

EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DE “ALLIUM SATIVUM L.” FRENTE A CEPAS DE “CANDIDA ALBICANS” RESISTENTE A LA NISTATINA OBTENIDAS DE UN HOSPITAL DE CHICLAYO



Mestanza-Carrasco Katherine Elizabeth
Vásquez-Pachamango Erickson Joau Marco
Iglesias-Osores Sebastian
Moreno-Mantilla Mario

Autor corresponsal: Sebastian Iglesias-Osores
Email: sebasiglo@gmail.com

Recibido: 25/05/2020

Aceptado: 06/06/2020

RESUMEN

OBJETIVO: Determinar el efecto inhibitorio *In Vitro* del extracto acuoso *Allium sativum* L (ajo) frente a cepas de *Candida albicans* resistente a la nistatina obtenidas del Hospital Regional Docente las Mercedes. **MÉTODOS:** Se analizaron 4 cepas de *Candida albicans* de muestra vaginal resistentes a la nistatina, Se realizaron 3 repeticiones por cepa para evaluar resultados confiables y confirmativos. Las cepas de *Candida albicans* se identificaron por medio de la prueba del tubo germinativo, formación de clamidosporas, crecimiento en caldo de Urea Stuart y aislamiento e identificación en Chromogenic Candida Agar (CCA) y Agar Arroz. La prueba de susceptibilidad de las cepas de *Candida albicans* resistente a la nistatina frente al extracto acuoso de *Allium sativum* se realizó mediante el método de disco de difusión, y para la evaluación de la concentración mínima inhibitoria se trabajó con el método de macrodilución en tubo. **RESULTADOS:** se obtuvo que todas las cepas de *Candida albicans* resistente a la nistatina en estudio fueron susceptibles al extracto acuoso de *Allium sativum* L (ajo). Se observó una mayor susceptibilidad de las cepas a medida que la concentración del extracto aumentaba. La Concentración Mínima Inhibitoria del extracto acuoso de ajo sobre cepas de *Candida albicans* resistente a la nistatina se determinó utilizando la concentración más baja (25 uL/mL) que causó susceptibilidad de todas las cepas en estudio. **CONCLUSIÓN:** Los resultados obtenidos en el presente trabajo demuestran la susceptibilidad de *Candida albicans* resistente a la nistatina procedente de infecciones vaginales, frente al extracto acuoso del bulbo de *Allium sativum* L.

Palabras clave: antifúngicos, ajo, prueba de susceptibilidad antimicótica in vitro.

IN VITRO INHIBITORY EFFECT OF THE AQUEOUS EXTRACT OF “ALLIUM SATIVUM L.” AGAINST STRAINS OF “CANDIDA ALBICANS” RESISTANT TO NYSTATIN OBTAINED FROM A CHICLAYO’S HOSPITAL

ABSTRACT

OBJECTIVE: To determine the inhibitory effect *In vitro* of the aqueous extract *Allium sativum* L (Garlic) against strains of *Candida albicans* resistant to nystatin obtained from the Las Mercedes Regional Teaching Hospital. **METHODS:** four strains of *Candida albicans* of vaginal sample resistant to nystatin were analyzed. Three repetitions per strain were performed to evaluate reliable and confirmatory results. *Candida albicans* strains were identified by germ tube testing, clamidospore formation, growth in Urea Stuart broth and isolation and identification in Chromogenic Candida Agar (CCA) and Rice Agar. The susceptibility test of the strains of *Candida albicans* resistant to nystatin against the aqueous extract of *Allium sativum*

was performed using the diffusion disk method, and for the evaluation of the minimum inhibitory concentration, the tube macrodilution method was worked on. RESULTS: it was obtained that all strains of *Candida albicans* resistant to nystatin under study were susceptible to the aqueous extract of *Allium sativum* L (garlic). The susceptibility of the strains was observed as the concentration of the extract increased. The Minimum Inhibitory Concentration of aqueous garlic extract on strains of *Candida albicans* resistant to nystatin was determined using the lowest concentration (25 μ L / mL) that caused susceptibility of all strains under study. CONCLUSION: The results obtained in this work demonstrate the susceptibility of *Candida albicans* resistant to nystatin from vaginal infections, compared to the aqueous extract of the *Allium sativum* L. bulb.

Keywords: antifungals, garlic, in vitro antifungal susceptibility testing.

INTRODUCCIÓN

Anualmente 26 millones de personas padecen infección fúngica y más de 1,6 millones muere cada año (Global Action Fund for Fungal Infections). Dentro de ese contexto se encuentra la candidosis, una enfermedad causada por especies del género *Candida*, siendo la especie más implicada *Candida albicans*. En dicho proceso el oportunismo de esta levadura se ve favorecido por su condición de comensal en piel y mucosas y por factores predisponentes del individuo, por lo que su incidencia ha aumentado provocando un 25% en micosis superficiales y entre el 75 y 88% en infecciones fúngicas nosocomiales (1). Sin embargo, la vulvovaginitis por *C. albicans* se encuentran entre las enfermedades que más afectan a las mujeres y al igual que la candiduria continúan siendo un problema de salud más común en las infecciones fúngicas, sobre todo asociado a factores iatrogénicos de pacientes con tratamiento prolongado de antibióticos, corticosteroides, diabéticos y cateterismo. En el tracto urinario se forma microplacas blanquecinas que, en pocas ocasiones, llega a los riñones produciendo pielonefritis. Esta entidad clínica se observa con más frecuencia en niños recién nacidos (2). Pero hoy en día *C. albicans* está expresando mayor resistencia al tratamiento demostrando de esta manera mayor patogenicidad. Anteriormente el tratamiento con el antimicótico nistatina (3) era el más común, pero actualmente debido a su falta de susceptibilidad y a generar resistencia es causa de preocupación y de buscar nuevas alternativas antifúngicas. Esta resistencia puede verse en cepas salvajes de *Candida* sp (resistencia primaria) o puede haber sido inducida por tratamientos previos (resistencia secundaria) (4). En los hospitales de salud pública se administra nistatina a pacientes con problemas de candidosis vaginal, bucofaringea y gastrointestinal, de esta manera volviéndose las infecciones más agudas (5). Los estudios de sensibilidad *in vitro* con agentes antifúngicos no se realizan de forma habitual en los laboratorios clínicos, sin embargo, cada vez resulta más evidente que es necesario contar con técnicas que permitan orientar el tratamiento adecuado de las micosis, así se tiene en cuenta la creciente frecuencia de cepas resistentes (6).

En los últimos años el uso de plantas medicinales se está

incrementando alrededor del mundo (7–11), razón por la cual un 80% de personas que viven en países en vías de desarrollo emplea exclusivamente plantas medicinales tradicionales para necesidades primarias de salud (Organización Mundial de la Salud) (12). Dentro de ellas está el ajo (*Allium sativum* L.), una planta con múltiples propiedades terapéuticas que es empleada en diferentes países existiendo en la actualidad gran interés por el estudio de esta especie vegetal (13). Diversos extractos a partir de su jugo, semillas y fruto completo han sido empleados; de igual manera sus hojas, flores y raíces exhiben propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, antihelmínticas, antibacteriales, antitumorales, antivirales y astringentes. Por tanto, hay necesidad de investigar la susceptibilidad de los extractos del ajo frente a *Candida albicans* (14).

En tal escenario los productos naturales constituyen una alternativa para combatir diversas enfermedades infecciosas y, dado que en nuestro país existe una variedad de plantas medicinales, fue objetivo de la presente investigación determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto acuoso de *Allium sativum* L (ajo) frente a Cepas de *Candida albicans* resistente a la nistatina.

MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.

Material biológico

Se utilizó como materia prima el bulbo de *Allium sativum* L “ajo”. El fruto de ajo fue obtenido en un mercado de la ciudad de Chiclayo, Lambayeque. Se trabajó con cultivos puros de *Candida albicans* resistentes a la nistatina obtenidos a partir de secreciones vaginales, aislados e identificados en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional Docente las Mercedes Chiclayo-Lambayeque, durante los meses de marzo 2017–Septiembre de 2017.

Muestra de estudio

La muestra estuvo constituida por 4 cepas de *Candida albicans* resistentes a la nistatina aisladas de muestras de secreción vaginal de pacientes atendidas en el Hospital

Regional Docente las Mercedes, las cuáles se enfrentaron a concentraciones de 25 µL/mL, 50 µL/mL, 75 µL/mL, 100 µL/mL y 150 µL/mL, del extracto acuoso de *Allium sativum* L (ajo) realizando tres repeticiones por cepa, obteniendo 60 evaluaciones. Se utilizó como control positivo disco antimicótico de fluconazol de 25 µL/mL y como control negativo se utilizó disco embebido en agua destilada estéril. Obtención del extracto acuoso a partir del bulbo de *Allium sativum* L.

De los bulbos de ajo fresco se pelaron 100g, se procedió a la desinfección con tres lavados con NaClO al 1% y se lavaron los bulbos con abundante agua destilada estéril, posteriormente se secaron. Los ajos desinfectados son llevados a un extractor, el extracto obtenido se coloca en un frasco esterilizado para su uso inmediato.

Concentraciones del extracto acuoso de *Allium sativum* L (ajo)

A partir de 100 gr de *Allium sativum* L (ajo) se obtendrá 5 ml de concentración. A partir de la solución madre se realizaron diluciones para obtener concentraciones de 25 µL/mL, 50 µL/mL, 75 µL/mL, 100 µL/mL, 150 µL/mL. Tomando un volumen de solución stock y completando con agua destilada estéril. En relación de 1 en 4.

| Extracto acuoso (mg) | Agua (mL) | Concentración (mg/mL) |
|----------------------|-----------|-----------------------|
| 1 µL | 6.7 mL | 150 µL/mL |
| 0.5 µL | 5 mL | 100 µL/mL |
| 0.5 µL | 6.7 mL | 75 µL/mL |
| 0.5 µL | 10 mL | 50 µL/mL |
| 0.1 µL | 4 mL | 25 µL/mL |

Tabla 01. Diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Allium sativum* L (Ajo).

Identificación de las cepas de *Candida albicans*

La caracterización macroscópica y microscópica de *Candida albicans* se realizó en Agar Sabouraud, identificándose colonias con aspecto característico (Colonias pequeñas 2,00 mm–3,00 mm de diámetro y completamente blancas). El procedimiento e identificación de la prueba del tubo germinativo se realizó según lo establecido en la Norma Técnica Peruana N° 44 del INS (15). Estudios

complementarios fueron: la observación de Clamidosporas, identificación en Chromogenic Candida Agar (CCA) así como también la prueba de Urea de Stuart (16).

Preparación y estandarización del inóculo fúngico

Las cepas de *Candida albicans* se sembraron en 4 tubos con caldo Sabouraud glucosado y se incubaron por 24 horas, se procedió a preparar una suspensión en solución salina. La suspensión fue por nefelometría 0,5 cuya densidad poblacional es de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml.

Evaluación del efecto inhibitorio de *Candida albicans* resistente a la nistatina frente al extracto acuoso de *Allium sativum* L, según el método de difusión de disco

Se empleó papel filtro Watman N° 01 para obtener los discos de 5 mm de diámetro posteriormente con la ayuda de una pinza esterilizada, los discos se embebieron con de las diferentes concentraciones de extracto acuoso de *Allium sativum* L "ajo" (25 µL/mL, 50 µL/mL, 75 µL/mL, 100 µL/mL, 150 µL/mL).

Se utilizaron como control positivo discos de fluconazol y como control negativo se utilizaron discos embebidos en agua destilada estéril y se realizó el antibiograma. Concluido este proceso las placas fueron incubadas en posición invertida a 37 °C por 24 horas. Después del periodo de incubación se procedió a la evaluación, midiéndose los diámetros de las zonas de inhibición completa con una regla milimetrada.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) del extracto acuoso de *Allium sativum* L sobre *Candida albicans* resistente a la nistatina

La Concentración Mínima Inhibitoria para las cepas de *Candida albicans* resistente a la nistatina se realizó siguiendo las recomendaciones del método de macrodilución en tubo según Norma Técnica Peruana N° 30 del INS (17). Las cepas se sembraron en Agar Müller Hinton Modificado y se incubaron a temperatura de 37 °C durante un tiempo de 24 horas. Transcurrido ese tiempo se procedió a la cosecha, se comparó con el tubo número 0,5 del nefelómetro de Mc Farland que indica una densidad poblacional de 1.5×10^8 UFC/ml. Una vez ajustado el inóculo y dentro de los quince minutos de preparada la misma, diluir en caldo para lograr una dilución 1/100 (inóculo de trabajo = 1×10^6 UFC/ml). Se incubó a 35 °C, en un tiempo de 16–24 horas. El punto final se definió a simple vista, por la falta de turbidez del caldo, para ello se comparó cada tubo con el tubo de control de crecimiento.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

El análisis estadístico de los datos, obtenidos en la experimentación correspondiente, se realizó por medio de

Análisis de Varianza (ANOVA), con arreglo factorial (5x4x3), donde cinco es el número de concentraciones del extracto acuoso de *Allium sativum* L. (25 µL/mL, 50 µL/mL, 75 µL/mL, 100 µL/mL, 150 µL/mL), cuatro es el número de cepas de cultivo puro de *Candida albicans* y tres es el número de repeticiones, lo que nos da un total de 60 unidades experimentales, donde se observó el grado de susceptibilidad de *Candida albicans* cuando fue expuesta a las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Allium sativum* L. Este análisis se complementó con la Prueba discriminatoria de Tukey a 0,05 nivel de significación con la finalidad de determinar las diferencias entre cada uno de los factores.

El procesamiento estadístico se realizó con ayuda del software estadístico SPSS Statistics 19 y Excel 2013.

RESULTADOS

Efecto inhibitorio de cepas de *Candida albicans* resistente a la nistatina a diferentes concentraciones del extracto acuoso del bulbo de *Allium sativum* L.

Se obtuvieron los promedios del diámetro en mm. De los halos de inhibición para todas las cepas de *Candida albicans*.

La C1 (3729) de *Candida albicans*, se observó que la menor concentración (25 µL/mL) alcanzó un promedio de 22 mm de inhibición y la concentración mayor (150 µL/mL) alcanzó un promedio de 31,6 mm de inhibición.

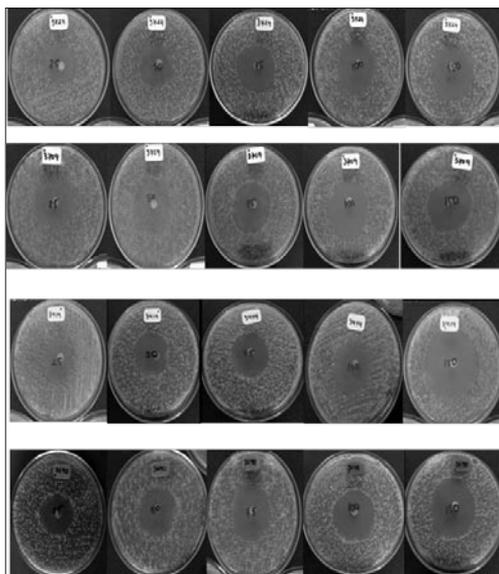
La C2 (3709) de *Candida albicans*, la menor concentración (25 µL/mL) obtuvo promedio de inhibición de 22,1 mm y la concentración mayor (150 µL/mL) obtuvo promedio de inhibición de 37,3 mm.

La C3 (3414) de *Candida albicans*, la menor concentración (25 µL/mL) obtuvo promedio de inhibición de 24,2 mm, y la concentración mayor (150 µL/mL) obtuvo promedio de inhibición de 44,6 mm.

La C4 (3690) de *Candida albicans*, la menor concentración (25 µL/mL) obtuvo promedio de inhibición de 23,5 mm, y la concentración mayor (150 µL/mL) un promedio de inhibición de 41,6 mm.

Al realizar el Análisis de varianza del efecto inhibitorio de *Candida albicans* resistente a la nistatina a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Allium sativum* L. se concluye que las concentraciones y cepas, la interacción concentración- cepa, presentan diferencias estadísticas significativas. Los resultados permiten observar que las variables cepa y concentración, influyeron significativamente en la efectividad del extracto acuoso de del bulbo de *Allium sativum* L sobre la susceptibilidad *Candida albicans*.

Al realizar la prueba de significancia de Tukey (0,05) a los promedios de los diámetros de los halos de inhibición de las cepas de *Candida albicans* frente al extracto acuoso de



| Cepas (C) | Concentración (k) | Media | Total |
|------------|-------------------|---------|---------|
| C-1 (3729) | k-25 µL/mL | 22,0000 | 27,6666 |
| | k-50 µL/mL | 22,3333 | |
| | k-75 µL/mL | 25,0000 | |
| | k-100 µL/mL | 32,3333 | |
| | k-150 µL/mL | 31,6666 | |
| | f-25 µL/mL | 33,3333 | |
| C-2 (3709) | k-25 µL/mL | 22,1666 | 30,6666 |
| | k-50 µL/mL | 25,3333 | |
| | k-75 µL/mL | 26,3333 | |
| | k-100 µL/mL | 35,0000 | |
| | k-150 µL/mL | 37,3333 | |
| | f-25 µL/mL | 37,8333 | |
| C-3 (3414) | k-25 µL/mL | 24,2000 | 32,4222 |
| | k-50 µL/mL | 25,6666 | |
| | k-75 µL/mL | 35,0000 | |
| | k-100 µL/mL | 31,6666 | |
| | k-150 µL/mL | 44,6666 | |
| | f-25 µL/mL | 33,3333 | |
| C-4 (3690) | k-25 µL/mL | 24,8333 | 33,1666 |
| | k-50 µL/mL | 31,0000 | |
| | k-75 µL/mL | 31,0000 | |
| | k-100 µL/mL | 35,3333 | |
| | k-150 µL/mL | 41,6666 | |
| | f-25 µL/mL | 35,1666 | |

Tabla 02. Promedio de los diámetros de los halos de inhibición de *Candida albicans* resistente a la nistatina a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Allium sativum* L. (ajo).

Allium sativum L., para el factor cepas (C1:3729, C2:3709, C3:3414, C4:3690) se demostró estadísticamente que la cepa C1:3729, la cepa C2:3709 y la cepa C3:3414 presentaron comportamiento similar; sin embargo se evidenció que existe diferencia de la cepa C4:3690 ante las ya mencionadas.

Se determinó el grado de susceptibilidad de cada cepa de *Candida albicans*, frente al extracto acuoso de *Allium sativum* L.

Por medio de la prueba de Tukey (0,05) se demostró estadísticamente la susceptibilidad de *Candida albicans* al ser expuesta a las diferentes concentraciones (Cc. 25 µL/mL, Cc. 50 µL/mL, Cc. 75 µL/mL, Cc. 100 µL/mL, Cc. 150 µL/mL) del extracto acuoso de *Allium sativum* L. Se determinó que existen diferencias significativas entre las diferentes concentraciones. De esta manera se pudo afirmar que a medida que aumenta la concentración del extracto acuoso, existe también mayor susceptibilidad de las cepas de *Candida albicans*.

Por medio de la prueba de Tukey (0,05) para el factor Interacción Cepas-Concentración, se demostró estadísticamente que los promedios de los diámetros de los halos de inhibición van a diferir significativamente cuando las concentraciones del extracto acuoso de *Allium sativum* L. van en aumento, teniendo en cuenta además el distinto comportamiento que presenta cada una de las cepas de *Candida albicans*, lo cual demuestra que la susceptibilidad de *Candida albicans* a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Allium sativum* L., se va a ver influenciada tanto por las concentraciones del extracto (Cc 25 µL/mL, Cc 50 µL/mL, Cc 75 µL/mL, Cc 100 µL/mL, Cc 150 µL/mL), como por diferencias existentes entre las cepas de *Candida albicans* (C1:3729, C2:3709, C3:3414, C4:3690), notándose mayor diferencia a partir de la K25, observando a partir de allí mayor susceptibilidad de las cepas, confirmando que a mayor concentración existe mayor inhibición.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del extracto acuoso del bulbo de *Allium sativum* L (ajo) sobre cepas de *Candida albicans* resistente a la nistatina

Para determinar la Concentración mínima inhibitoria del extracto acuoso del bulbo de *Allium sativum* L (ajo) sobre cepas de *Candida albicans*, se trabajó el método de macrodilución en tubo, aplicado según Norma Técnica Peruana N° 30 del INS (17).

Para la realización del experimento, se utilizaron las cuatro cepas de *Candida albicans* (C1:3729, C2:3709, C3:3414, C4:3690) y la concentración de 25 µL/mL del extracto acuoso del bulbo de *Allium sativum* L, se trabajó con dicha

concentración debido a que fue la menor concentración que ejerció susceptibilidad sobre todas las cepas de *Candida albicans* resistente en estudio.

Para la evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria, se tuvo en cuenta si hubo crecimiento o no de *Candida albicans* en los tubos en que se realizaron las diluciones del extracto acuoso de *Allium sativum* L (Cc 25 mg/mL). Se pudo observar la susceptibilidad de cada una de las cepas, y se obtuvo como resultado que para la C3:3414 y C4:3690 de *Candida albicans* la concentración mínima que no permite su desarrollo visible es 3,125 µL/mL, sin embargo, para la C2:3709 de *Candida albicans* la concentración mínima que impide su desarrollo es 6,25 µL/mL, a diferencia de la C1:3729 cuya concentración mínima Inhibitoria es 12,5 µL/mL.

| Tubo | | C1: 3729 | C2: 3709 | C3: 3414 | C4: 3690 |
|------------|----------------------------|----------|----------|----------|----------|
| 1 | Control positivo (*) | - | - | - | - |
| 2 | 25 µL/mL | - | - | - | - |
| 3 | 12,5 µL/mL | - | - | - | - |
| 4 | 6,25 µL/mL | + | - | - | - |
| 5 | 3,125 µL/mL | + | + | - | - |
| 6 | 1,56 µL/mL | + | + | + | + |
| 7 | 0,78 µL/mL | + | + | + | + |
| 8 | 0,39 µL/mL | + | + | + | + |
| 9 | 0,19 µL/mL | + | + | + | + |
| 10 | Control negativo (**) | + | + | + | + |
| Control | Control del Extracto (***) | - | - | - | - |
| Fluconazol | Testigo (****) | - | - | - | - |

Tabla 03. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto acuoso del bulbo de *Allium sativum* L sobre cepas de *Candida albicans* resistente a la nistatina a concentración 25 µL/mL.

DISCUSIÓN

El descubrimiento de antibióticos en el siglo anterior condujo a la reducción de la mortalidad y la morbilidad debido a enfermedades infecciosas, pero su uso inapropiado e irracional ha dado lugar a la aparición de poblaciones microbianas resistentes (18). Esto ha llevado a un mayor interés en las plantas medicinales ya que del 25 al 50% de los productos farmacéuticos actuales son derivados de plantas. Los extractos crudos de plantas medicinales podrían servir como una fuente alternativa de agentes modificadores de la resistencia debido a la gran variedad de metabolitos secundarios (19). Aunque el ajo se ha utilizado por sus propiedades medicinales durante miles de

años, las investigaciones sobre su modo de acción son relativamente recientes. El ajo tiene un amplio espectro de acciones; no solo es antibacteriano, antiviral, antifúngico y antiprotozoario, sino que también tiene efectos beneficiosos en los sistemas cardiovascular e inmune (20).

Los resultados obtenidos nos indican que el extracto acuoso del bulbo de *Allium sativum L.* ejerce mecanismos de acción de actividad antifúngica sobre *Candida albicans* resistente a la nistatina. Los estudios revelan que esto puede ser debido a la acción de los compuestos activos del bulbo, ya que este contiene Alicina, Dialil y Vinilodetiinas; donde aproximadamente 20 % es de Dialil y Vinilodetiinas totales altamente concentrados incluyendo un alto porcentaje 80% de Alicina (21). Un análisis realizado del bulbo de ajo muestra compuestos detectados, los cuales incluyen: glucosa, ácido glutámico, arginina, ácido aspártico, leucina, lisina, valina, aliina, aminoácidos azufrados como la S-alicisteina o sulfóxido de alicisteina que se transforma en alicina, disulfuro de dialilo y también contiene compuestos como: fructosanos (inulina), quercetina, flavonoides, vitamina B6, vitamina C y minerales (potasio, manganeso, calcio, selenio y fósforo) (22). El mismo estudio reveló el efecto de los extractos del bulbo de ajo sobre la morfología y estructura de *C. albicans* y *C. krusei*, el cual se examinó mediante microscopía electrónica de barrido y transmisión, con la visualización de una membrana irregular e hifas, formación de vacuolas y engrosamiento de la pared celular (16).

Existen diferentes investigaciones sobre el uso y efectividad de *Allium sativum L.* El presente estudio fue realizado a partir del extracto acuoso del bulbo de ajo, a concentraciones de 25 µL/mL-150 µL/mL sobre cepas de *Candida albicans*, obteniendo resultados de 23,3 mm hasta 38,7 mm de halos de inhibición; con una CMI de 12,5 µL/mL, 3,125 µL/mL. Según Lora et al., (2010), se encontró que *Allium sativum L.* liofilizado sobre *Candida albicans* en su CMI produjo un halo de inhibición promedio de 7.3 mm, siendo la concentración del ajo 25 mg/ml. Cabe señalar que el tipo de extracto y la concentración de metabolitos responsables de la inhibición, que se encuentran en el bulbo de ajo, puedan marcar las diferencias entre las experimentaciones (23). Shamin et al. en un estudio con *Candida* aisladas de pacientes hospitalizados, midió la actividad antifúngica *in vitro* estableciendo zonas de inhibición se clasificaron como muy altas (41–50 mm), altas (31–40 mm), medias (21–30 mm) y bajas (11–20 mm). Observó altas zonas de inhibición con extractos de etanol de *Allium sativum* (24). Estudios como el de Meriga et al., Motsei et al., Ameh et al., Hughes y Lawson, obtuvieron resultados antimicrobianos de *Allium sativum* sobre *Candida albicans* (25–28).

Otros estudios revelan que el extracto acuoso de *Allium sativum L.* posee efectos antifúngicos similares al fluconazol, importante en el tratamiento antifúngico. Un estudio comparativo de extracto hidroalcohólico demostró que *A. sativum L.* en concentraciones de 30 mg/mL, tiene actividad definida contra *Candida*, sin embargo, el efecto de inhibición es menor que el de la nistatina (100 mg/mL), pero un aumento en la dosis de medicación podría alcanzar una actividad similar a la del medicamento (29). Otros estudios demuestran también actividad antifúngica de extractos acuosos preparados *Allium sativum* (ajo) contra *Malassezia furfur*, *Candida albicans*, otras *Candida sp.*, así como 35 cepas de diversas especies de dermatofitos al inhibir el crecimiento de todos los hongos probados de una manera dependiente de la dosis (30).

Las enfermedades infecciosas se encuentran entre las enfermedades comunes más importantes en todo el mundo y traen altos costos para la comunidad humana. Las plantas medicinales se consideran una fuente rica de agentes antimicrobianos y, por lo tanto, pueden usarse como remedios antimicrobianos debido a la producción de metabolitos secundarios. *Allium sativum* es una planta medicinal de importancia antifúngica. Las hierbas medicinales mencionadas en este estudio debido a compuestos fenólicos y actividades antioxidantes tienen efectos antifúngicos.

Los productos naturales son la principal fuente de medicamentos disponibles actualmente. Sin embargo, la detección del producto natural presenta varios desafíos, incluidos los pasos que requieren mucho tiempo y trabajo, necesarios para el aislamiento de un fármaco de extractos crudos, así como las diferencias entre las actividades de los compuestos *in vitro* e *in vivo*. Se recomienda realizar nuevos estudios con diferentes compuestos de plantas naturales, y evitar la subdosificación y el uso excesivo de antifúngicos para prevenir su resistencia. Los resultados obtenidos en el presente trabajo demuestran la susceptibilidad de *Candida albicans* resistente a la nistatina procedente de infecciones vaginales, frente al extracto acuoso del bulbo de *Allium sativum L.*

BIBLIOGRAFÍA

1. Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. Vol. 3, Journal of Fungi. MDPI AG; 2017.
2. Denning DW, Kneale M, Sobel JD, Rautemaa-Richardson R. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. Vol. 18, The Lancet Infectious Diseases. Lancet Publishing Group; 2018. p. e339–47.
3. Dubé MP, Heseltine PNR, Rinaldi MG, Evans S, Zawacki B. Fungemia and colonization with nystatin-resistant *Candida*

- rugosa in a burn unit. Clin Infect Dis. 1994 Jan 1;18(1):77–82.
4. Selmecki A, Forche A, Berman J. Aneuploidy and isochromosome formation in drug-resistant *Candida albicans*. Science (80-). 2006 Jul 21;313(5785):367–70.
5. Scheibler E, da Silva RM, Leite CE, Campos MM, Figueiredo MA, Salum FG, et al. Stability and efficacy of combined nystatin and chlorhexidine against suspensions and biofilms of *Candida albicans*. Arch Oral Biol. 2018 May 1;89:70–6.
6. Szczepura A. Routine low-cost pathology tests: Measuring the value in use of bacteriology tests in hospital and primary care. Heal Serv Manag Res. 1992;5(3):225–37.
7. Safavi M, Shams-Ardakani M, Foroumadi A. Medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. Vol. 53, Pharmaceutical Biology. Informa Healthcare; 2015. p. 939–60.
8. Acosta-Quiroz J, Verástegui-Gaona C, Iglesias-Osores S, Moreno-Mantilla MC, Failoc-Rojas VE. Efecto inhibitorio, *in vitro* del extracto etanólico de *Plantago Major* “Llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* β -hemolíticos. Med Natur. 2019;13(2):7–11.
9. Arce-Gil Z, Barrera-Aguinaga A, Herrera-Sanchez E, Suárez-Zulueta MG, Rojas-Acuña D, Suclupe-Farro E, et al. Efecto inhibitorio del extracto de semilla de *Moringa oleifera* sobre *Escherichia coli* β -lactamasas de espectro extendido. Med Natur. 2020;14(1):91–4.
10. Bonilla-González JA, Gonzales-Chavez EJ, Iglesias-Osores S, Vergara-Espinoza ME. Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto líquido de *Musa acuminata* frente a *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina y evaluación de la toxicidad en *Artemia salina*. Med Natur. 2020;14(1):95–100.
11. Maco-Serquen L, Moreno-Mantilla M, Iglesias-Osores S. Susceptibilidad de *Candida albicans* a extracto etanólico de cáscara de *Punica granatum*. Med Natur. 2020;14(1):59–64.
12. Palhares RM, Drummond MG, Dos Santos Alves Figueiredo Brasil B, Cosenza GP, Das Graças Lins Brandão M, Oliveira G. Medicinal plants recommended by the world health organization: DNA barcode identification associated with chemical analyses guarantees their quality. PLoS One. 2015 May 15;10(5).
13. Moutia M, Habti N, Badou A. In Vitro and In Vivo Immunomodulator Activities of *Allium sativum* L. Vol. 2018, Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. Hindawi Limited; 2018.
14. Shang A, Cao SY, Xu XY, Gan RY, Tang GY, Corke H, et al. Bioactive compounds and biological functions of garlic (*Allium sativum* L.). Vol. 8, Foods. MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute; 2019.
15. Guevara-Robles M, Urcia-Ausejo F, Casquero-Cavero J. Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas [Internet]. Vol. 44, Instituto Nacional de Salud. 2007.
16. Panizo M, Reviákina V. *Candida albicans* and its pathogenic effect on membranes. Rev la Soc Venez Microbiol. 2001;21(2):38–45.
17. Sacaquispe-Contreras RE, Jorge-Velázquez P. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Vol. 30, Instituto Nacional de Salud. 2002.
18. Mohr KI. History of antibiotics research. Curr Top Microbiol Immunol. 2016 Dec 1;398:237–72.
19. Gupta PD, Birdi TJ. Development of botanicals to combat antibiotic resistance. Vol. 8, Journal of Ayurveda and Integrative Medicine. Elsevier B.V.; 2017. p. 266–75.
20. Harris JC, Cottrell SL, Plummer S, Lloyd D. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). Appl Microbiol Biotechnol. 2001;57(3):282–6.
21. Lawson LD, Wang ZJ. Allicin and allicin-derived garlic compounds increase breath acetone through allyl methyl sulfide: Use in measuring allicin bioavailability. J Agric Food Chem. 2005 Mar 23;53(6):1974–83.
22. Cho J, Lee EJ, Yoo KS, Lee SK, Patil BS. Identification of candidate amino acids involved in the formation of blue pigments in crushed garlic cloves (*Allium sativum* L.). J Food Sci. 2009 Jan;74(1).
23. Lora Cahuas C, Luján Velásquez M, Robles Castillo H, Saravia Cueva V, Cabezas J. Efecto *in vitro* de diferentes concentraciones de *Allium sativum* “ajo” frente a dermatofitos y *Candida albicans*. UCV - Sci. 2010;2(2):23–33.
24. Shamim S, Ahmed SW, Azhar I. Antifungal activity of *Allium*, *Aloe*, and *Solanum* species. Pharm Biol [Internet]. 2004 Jan 16 [cited 2020 Feb 1];42(7):491–8.
25. Hughes BG, Lawson LD. Antimicrobial effects of *Allium sativum* L. (garlic), *Allium ampeloprasum* L. (elephant garlic), and *Allium cepa* L. (onion), garlic compounds and commercial garlic supplement products. Phyther Res . 1991 Aug [cited 2020 Feb 1];5(4):154–8.
26. Meriga B, Mopuri R, MuraliKrishna T. Insecticidal, antimicrobial and antioxidant activities of bulb extracts of *Allium sativum*. Asian Pac J Trop Med. 2012 May;5(5):391–5.
27. Motsei ML, Lindsey KL, Van Staden J, Jäger AK. Screening of traditionally used South African plants for antifungal activity against *Candida albicans*. J Ethnopharmacol. 2003;86(2–3):235–41.
28. Ameh G, Eze S, Omeje F. Phytochemical screening and antimicrobial studies on the methanolic bulb extract of *Allium sativum* L. African J Biotechnol. 2013;12(14):1665–8.
29. Saravia-León N, Guillinta-Vallejos G. Actividad antifúngica del extracto de etanol *Schinus molle* y el fluconazol sobre *Candida albicans*. Kiru. 2012;9(1):39–41.
30. Shams-Ghahfarokhi M, Shokoohamiri MR, Amirrajab N, Moghadasi B, Ghajari A, Zeini F, et al. *In vitro* antifungal activities of *Allium cepa*, *Allium sativum* and ketoconazole against some pathogenic yeasts and dermatophytes. Fitoterapia [Internet]. 2006 [cited 2020 Feb 1];77(4):321–3.