferencia de medias es significativa a un nivel de 0.05.

La significancia igual a 0 indica que la diferencia de medias no es significativa a un nivel de 0.05

## ANEXO 8

### ANOVA TWO WAY para las especies de dermatofitos y no dermatofitos y la concentración de nanopartículas de ZnO

Overall ANOVA	DF	Sum of squares	Mean squares	F value	P value
Especie	11	4058.08025	368.91639	4.06532	3,96E-04
Concentración de NP-ZnO	4	10221.9569	2555.48922	28.16053	1,24E-11
Model	15	14280.0371	952.00248	10,49071	4,99E-10
Error	44	3992.87605	90.74718	--	--
Corrected Total	59	18272.9132	--	--	--

A un nivel de significancia de 0.01, la media de la población de Especies de dermatofitos y no dermatofitos es significativamente diferente.

A un nivel de significancia de 0.01, la media de la población de Concentración de nanopartículas de ZnO es significativamente diferente.

## ANEXO 9

### Prueba de Tukey para las especies de dermatofitos y no dermatofitos y la concentración de NPs-ZnO

Especie	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
<i>Trichophyton rubrum</i> -28 <i>Trichophyton rubrum</i> -9	0,99556	6,02485	0,23369	1	0,05	0	-19,78493	21,77604
<i>Trichophyton rubrum</i> -25 <i>Trichophyton rubrum</i> -9	3,66222	6,02485	0,85963	0,99997	0,05	0	-17,11826	24,44271
<i>Trichophyton rubrum</i> -25 <i>Trichophyton rubrum</i> -28	2,66667	6,02485	0,62595	1	0,05	0	-18,11382	23,44715
<i>Trichophyton rubrum</i> -24 <i>Trichophyton rubrum</i> -9	7,68444	6,02485	1,80377	0,97811	0,05	0	-13,09604	28,46493
<i>Trichophyton rubrum</i> -24 <i>Trichophyton rubrum</i> -28	6,68889	6,02485	1,57008	0,99259	0,05	0	-14,0916	27,46938
<i>Trichophyton rubrum</i> -24 <i>Trichophyton rubrum</i> -25	4,02222	6,02485	0,94414	0,99993	0,05	0	-16,75826	24,80271
<i>Trichophyton rubrum</i> -23 <i>Trichophyton rubrum</i> -9	2,32889	6,02485	0,54666	1	0,05	0	-18,4516	23,10938
<i>Trichophyton rubrum</i> -23 <i>Trichophyton rubrum</i> -28	1,33333	6,02485	0,31297	1	0,05	0	-19,44715	22,11382
<i>Trichophyton rubrum</i> -23 <i>Trichophyton rubrum</i> -25	-1,33333	6,02485	0,31297	1	0,05	0	-22,11382	19,44715
<i>Trichophyton rubrum</i> -23 <i>Trichophyton rubrum</i> -24	-5,35556	6,02485	1,25711	0,99892	0,05	0	-26,13604	15,42493
<i>Trichophyton rubrum</i> -20 <i>Trichophyton rubrum</i> -9	1,47111	6,02485	0,34531	1	0,05	0	-19,30938	22,2516
<i>Trichophyton rubrum</i> -20 <i>Trichophyton rubrum</i> -28	0,47556	6,02485	0,11163	1	0,05	0	-20,30493	21,25604
<i>Trichophyton rubrum</i> -20 <i>Trichophyton rubrum</i> -25	-2,19111	6,02485	0,51432	1	0,05	0	-22,9716	18,58938
<i>Trichophyton rubrum</i> -20 <i>Trichophyton rubrum</i> -24	-6,21333	6,02485	1,45846	0,996	0,05	0	-26,99382	14,56715
<i>Trichophyton rubrum</i> -20 <i>Trichophyton rubrum</i> -23	-0,85778	6,02485	0,20135	1	0,05	0	-21,63826	19,92271
<i>Trichophyton rubrum</i> -19 <i>Trichophyton rubrum</i> -9	6,88667	6,02485	1,61651	0,99062	0,05	0	-13,89382	27,66715
<i>Trichophyton rubrum</i> -19 <i>Trichophyton rubrum</i> -28	5,89111	6,02485	1,38282	0,99747	0,05	0	-14,88938	26,6716
<i>Trichophyton rubrum</i> -19 <i>Trichophyton rubrum</i> -25	3,22444	6,02485	0,75687	0,99999	0,05	0	-17,55604	24,00493
<i>Trichophyton rubrum</i> -19 <i>Trichophyton rubrum</i> -24	-0,79778	6,02485	0,18726	1	0,05	0	-21,57826	19,98271
<i>Trichophyton rubrum</i> -19 <i>Trichophyton rubrum</i> -23	4,55778	6,02485	1,06985	0,99976	0,05	0	-16,22271	25,33826
<i>Trichophyton rubrum</i> -19 <i>Trichophyton rubrum</i> -20	5,41556	6,02485	1,27119	0,9988	0,05	0	-15,36493	26,19604
<i>Trichophyton interdigitale</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -9	19,10667	6,02485	4,48491	0,09772	0,05	0	-1,67382	39,88715
<i>Trichophyton interdigitale</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -28	18,11111	6,02485	4,25122	0,14118	0,05	0	-2,66938	38,8916
<i>Trichophyton interdigitale</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -25	15,44444	6,02485	3,62527	0,33041	0,05	0	-5,33604	36,22493
<i>Trichophyton interdigitale</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -24	11,42222	6,02485	2,68114	0,75527	0,05	0	-9,35826	32,20271
<i>Trichophyton interdigitale</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -23	16,77778	6,02485	3,93825	0,22176	0,05	0	-4,00271	37,55826
<i>Trichophyton interdigitale</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -20	17,63556	6,02485	4,13959	0,16679	0,05	0	-3,14493	38,41604
<i>Trichophyton interdigitale</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -19	12,22	6,02485	2,8684	0,67263	0,05	0	-8,56049	33,00049
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -9	5,73111	6,02485	1,34526	0,99801	0,05	0	-15,04938	26,5116
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -28	4,73556	6,02485	1,11158	0,99965	0,05	0	-16,04493	25,51604
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -25	2,06889	6,02485	0,48563	1	0,05	0	-18,7116	22,84938
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -24	-1,95333	6,02485	0,45851	1	0,05	0	-22,73382	18,82715
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -23	3,40222	6,02485	0,7986	0,99999	0,05	0	-17,37826	24,18271
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -20	4,26	6,02485	0,99995	0,99988	0,05	0	-16,52049	25,04049
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -19	-1,15556	6,02485	0,27124	1	0,05	0	-21,93604	19,62493
<i>Fusarium penzigii</i> <i>Trichophyton interdigitale</i>	13,37556	6,02485	3,13964	0,54481	0,05	0	-34,15604	7,40493
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -9	27,08444	6,02485	6,35753	0,00262	0,05	1	6,30396	47,86493
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -28	26,08889	6,02485	6,12384	0,00431	0,05	1	5,3084	46,86938
<i>Fusarium keratoplasticum</i> <i>Trichophyton rubrum</i> -25	23,42222	6,02485	5,4979	0,01556	0,05	1	2,64174	44,20271

...Continúa								
<i>Fusarium keratoplasticum Trichophyton rubrum-24</i>	19,4	6,02485	4,55376	0,08728	0,05	0	-1,38049	40,18049
<i>Fusarium keratoplasticum Trichophyton rubrum-23</i>	24,75556	6,02485	5,81087	0,00828	0,05	1	3,97507	45,53604
<i>Fusarium keratoplasticum Trichophyton rubrum-20</i>	25,61333	6,02485	6,01222	0,00546	0,05	1	4,83285	46,39382
<i>Fusarium keratoplasticum Trichophyton rubrum-19</i>	20,19778	6,02485	4,74102	0,06357	0,05	0	-0,58271	40,97826
<i>Fusarium keratoplasticum Trichophyton interdigitale</i>	7,97778	6,02485	1,87262	0,97121	0,05	0	-12,80271	28,75826
<i>Fusarium keratoplasticum Fusarium penzigii</i>	21,35333	6,02485	5,01227	0,03922	0,05	1	0,57285	42,13382
<i>Acrophialophora sp Trichophyton rubrum-9</i>	18,66	6,02485	4,38006	0,11561	0,05	0	-2,12049	39,44049
<i>Acrophialophora sp Trichophyton rubrum-28</i>	17,66444	6,02485	4,14637	0,16514	0,05	0	-3,11604	38,44493
<i>Acrophialophora sp Trichophyton rubrum-25</i>	14,99778	6,02485	3,52043	0,3728	0,05	0	-5,78271	35,77826
<i>Acrophialophora sp Trichophyton rubrum-24</i>	10,97556	6,02485	2,57629	0,79753	0,05	0	-9,80493	31,75604
<i>Acrophialophora sp Trichophyton rubrum-23</i>	16,33111	6,02485	3,8334	0,25502	0,05	0	-4,44938	37,1116
<i>Acrophialophora sp Trichophyton rubrum-20</i>	17,18889	6,02485	4,03475	0,19397	0,05	0	-3,5916	37,96938
<i>Acrophialophora sp Trichophyton rubrum-19</i>	11,77333	6,02485	2,76355	0,71985	0,05	0	-9,00715	32,55382
<i>Acrophialophora sp Trichophyton interdigitale</i>	-0,44667	6,02485	0,10485	1	0,05	0	-21,22715	20,33382
<i>Acrophialophora sp Fusarium penzigii</i>	12,92889	6,02485	3,0348	0,59461	0,05	0	-7,8516	33,70938
<i>Acrophialophora sp Fusarium keratoplasticum</i>	-8,42444	6,02485	1,97747	0,95776	0,05	0	-29,20493	12,35604
<i>Chaetomium globosum Trichophyton rubrum-9</i>	8,15556	6,02485	1,91435	0,9663	0,05	0	-12,62493	28,93604
<i>Chaetomium globosum Trichophyton rubrum-28</i>	7,16	6,02485	1,68067	0,98724	0,05	0	-13,62049	27,94049
<i>Chaetomium globosum Trichophyton rubrum-25</i>	4,49333	6,02485	1,05472	0,99979	0,05	0	-16,28715	25,27382
<i>Chaetomium globosum Trichophyton rubrum-24</i>	0,47111	6,02485	0,11058	1	0,05	0	-20,30938	21,2516
<i>Chaetomium globosum Trichophyton rubrum-23</i>	5,82667	6,02485	1,36769	0,9977	0,05	0	-14,95382	26,60715
<i>Chaetomium globosum Trichophyton rubrum-20</i>	6,68444	6,02485	1,56904	0,99263	0,05	0	-14,09604	27,46493
<i>Chaetomium globosum Trichophyton rubrum-19</i>	1,26889	6,02485	0,29785	1	0,05	0	-19,5116	22,04938
<i>Chaetomium globosum Trichophyton interdigitale</i>	10,95111	6,02485	2,57055	0,79974	0,05	0	-31,7316	9,82938
<i>Chaetomium globosum Fusarium penzigii</i>	2,42444	6,02485	0,56909	1	0,05	0	-18,35604	23,20493
<i>Chaetomium globosum Fusarium keratoplasticum</i>	18,92889	6,02485	4,44318	0,10455	0,05	0	-39,70938	1,8516
<i>Chaetomium globosum Acrophialophora sp</i>	10,50444	6,02485	2,46571	0,83806	0,05	0	-31,28493	10,27604

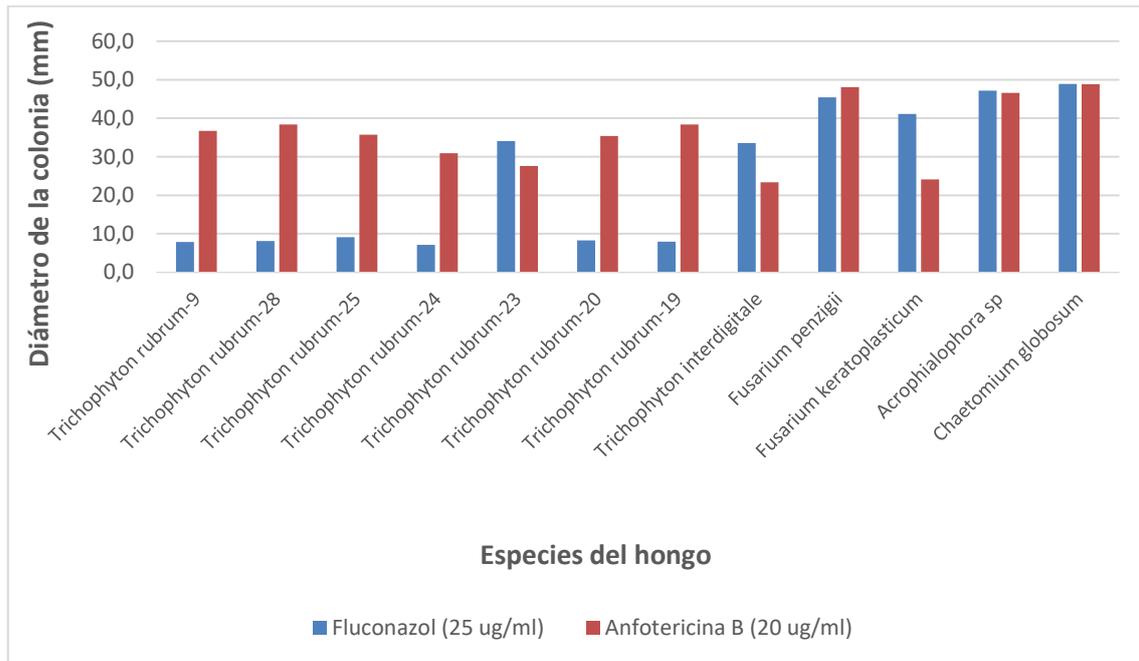
Concentración de NPs-ZnO	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
0.5 0	28,44537	3,88903	10,34393	2,72E-08	0,05	1	-39,50617	-17,38457
0.75 0	33,56667	3,88903	12,20625	0	0,05	1	-44,62747	-22,50586
0.75 0.5	-5,1213	3,88903	1,86232	0,68234	0,05	0	-16,1821	5,93951
1 0	-36,8963	3,88903	13,41704	0	0,05	1	-47,9571	-25,83549
1 0.5	-8,45093	3,88903	3,07311	0,20897	0,05	0	-19,51173	2,60988
1 0.75	-3,32963	3,88903	1,21079	0,91114	0,05	0	-14,39043	7,73117
Fluconazol 0	25,38611	3,88903	9,23146	5,47E-07	0,05	1	-36,44691	-14,32531
Fluconazol 0.5	3,05926	3,88903	1,11248	0,93315	0,05	0	-8,00154	14,12006
Fluconazol 0.75	8,18056	3,88903	2,97479	0,23688	0,05	0	-2,88025	19,24136
Fluconazol 1	11,51019	3,88903	4,18559	0,03773	0,05	1	0,44938	22,57099

La significancia igual a 1 indica que la diferencia de medias es significativa a un nivel de 0.05.

La significancia igual a 0 indica que la diferencia de medias no es significativa a un nivel de 0.05

## ANEXO 10

### Actividad del Fluconazol (25 µg/ml) y Anfotericina B (20 µg/ml) sobre el crecimiento de hongos dermatofitos y no dermatofitos aislados de micosis en pies



Para el género *Trichophyton*, de las ocho cepas solo 2 resultaron resistentes a fluconazol, pero ninguna fue sensible a anfotericina B, lo cual es similar al encontrado por Atinbas. Sin embargo, estudios han mostrado que fluconazol<sup>(88, 89)</sup> y anfotericina B poseen poca actividad frente a *T. rubrum*<sup>(89)</sup>. *Fusarium penzigii* mostró resistencia a ambos antimicóticos, mientras que *F. keratoplasticum* fue más sensible a anfotericina B. En estudios previos se ha demostrado que fluconazol tiene poca o nula actividad contra *Fusarium*, recomendándose el uso de voriconazol, anfotericina B, efinaconazol, micafungina, terbinafina<sup>(78, 79)</sup>. Otros no dermatofitos presentaron resistencia a ambos antifúngicos.

## ANEXO 11

### Inhibición de crecimiento de hongos dermatofitos y no dermatofitos por acción de las nanopartículas de ZnO

Hongo	Control (Ø mm)	1 mg/ml (Ø mm)	% crecimiento	% inhibición
<i>Trichophyton rubrum-9</i>	42.4	9.9	23.34	76.66
<i>T. rubrum-28</i>	42	10.8	25.7	74.3
<i>T. rubrum-25</i>	52	12.8	24.61	75.39
<i>T. rubrum-24</i>	60	13.7	22.83	77.17
<i>T. rubrum-23</i>	42	6	14.28	85.72
<i>T. rubrum-20</i>	42.8	9.2	21.49	78.51
<i>T. rubrum-19</i>	58.7	14.4	24.5	75.5
<i>Trichophyton interdigitale</i>	47.7	25.3	53.03	46.97
<i>Fusarium penzigii</i>	45	7.4	16.4	83.6
<i>F. keratoplasticum</i>	60	25.9	43.16	56.84
<i>Acrophialophora sp</i>	56.9	18	31.63	68.37
<i>Chaetomium sp.</i>	53.6	6.9	12.87	87.13

## ANEXO 12

### ANOVA TWO WAY para las especies de levaduras el cuero funcionalizado con nanopartículas de ZnO

Overall ANOVA	DF	Sum of squares	Mean squares	F value	P value
Especie	12	801.60808	66.80067	9.08843	1.13E-07
Cuero funcionalizado con NP-ZnO	3	29.40981	9.80327	1.33376	0.27861
Model	15	831.01788	55.40119	7.5375	3.74E-07
Error	36	264.60269	7.35007	--	--
Corrected Total	51	1095.62058	--	--	--

A un nivel de significancia de 0.01, la media de la población de Especies de levaduras es significativamente diferentes.

A un nivel de significancia de 0.01, la media de la población de concentración de NP-ZnO es significativamente diferente.

## ANEXO 13

### Prueba de Tukey para las especies de levaduras y el cuero funcionalizado con NPs-ZnO

Especie de levaduras	Mean Diff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
<i>Trichosporon inkin</i> -18 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	-10,975	1,91704	8,09634	1,08E-04	0,05	1	17,76654	4,18346
<i>Trichosporon inkin</i> -4 <i>R. mucilaginosa</i>	-12,8	1,91704	9,44265	6,15E-06	0,05	1	19,59154	6,00846
<i>Trichosporon inkin</i> -4 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-1,825	1,91704	1,34632	0,9988	0,05	0	-8,61654	4,96654
<i>Candida parapsilosis</i> - 12 <i>R. mucilaginosa</i>	-13,625	1,91704	10,05126	1,70E-06	0,05	1	20,41654	6,83346
<i>Candida parapsilosis</i> - 12 <i>T. inkin</i> -18	-2,65	1,91704	1,95492	0,97038	0,05	0	-9,44154	4,14154
<i>Candida parapsilosis</i> - 12 <i>T. inkin</i> -4	-0,825	1,91704	0,60861	1	0,05	0	-7,61654	5,96654
<i>Candida parapsilosis</i> - 5 <i>R. mucilaginosa</i>	-15,225	1,91704	11,23159	1,85E-07	0,05	1	22,01654	8,43346
<i>Candida parapsilosis</i> - 5 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-4,25	1,91704	3,13526	0,58615	0,05	0	11,04154	2,54154
<i>Candida parapsilosis</i> - 5 <i>Trichosporon inkin</i> -4	-2,425	1,91704	1,78894	0,98512	0,05	0	-9,21654	4,36654
<i>Candida parapsilosis</i> - 5 <i>C. parapsilosis</i> - 12	-1,6	1,91704	1,18033	0,99967	0,05	0	-8,39154	5,19154
<i>Candida albicans</i> - 4 <i>R. mucilaginosa</i>	-12,85	1,91704	9,47954	5,69E-06	0,05	1	19,64154	6,05846
<i>Candida albicans</i> - 4 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-1,875	1,91704	1,3832	0,99844	0,05	0	-8,66654	4,91654
<i>Candida albicans</i> - 4 <i>Trichosporon inkin</i> -4	-0,05	1,91704	0,03689	1	0,05	0	-6,84154	6,74154
<i>Candida albicans</i> - 4 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	0,775	1,91704	0,57172	1	0,05	0	-6,01654	7,56654
<i>Candida albicans</i> - 4 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	2,375	1,91704	1,75205	0,98743	0,05	0	-4,41654	9,16654
<i>Candida albicans</i> - 20 <i>R. mucilaginosa</i>	-15,025	1,91704	11,08405	2,34E-07	0,05	1	21,81654	8,23346
<i>Candida albicans</i> - 20 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-4,05	1,91704	2,98771	0,65482	0,05	0	10,84154	2,74154
<i>Candida albicans</i> - 20 <i>Trichosporon inkin</i> -4	-2,225	1,91704	1,6414	0,99272	0,05	0	-9,01654	4,56654
<i>Candida albicans</i> - 20 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	-1,4	1,91704	1,03279	0,99992	0,05	0	-8,19154	5,39154
<i>Candida albicans</i> - 20 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	0,2	1,91704	0,14754	1	0,05	0	-6,59154	6,99154
<i>Candida albicans</i> - 20 <i>Candida albicans</i> - 4	-2,175	1,91704	1,60451	0,99402	0,05	0	-8,96654	4,61654
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	-13,325	1,91704	9,82995	2,70E-06	0,05	1	20,11654	6,53346
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-2,35	1,91704	1,73361	0,98848	0,05	0	-9,14154	4,44154
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Trichosporon inkin</i> -4	-0,525	1,91704	0,3873	1	0,05	0	-7,31654	6,26654
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	0,3	1,91704	0,22131	1	0,05	0	-6,49154	7,09154
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	1,9	1,91704	1,40164	0,99824	0,05	0	-4,89154	8,69154
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Candida albicans</i> - 4	-0,475	1,91704	0,35041	1	0,05	0	-7,26654	6,31654
<i>Candida tropicalis</i> - 7 <i>Candida albicans</i> - 20	1,7	1,91704	1,2541	0,9994	0,05	0	-5,09154	8,49154
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	-15,225	1,91704	11,23159	1,85E-07	0,05	1	22,01654	8,43346
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Trichosporon inkin</i> -18	-4,25	1,91704	3,13526	0,58615	0,05	0	11,04154	2,54154
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Trichosporon inkin</i> -4	-2,425	1,91704	1,78894	0,98512	0,05	0	-9,21654	4,36654
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	-1,6	1,91704	1,18033	0,99967	0,05	0	-8,39154	5,19154
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	0	1,91704	0	1	0,05	0	-6,79154	6,79154
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Candida albicans</i> - 4	-2,375	1,91704	1,75205	0,98743	0,05	0	-9,16654	4,41654
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Candida albicans</i> - 20	-0,2	1,91704	0,14754	1	0,05	0	-6,99154	6,59154
<i>Candida tropicalis</i> - 30 <i>Candida tropicalis</i> - 7	-1,9	1,91704	1,40164	0,99824	0,05	0	-8,69154	4,89154

...Continúa								
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	-14,475	1,91704	10,67831	4,82E-07	0,05	1	21,26654	-
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Trichosporon inkin-18</i>	-3,5	1,91704	2,58198	0,82423	0,05	0	10,29154	3,29154
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Trichosporon inkin-4</i>	-1,675	1,91704	1,23566	0,99948	0,05	0	-8,46654	5,11654
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	-0,85	1,91704	0,62705	1	0,05	0	-7,64154	5,94154
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	0,75	1,91704	0,55328	1	0,05	0	-6,04154	7,54154
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Candida albicans</i> - 4	-1,625	1,91704	1,19877	0,99961	0,05	0	-8,41654	5,16654
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Candida albicans</i> - 20	0,55	1,91704	0,40574	1	0,05	0	-6,24154	7,34154
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Candida tropicalis</i> - 7	-1,15	1,91704	0,84836	0,99999	0,05	0	-7,94154	5,64154
<i>Candida glabrata</i> - 3 <i>Candida tropicalis</i> - 30	0,75	1,91704	0,55328	1	0,05	0	-6,04154	7,54154
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	-13,875	1,91704	10,23569	1,16E-06	0,05	1	20,66654	7,08346
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Trichosporon inkin-18</i>	-2,9	1,91704	2,13935	0,94364	0,05	0	-9,69154	3,89154
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Trichosporon inkin-4</i>	-1,075	1,91704	0,79304	0,99999	0,05	0	-7,86654	5,71654
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	-0,25	1,91704	0,18443	1	0,05	0	-7,04154	6,54154
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	1,35	1,91704	0,9959	0,99994	0,05	0	-5,44154	8,14154
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida albicans</i> - 4	-1,025	1,91704	0,75615	1	0,05	0	-7,81654	5,76654
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida albicans</i> - 20	1,15	1,91704	0,84836	0,99999	0,05	0	-5,64154	7,94154
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida tropicalis</i> - 7	-0,55	1,91704	0,40574	1	0,05	0	-7,34154	6,24154
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida tropicalis</i> - 30	1,35	1,91704	0,9959	0,99994	0,05	0	-5,44154	8,14154
<i>Candida glabrata</i> - 14 <i>Candida glabrata</i> - 3	0,6	1,91704	0,44262	1	0,05	0	-6,19154	7,39154
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	-15,225	1,91704	11,23159	1,85E-07	0,05	1	22,01654	8,43346
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Trichosporon inkin-18</i>	-4,25	1,91704	3,13526	0,58615	0,05	0	11,04154	2,54154
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Trichosporon inkin-4</i>	-2,425	1,91704	1,78894	0,98512	0,05	0	-9,21654	4,36654
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	-1,6	1,91704	1,18033	0,99967	0,05	0	-8,39154	5,19154
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	0	1,91704	0	1	0,05	0	-6,79154	6,79154
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida albicans</i> - 4	-2,375	1,91704	1,75205	0,98743	0,05	0	-9,16654	4,41654
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida albicans</i> - 20	-0,2	1,91704	0,14754	1	0,05	0	-6,99154	6,59154
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida tropicalis</i> - 7	-1,9	1,91704	1,40164	0,99824	0,05	0	-8,69154	4,89154
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida tropicalis</i> - 30	0	1,91704	0	1	0,05	0	-6,79154	6,79154
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida glabrata</i> - 3	-0,75	1,91704	0,55328	1	0,05	0	-7,54154	6,04154
<i>Candida krusei</i> - 1 <i>Candida glabrata</i> - 14	-1,35	1,91704	0,9959	0,99994	0,05	0	-8,14154	5,44154
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	-15,225	1,91704	11,23159	1,85E-07	0,05	1	22,01654	8,43346
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Trichosporon inkin-18</i>	-4,25	1,91704	3,13526	0,58615	0,05	0	11,04154	2,54154
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Trichosporon inkin-4</i>	-2,425	1,91704	1,78894	0,98512	0,05	0	-9,21654	4,36654
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida parapsilosis</i> - 12	-1,6	1,91704	1,18033	0,99967	0,05	0	-8,39154	5,19154
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida parapsilosis</i> - 5	0	1,91704	0	1	0,05	0	-6,79154	6,79154
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida albicans</i> - 4	-2,375	1,91704	1,75205	0,98743	0,05	0	-9,16654	4,41654
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida albicans</i> - 20	-0,2	1,91704	0,14754	1	0,05	0	-6,99154	6,59154
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida tropicalis</i> - 7	-1,9	1,91704	1,40164	0,99824	0,05	0	-8,69154	4,89154
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida tropicalis</i> - 30	0	1,91704	0	1	0,05	0	-6,79154	6,79154
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida glabrata</i> - 3	-0,75	1,91704	0,55328	1	0,05	0	-7,54154	6,04154
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida glabrata</i> - 14	-1,35	1,91704	0,9959	0,99994	0,05	0	-8,14154	5,44154
<i>Candida krusei</i> - 15 <i>Candida krusei</i> - 1	0	1,91704	0	1	0,05	0	-6,79154	6,79154

Cuero funcionalizado con NP-ZnO	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
0.8 Control	-1,07692	1,06338	1,43222	0,74308	0,05	0	-3,94085	1,78701
1.2 Control	-1,86923	1,06338	2,48593	0,30991	0,05	0	-4,73316	0,9947
1.2 0.8	-0,79231	1,06338	1,05371	0,87814	0,05	0	-3,65624	2,07162
2 Control	-1,8	1,06338	2,39386	0,34226	0,05	0	-4,66393	1,06393
2 0.8	-0,72308	1,06338	0,96164	0,90402	0,05	0	-3,58701	2,14085
2 1.2	0,06923	1,06338	0,09207	0,9999	0,05	0	-2,7947	2,93316

La significancia igual a 1 indica que la diferencia de medias es significativa a un nivel de 0.05.

La significancia igual a 0 indica que la diferencia de medias no es significativa a un nivel de 0.05

## ANEXO 14 INFORME TURNITIN

Microbiota fúngica patógena pédica y su control mediante  
cuero funcionalizado con nanopartículas de óxido de zinc

### INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>13%</b>	<b>13%</b>	<b>9%</b>	<b>%</b>
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.untumbes.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1 %</b>
<b>2</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>1 %</b>
<b>3</b>	<b>repositorio.unap.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1 %</b>
<b>4</b>	<b>dcmq.com.mx</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1 %</b>
<b>5</b>	<b>qdoc.tips</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1 %</b>
<b>6</b>	<b>core.ac.uk</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1 %</b>
<b>7</b>	<b>ouci.dntb.gov.ua</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1 %</b>
<b>8</b>	<b>journals.plos.org</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1 %</b>

9	"Dermatophytes and Dermatophytoses", Springer Science and Business Media LLC, 2021 Publicación	<1 %
10	www.eurekaselect.com Fuente de Internet	<1 %
11	repositorio.utn.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
12	link.springer.com Fuente de Internet	<1 %
13	scielo.iics.una.py Fuente de Internet	<1 %
14	cmhnaaa.org.pe Fuente de Internet	<1 %
15	lume.ufrgs.br Fuente de Internet	<1 %
16	polodelconocimiento.com Fuente de Internet	<1 %
17	www.frontiersin.org Fuente de Internet	<1 %
18	repository.usta.edu.co Fuente de Internet	<1 %
19	revistas.unicauca.edu.co Fuente de Internet	<1 %

20	<a href="http://www.microbiologyjournal.org">www.microbiologyjournal.org</a> Fuente de Internet	<1 %
21	<a href="http://research.aalto.fi">research.aalto.fi</a> Fuente de Internet	<1 %
22	<a href="http://www.karger.com">www.karger.com</a> Fuente de Internet	<1 %
23	<a href="http://biomaterialsres.biomedcentral.com">biomaterialsres.biomedcentral.com</a> Fuente de Internet	<1 %
24	<a href="http://catalog.ihsn.org">catalog.ihsn.org</a> Fuente de Internet	<1 %
25	<a href="http://akjournals.com">akjournals.com</a> Fuente de Internet	<1 %
26	<a href="http://dspace.unitru.edu.pe">dspace.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
27	<a href="http://sjomr.org.in">sjomr.org.in</a> Fuente de Internet	<1 %
28	<a href="http://revistabionatura.com">revistabionatura.com</a> Fuente de Internet	<1 %
29	<a href="http://biblio.univ-antananarivo.mg">biblio.univ-antananarivo.mg</a> Fuente de Internet	<1 %
30	<a href="http://bmcinfectdis.biomedcentral.com">bmcinfectdis.biomedcentral.com</a> Fuente de Internet	<1 %
31	<a href="http://cmm.mazums.ac.ir">cmm.mazums.ac.ir</a> Fuente de Internet	<1 %

32	<a href="http://jast-journal.springeropen.com">jast-journal.springeropen.com</a> Fuente de Internet	<1 %
33	Laurence Hecquet, Martine Sancelme, Jean Bolte, Colette Demuynck. " Biosynthesis of 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2 )-furanone by ", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996 Publicación	<1 %
34	<a href="http://www.excli.de">www.excli.de</a> Fuente de Internet	<1 %
35	Qianqian Fan, Jianzhong Ma, Qunna Xu. "Insights into functional polymer-based organic-inorganic nanocomposites as leather finishes", Journal of Leather Science and Engineering, 2019 Publicación	<1 %
36	<a href="http://ri.ues.edu.sv">ri.ues.edu.sv</a> Fuente de Internet	<1 %
37	<a href="http://www.thno.org">www.thno.org</a> Fuente de Internet	<1 %
38	<a href="http://journalajravs.com">journalajravs.com</a> Fuente de Internet	<1 %
39	<a href="http://www.sfwmd.gov">www.sfwmd.gov</a> Fuente de Internet	<1 %
40	Keenan Ryan, Connie Cañete-Gibas, Carmita Sanders, Nestor Sosa, Nathan P. Wiederhold.	<1 %

"Pseudocanariomyces americanus, gen. nov., sp. nov., A New Thielavia-Like Species in the Chaetomiaceae: Identification and Management of a Prosthetic Hip Infection", Mycopathologia, 2021

Publicación

---

41	<a href="http://www.labome.org">www.labome.org</a> Fuente de Internet	<1 %
42	<a href="http://journal.unnes.ac.id">journal.unnes.ac.id</a> Fuente de Internet	<1 %
43	<a href="http://zenodo.org">zenodo.org</a> Fuente de Internet	<1 %
44	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a> Fuente de Internet	<1 %
45	<a href="http://eprints.uanl.mx">eprints.uanl.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
46	<a href="http://pdfs.semanticscholar.org">pdfs.semanticscholar.org</a> Fuente de Internet	<1 %
47	AK Gupta, RC Summerbell, M Venkataraman, EM Quinlan. "Nondermatophyte Mold Onychomycosis", Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2021 Publicación	<1 %
48	<a href="http://cancerres.unboundmedicine.com">cancerres.unboundmedicine.com</a> Fuente de Internet	<1 %

---

49	<a href="http://getjson.sid.ir">getjson.sid.ir</a> Fuente de Internet	<1 %
50	<a href="http://mafiadoc.com">mafiadoc.com</a> Fuente de Internet	<1 %
51	<a href="http://repositorio.unsaac.edu.pe">repositorio.unsaac.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
52	<a href="http://www.scielo.br">www.scielo.br</a> Fuente de Internet	<1 %
53	<a href="http://benthamopen.com">benthamopen.com</a> Fuente de Internet	<1 %
54	<a href="http://med.sums.ac.ir">med.sums.ac.ir</a> Fuente de Internet	<1 %
55	<a href="http://www.produccioncientificaluz.org">www.produccioncientificaluz.org</a> Fuente de Internet	<1 %
56	<a href="http://www.ddtjournal.com">www.ddtjournal.com</a> Fuente de Internet	<1 %
57	<a href="http://www.longdom.org">www.longdom.org</a> Fuente de Internet	<1 %
58	<a href="http://apb.tbzmed.ac.ir">apb.tbzmed.ac.ir</a> Fuente de Internet	<1 %
59	<a href="http://biblio.cinvestav.mx">biblio.cinvestav.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
60	<a href="http://revista.asocolderma.org.co">revista.asocolderma.org.co</a> Fuente de Internet	<1 %

61	Hamed Elsayed, Mohamed Hasanin, Mohamed Rehan. "Enhancement of multifunctional properties of leather surface decorated with silver nanoparticles (Ag NPs)", <i>Journal of Molecular Structure</i> , 2021 Publicación	<1 %
62	Zhenyu Zhao, Gang Liu, Yikun Lin, Ling Wang. " Green chemistry approach to the synthesis of zinc nanoparticles using rhizome extract for the treatment of lung well-differentiated bronchogenic adenocarcinoma ", <i>Journal of Experimental Nanoscience</i> , 2022 Publicación	<1 %
63	dev.medichub.ro Fuente de Internet	<1 %
64	www.clinicalsurveys.net Fuente de Internet	<1 %
65	eprints.ucm.es Fuente de Internet	<1 %
66	www.scielo.org.co Fuente de Internet	<1 %
67	autrj.com Fuente de Internet	<1 %
68	doczz.es Fuente de Internet	<1 %
	naturalsbrazil.wordpress.com	

69	Fuente de Internet	<1 %
70	theses.cz Fuente de Internet	<1 %
71	Behnaz Ghaemi, Seyed Jamal Hashemi, Sharmin Kharrazi, Arfa Moshiri, Hossein Kargar Jahromi, Amir Amani. "Photodynamic therapy-mediated extirpation of cutaneous resistant dermatophytosis with Ag@ZnO nanoparticles: an efficient therapeutic approach for onychomycosis", Nanomedicine, 2022 Publicación	<1 %
72	ri.uaemex.mx Fuente de Internet	<1 %
73	www.mdpi.com Fuente de Internet	<1 %
74	www.nanochemres.org Fuente de Internet	<1 %
75	www.scribd.com Fuente de Internet	<1 %
76	rpe.epiredperu.net Fuente de Internet	<1 %
77	Christine Imbert, Blandine Rammaert. "What Could Be the Role of Antifungal Lock-	<1 %

Solutions? From Bench to Bedside",  
Pathogens, 2018

Publicación

78	investigacion.unirioja.es	<1 %
	Fuente de Internet	
79	repositorio.unal.edu.co	<1 %
	Fuente de Internet	
80	www.ecorfan.org	<1 %
	Fuente de Internet	
81	publish.kne-publishing.com	<1 %
	Fuente de Internet	
82	repositorio.lamolina.edu.pe	<1 %
	Fuente de Internet	
83	teses.usp.br	<1 %
	Fuente de Internet	
84	etheses.uin-malang.ac.id	<1 %
	Fuente de Internet	
85	repositorio.ufu.br	<1 %
	Fuente de Internet	
86	Kátia Sheylla Malta Purim, Gisele Pesquero Fernandes Bordignon, Flávio de Queiroz- Telles. "Infección fúngica en pies de jugadores de fútbol y en no atletas", Revista Iberoamericana de Micología, 2005	<1 %
	Publicación	
87	es.scribd.com	<1 %
	Fuente de Internet	
88	www.scielo.org.pe	<1 %
	Fuente de Internet	

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo



ORCID

id 0000-0001-6096-0183