

24 75



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

EVALUACION DEL PRINCIPIO ACTIVO DEL
Allium sativum (ALICINA) CONTRA
DERMATOFITOS "in vitro" e "in vivo"
EN EL TRATAMIENTO DE TIÑAS
DEL CUERPO E INGUINAL.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A:
Ma. de Jesús Muñoz Ayala

1989



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	Pág.
INTRODUCCION.	5
OBJETIVOS	6
ANTECEDENTES HISTORICOS	7
PROPIEDADES DEL PRINCIPIO ACTIVO.	9
METODOS DE EXTRACCION	11
DEGRADACION ENZIMATICA.	13
ESPECTRO DE ACCION.	19
- Antibacteriana.	19
- Antiviral, Fibrinolítica.	21
- Hipoglicémica	22
- Anticarcinogénica	23
- Antihelmíntica, Insecticida	24
- Antifúngica	25
- Inhibición Enzimática	29
EFFECTOS COLATERALES	31
METODOLOGIA	33
- Estudio "in vitro"	37

- Estudio "in vivo"	38
MATERIAL	45
RESULTADOS	47
- Estudio "in vitro"	47
- Estudio "in vivo"	48
CONCLUSIONES	53
COMENTARIOS	54
BIBLIOGRAFIA	56

I N T R O D U C C I O N

A inicios del año 1988, llegó a nuestras manos un artículo titulado: "El efecto de un extracto acuoso de ajo en el crecimiento de -- los dermatofitos" (4), en el cual los autores hacen un estudio de las propiedades del principio activo de éste (alicina). Demuestran tanto "in vitro" como "in vivo" su actividad antifúngica contra dermatofitos. Este hecho nos despertó el interés de realizar una investigación con nuestras propias cepas, y condiciones.

Si hacemos una revisión de los expedientes que se manejan en la consulta externa de cualquier servicio de dermatología, nos encontramos que tradicionalmente la gente utiliza el ajo como medicina popular para prácticamente cualquier dermatosis. Mucho se ha discutido sobre los efectos irritantes y fotosensibilizantes de éste; sin embargo, su uso cotidiano podría en un número determinado de casos, curar o mejorar algunas tiñas iniciales o incipientes. Por esta razón, pretendemos realizar algunos estudios "in vitro" para investigar si el extracto del ajo obtenido mediante una metodología determinada, presenta actividad antifúngica contra cepas de dermatofitos recién aislados de casos patológicos; de ser así, trataremos de encontrar una dosis mínima inhibitoria y en base a ésta, y apoyándonos con los diversos estudios que se han comunicado, pretendemos utilizarlo de manera tópica a una determinada concentración, teniendo como base, vehículo inerte, que tenga buena penetración dérmica; además de valorar los probables efectos colaterales que se pueden presentar.

O B J E T I V O S

- Obtener el principio activo (alicina) del Allium sativum a partir de un extracto acuoso.
- Demostrar y evaluar con el principio activo (alicina), la actividad "in vitro" contra diversas cepas de dermatofitos.
- Demostrar y evaluar la actividad "in vivo" del principio activo -- del Allium sativum (alicina) empleado como tratamiento tópico en dermatofitosis del cuerpo e ingle.
- Aislar y tipificar los agentes etiológicos de las dermatofitosis - en estudio y comprobar su sensibilidad "in vitro" frente a la alicina.

ANTECEDENTES HISTORICOS

El ajo, conocido botánicamente como Allium sativum L; es una - - planta ampliamente distribuida en todo el mundo, utilizada no sólo como un condimento alimenticio, sino como un remedio popular. Es de importancia señalar que hace miles de años en la India y China, fue considerado como uno de los agentes nutricionales y medicinales más valiosos.

En el antiguo Egipto, el ajo ocupó un lugar muy importante en la dieta popular. Plinius y Elder reportan que fue reconocido como "sagrado", así que era usual y obligatorio tomarlo para hacer juramentos. (1)

Una de las primeras menciones recordadas sobre el ajo se encuentra en un reporte hecho por Virgil (2), donde se describe cómo administraban el jugo de ajo a los segadores como medio profiláctico contra las mordeduras de reptiles.

Hipócrates agrega que además era un remedio eficaz para la neumonía y lesiones supurativas. (2,4)

Los habitantes de la India le atribuyen propiedades curativas - en numerosas enfermedades como hemorroides, reumatismo, dermatitis, dolor abdominal, pérdida de apetito y de peso. (3)

La primera descripción detallada del ajo como una planta medicinal se le reconoce a Discorides (100 A.C.); quien lo recomendaba como diurético, así como para el tratamiento de erupciones e infecciones parasitarias de la piel, lepra y cicatrices. A partir de estas observaciones, se le utilizó a grandes dosis.

En el año de 1564, Paracelsus y Lonicerus valoran la acción del ajo contra las helmintiasis intestinales. Posteriormente y en base

a los trabajos de Fortunatov, el ajo pretendía ser más satisfactorio que la penicilina en las infecciones de la garganta (5). Para el -- año de 1956, Lehmann (4,5) realiza estudios "in vitro"; siendo el -- primero en describir propiedades antimicrobianas de éste; demuestra que sus extractos, inhiben el crecimiento de Eberthella typhosa y -- Escherichia coli. Esto vendría a ser la base científca para el uso medicinal de los extractos.

Recientemente, Moore y Atkins (6), reportan la efectividad inhi bitoria, letal y consistente de un extracto de ajo contra una variedad de hongos de importancia médica.

El ajo es aún empleado como una medicina tradicional en todo el mundo con propósitos profilácticos y curativos, entre los cuales se incluyen enfermedades gastrointestinales agudas y crónicas, arteroes clerosis e hipertensión (5,7), e inclusive es común utilizarlo en -- múltiples enfermedades dermatológicas, dentro de las que quedan in-- cluidas las tiñas.

PROPIEDADES DEL PRINCIPIO ACTIVO

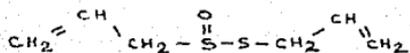
En la naturaleza del principio activo del ajo residen las diferentes propiedades atribuidas a esta planta por distintos autores.

Wertheim (3); y más tarde Senmler (8), reportan que el ajo contiene principalmente dialil trisulfuros, polisulfuros y escasos compuestos de dietil disulfuros; además, en el curso de varios años, se han encontrado otros compuestos que han sido aislados del Allium sativum sumados a los compuestos orgánicos de azufre. Entre éstos se encuentran pequeñas cantidades de yodo, vitaminas A, B, C y algo de vitamina D (9). Es importante mencionar que la cantidad y tipo de los compuestos presentes en el ajo, varían de acuerdo con el lugar donde crece y de la composición del suelo (3).

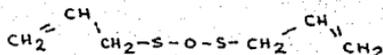
FORMULAS:

Cavallito, Bailey y otros autores (3,4,10), atribuyen la propiedad bactericida del ajo a un aceite incoloro, de olor penetrante llamado alicina; para dicho compuesto, se proponen dos estructuras:

(I)



(II)



Formula empírica	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{OS}_2$
Peso molecular	162 g/mol
Densidad	1.112 g/ml
Índice de refracción	1.561

El análisis del principio activo muestra:

44.12 - 44.59 % de Carbono

6.30 - 6.34 % de Hidrógeno

39.69 - 40.90 % de Azufre

(11)

No contiene nitrógeno ni halógenos y es ópticamente inactivo.

Se trata de un compuesto azufrado: dialil tiosulfinato (2-propenil-2-propenetiól sulfinato), el compuesto es relativamente inestable. (12), lábil al calor, estable en medios ácidos, es soluble en agua (2.5% a 10°C aproximadamente); miscible en alcohol, benceno y éter (10,11).

Las soluciones acuosas de alicina tienen un pH de 6.5 aproximadamente; y por encima de éste aparece un precipitado cristalino - - (11,15).

El agente bacteriano ha sido aislado en su estado puro como un líquido incoloro. Presenta estabilidad considerable cuando se refrigera.

El producto es irritante en la piel y su olor es mucho más característico al del ajo que al de los compuestos derivados de los sulfuros de alilo. (11,14).

METODOS DE EXTRACCION

Para la extracción del principio activo se han propuesto varias técnicas de las cuales se puede obtener en forma pura, o en extractos acuosos con otros compuestos diferentes, donde la propiedad antimicrobiana se le atribuye por completo a la alicina.

Rundqvist (9), fue el primero en realizar serios intentos por aislar el principio fundamental; preparó un extracto crudo a partir de bulbos secos por medio de una extracción con etanol diluido y varias veces con éter. Las preparaciones que obtenía, contenían cantidades considerables de carbohidratos, por lo que llegó a una conclusión errónea de que la sustancia que estaba obteniendo era un glucósido que nombró alicina.

En 1944 Cavallito y Bailey, (8), obtienen un extracto en solución acuosa-etanólica por destilación a presión reducida, logrando aislar del destilado resultante una sustancia soluble en agua la cual llamaron alicina.

Stoll y Seebeck (3), congelan bulbos de ajo y los fraccionan en pequeñas partes; después extraen con metanol o etanol. El solvente se elimina a baja temperatura y presión reducida. La separación de las sustancias contaminantes, particularmente de carbohidratos, se logra con precipitaciones fraccionadas con éter dietílico y etanol.

Tansey, Appleton y Barone (12,16), homogeneizan los bulbos fraccionados previamente, con un volumen igual en peso al 2% de un medio de cultivo con extracto de malta. Se obtiene una pasta que es filtrada al vacío con una serie de filtros cuyo tamaño de poro es decreciente; finalmente se esteriliza con filtros milipore.

Moore y Atkins (6), modifican el procedimiento de Tynecka y Gos (17), y obtienen aproximadamente 200 ml. del jugo de ajo a partir de un kilogramo. Los bulbos son prensados y licuados; la pasta que se

obtiene se exprime a través de ocho capas de gasa y el jugo se centrifuga a 8,000 Xg; el sobrenadante se esteriliza por filtración.

Recientemente hacia 1979, Amer, Taha y Tosson (4), licúan los ajos y obtienen un jugo que es incubado a 37°C durante una hora para la conversión de alina (inactiva) a alicina (activa).

El jugo una vez incubado se centrifuga a 8,000 rpm durante 15 minutos y finalmente se tiene el aceite conteniendo la alicina.

Fliermans (20), homogeneiza los ajos; el extracto es diluido -- con agua destilada, filtrado por gasa y centrifugado a 2,000 Xg para remover toda la pulpa, el extracto se esteriliza por filtración.

Existen otros métodos cuyo fundamento es similar a los antes -- mencionados, entre los cuales están los utilizados por Yamada y Azuma (18), y Fromtling y Bulmer (19).

DEGRADACION ENZIMATICA

Se ha mencionado que Rundqvist (9), fue el primero en realizar serios intentos por aislar el principio activo del ajo, y que erróneamente pensó que se trataba de un glucósido al que llamó alina. - Ciertamente no era un glucósido; sin embargo, algunas reacciones con las cuales obtenía sus preparaciones crudas, como eran la formación de un sulfuro de cobre negro, el desarrollo de olor intenso a ajo -- por calentamiento con solución de Fehling o después del tratamiento con la "enzima del ajo", indicaban que se trataba de la misma sustancia que Stoll y Seebeck aislaron en forma cristalina. Ellos tomaron el nombre de alina para tal compuesto (4).

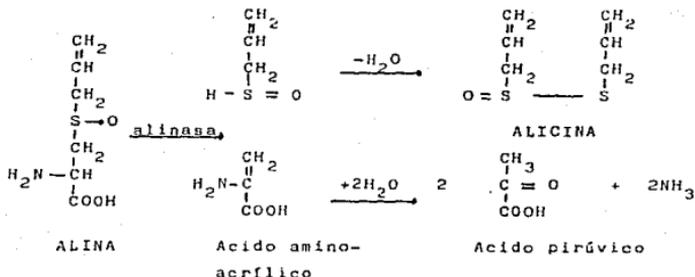
La alina cristaliza de etanol diluido, es fácilmente soluble en agua, insoluble en etanol, cloroformo, acetona y benceno. Además resulta ser inactiva contra Gram positivos; pero, si es descompuesta - con una solución de "enzima de ajo", presenta una actividad antibacteriana similar a la alicina (3,4,10).

Una propiedad notable del ajo es que en condiciones normales, - exhibe muy poco olor o carece de él; pero tan pronto como los bulbos son cortados o prensados, se desarrolla un intenso olor. Esto, probablemente se debe a que los aceites volátiles de las diferentes variedades del Allium, son formados por degradación enzimática de los precursores de elevado peso molecular que poseen escaso olor o carecen de él.

La alicina pues, es formada por degradación enzimática de la -- alina. La enzima responsable de ello se llama alinasa (11).

Cavallito y colaboradores, (10,15), reportan que el tratamiento de alina con alinasa, dá como resultado alicina, ácido pirúvico y -- amoniaco; estos dos últimos compuestos aparecen en cantidades equimoleculares.

REACCION:



Debido a la similitud estructural entre la alina y la cisteína, existen otras enzimas diferentes de la alinasa, que son capaces de producir la degradación enzimática de aminoácidos que contienen azufre, entre ellas podemos mencionar la cisteinasa, encontrada en Proteus vulgaris y Escherichia coli; la cisteína desulfhidrasa que está presente en el hígado y desdobla a la cisteína en ácido sulfhídrico, ácido pirúvico y amoníaco; un proceso similar al de la alinasa sobre la alina.

Durante la degradación enzimática de la alina, aparece un olor típico pero no desagradable a ajo; éste es el olor de la alicina. La reacción con alinasa se lleva a cabo extremadamente rápido; éste es un factor proporcional a la aparición del olor en los ajos prensados. Más del 80% de la alina es desdoblada por la enzima al término de dos minutos. (fig. 1).

En otra serie de experimentos determinan la relación entre la actividad de la alinasa y la temperatura; se puede apreciar que la temperatura óptima de acción es de 37°C. El resultado más interesante es que la alinasa es capaz de descomponer 1/5 del sustrato en dos minutos aún a 0°C. (fig. 2); además, su actividad es la misma en so-

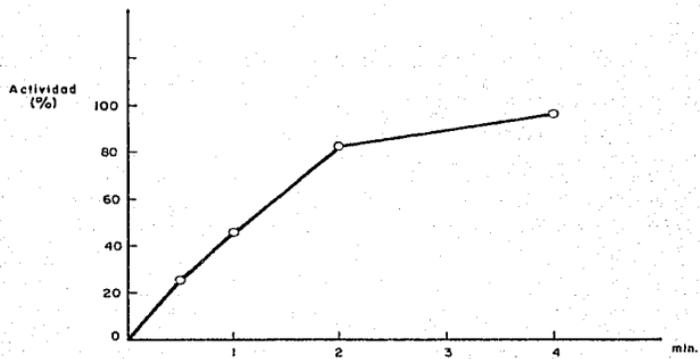


Fig. 1 Degradación de la alina por la alinasa.

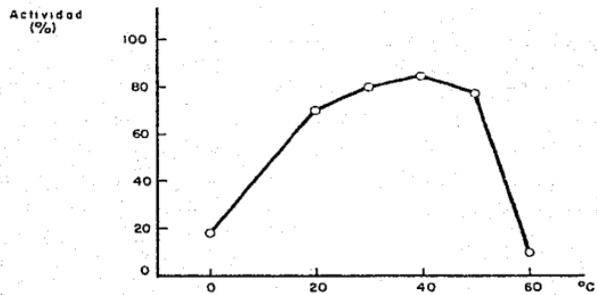


Fig. 2 Influencia de la temperatura en la acción de la alinasa.

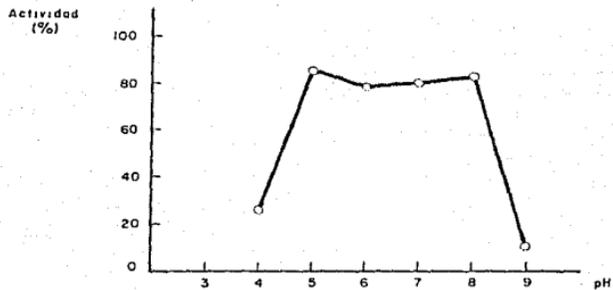


Fig. 3 Influencia del Ph sobre la acción de la alinasa.

luciones de ácidos y bases débiles a pH de 5 a 8. (fig. 3).

La enzima pierde su actividad aún a 3°C en catorce días; es - - inactivada por contacto con solventes orgánicos como etanol y éter - dietílico. (3).

ESPECTRO DE ACCION

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

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

Antibacteriana

La propiedad antibacteriana del ajo fue observada por primera vez por Lehmann (4,5), aunque Fenwich y Hanley (7), reportan que Pagteur describió dicha propiedad. La naturaleza del principio activo se establece más tarde, cuando se sabe que la acción de la alicina es considerablemente más bacteriostática que bactericida; que es igualmente efectiva contra microorganismos Gram positivos y Gram negativos. Paralelamente, observan que muestra una actividad equivalente aproximadamente a 15 unidades Oxford de penicilina por miligramo, lo cual es cerca del 1% de la actividad de la penicilina, agregan, además, que es efectiva contra microorganismos Gram negativos - que prácticamente son resistentes a la penicilina.

Subrahmanyan y otros (21,22), encuentran que el ajo es el más potente de trece condimentos, inhibiendo el crecimiento de Shigella sonnei, S. aureus y E. Coli. Ellos demuestran también que reduce la microflora en la rata y puede cambiar la composición de la microflora intestinal a favor de organismos lácticos, los que benefician la absorción de minerales provenientes de la dieta. De Wit y cols (23), reportan que la producción de toxina (tipo A) de C. botulinum se ve

parcialmente inhibida en productos alimenticios como la carne.

Bajos niveles de extracto de ajo no tienen efecto en el crecimiento de S. aureus (1%); en cambio, niveles intermedios presentan inhibición en inóculos pequeños (2%) y niveles altos resultan ser bactericidas (5%). La mayor inhibición se observa a 37°C/pH 7.4 que a 28°C/pH 6.0. C. perfringens fue inhibido a concentraciones del 2% al 10%.

Elnima y cols. (24), estudian el efecto del extracto de ajo en flora bucal; el resultado del estudio fue indicativo de su probable uso como antiséptico oral.

En la tabla 1, se resume el espectro de acción antibacteriana del ajo.

TABLA 1

ESPECTRO DE ACCION ANTIBACTERIANA DEL ALLIUM SATIVUM (AJO)

Aerobacter aerogenes
Bacillus cereus
B. enteritidis
B. subtilis
Clostridium botulinum
C. perfringens
Escherichia coli
Klebsiella pneumoniae
Lactobacillus casei
L. plantarum
Leuconostoc mesenteroides
Mycobacterium tuberculosis
Proteus mirabilis
P. rettgeri
P. vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella enteritidis
S. paratyphi

S. typhi
S. typhosa
Serratia marcescens
Shigella dysenteriae
S. sonnei
Staphylococcus aureus
Streptococcus faecalis
S. haemolyticus
S. pyogenes A
S. salivarius
S. sanguis
S. viridans
Vibrio parahaemolyticus

Antiviral

El único trabajo encontrado en la bibliografía sobre la propiedad antiviral del ajo es el reportado por Nagai (25); donde presentó que los extractos de éste son tan efectivos como las vacunas contra el virus de la influenza en ratones; el administrarlo simultáneamente con vacunas, se observó un efecto sinérgico.

Procoagulante

Los extractos acuosos de ajo han demostrado inhibir la agregación plaquetaria inducida por ADP, adrenalina, colágena y araquidona de un modo dependiente de la dosis; éstos resultan ser menos efectivos que el aceite esencial o de toda la planta.

El ajo fresco, (100 a 150 mg/Kg); inhibe completamente la agregación plaquetaria inducida por la 5-hidroxitriptamina (serotonina) "in vivo" (26).

Fibrinolítica

Chutani y Bordia (27), han comparado recientemente los efectos del ajo crudo y cocido, sobre la actividad fibrinolítica en personas sanas. Mientras que los dos aumentan significativamente la actividad, la forma cruda es ligeramente más efectiva que en su forma cocida. Así mismo, reportan un estudio sobre el aceite esencial en pacientes con antecedentes de infarto al miocardio (28).

Fletcher y Parker (29); encuentran que la actividad de la coagulasa de S. aureus se ve inhibida, aunque los autores sugieren que -- puede ser debido al principio activo que más tarde se vuelve insoluble en agua.

Actividad sobre la sangre y lípidos

Bordia y cols. (30), reportan que el ajo tiene propiedades hipocolesterolémicas. Posteriormente, Augusti (31), conduce un estudio en el cual 5 pacientes con colesterolemia tomaron jugo fresco de ajo (0.5 ml/kg) diariamente durante dos meses. El nivel de colesterol bajó de 305 a 218 mg/dl durante este período; además se observó que al retirarlo de la dieta, los niveles de colesterol se incrementaban.

Bhushan (32,33), reporta que en pacientes sanos, éste tiene un efecto significativo en la reducción del colesterol sérico. Sucur (34), ha descrito los efectos producidos en 200 pacientes con hiperlipoproteinemia.

Actividad Hipoglicémica

Algunos trabajos indican que el ajo contiene propiedades hipoglicemiantes (reductores de glucosa en la sangre); y al revisar la literatura, nos encontramos que ha sido utilizado en el tratamiento de la diabetes. Sin embargo, no es hasta 1961 que Brahmachari y --

Augusti (35), reportan dicha actividad, siendo equivalente a 5% de la de un estándar de tolbutamida en conejos en ayuno y en aquellos - alimentados con glucosa. La glucosa en sangre disminuyó en ambos -- grupos experimentales.

El efecto del 2-propenil-tiosulfinato (250 mg/kg) en conejos -- con diabetes inducida, resultó ser aproximadamente 60% tan efectivo como la tolbutamida (250 mg/kg), reduciendo los niveles de glucosa - en sangre de conejos con diabetes inducida (180 a 300 mg/dl), pero - no fue efectivo en los casos de diabetes severa (350 mg/dl), lo cual toma como evidencia, la influencia del efecto hipoglicemiante de la alicina sobre la insulina endógena.

El tratamiento con tiosulfinato aumenta la actividad de la insulina en el suero (21% comparado con 37% de la tolbutamida) y del glulcógeno del hígado (18% contra 26%).

Mientras que es posible que el efecto de este compuesto se deba a una estimulación directa o indirecta de la secreción de insulina - sobre el páncreas, los autores sugieren que es más probable la inactivación de la insulina a nivel de grupos (-SH) por reacción con moléculas que contienen azufre endógeno como la cisteína, glutatión y fracciones de albúmina en suero.

Anticarcinogénica

La actividad de los extractos de ajo referente a la catepsina - encontrada en tumores humanos y animales, ha sido estudiada por Romaynyuk (37), donde encuentra que su actividad en el hígado, aumenta en procesos tumorales; pero se ve disminuída o retardada por la acción del ajo.

Von Euler y Lindeman (38), observan los efectos benéficos, totales en algunos casos, de la inyección intratumoral de extracto de -- ajo (20 mg) en ratas con sarcoma de Jensen.

Weisberger y Pensky (39,40), muestran que el dietil tiosulfinato inhibe la utilización de aminoácidos que contienen azufre por leucocitos en la leucemia "in vitro". De este estudio, los autores consideran que la reactividad de los dialquil tiosulfatos en general (y de la alicina en particular) con grupos SH-, podría resultar en aquellos compuestos que poseen efectos inhibitorios contra células malignas.

Datos reportados por Horwitz (41), sugieren un posible enlace entre el cáncer gástrico y el consumo de ajo. El estudio se realiza comparativamente en dos provincias de China. En una de ellas, donde el consumo es regularmente 20 g/día, la tasa de mortalidad por cáncer gástrico fue de 3.45/100,000; mientras que en la otra, donde el ajo se consume muy poco, la mortalidad fue mucho más alta 40/100,000.

Se ha observado que el ajo resulta ser mutagénico en bacterias (42,43) y en moscas del género Drosophila (44), pero administrado oralmente en ratones, no presenta genotoxicidad (45).

Antihelmíntica

El efecto antihelmíntico del ajo fue confirmado en un estudio realizado por Singh (46), quien reporta que tiene efectos adversos sobre huevecillos y larvas de parásitos. Su ingestión, afecta el desarrollo de huevecillos de Necator americanus (en el hombre) y Ancylostoma caninum (en el perro) pero no se observa algún efecto en el estadio larvario (47). Su administración por vía rectal, resulta ser efectiva en el tratamiento de la enterobiasis.

Insecticida

En India y Pakistán, es utilizado como un repelente de insectos para preservar los granos alimenticios (48).

El primer estudio del efecto insecticida del ajo fue el reporta

do por Amonkar y Reeves (49), en el que examinaron un extracto crudo de ajo deshidratado en metanol, y una fracción destilada al vapor, - contra larvas de mosquito (Culex peus, Aedes aegypti, etc.). Los resultados indicaron que el extracto parcialmente purificado, fue 12.5 veces más potente que el extracto crudo.

Algunos estudios han sido conducidos hacia la determinación de la base bioquímica de la actividad larvicida. George y otros (50), examinaron el efecto del ajo en la biosíntesis de proteínas en larvas de mosquito, y concluyeron que se vió afectada por el principio activo, y que ésto, estaba relacionado con la mortalidad.

Bhatnagar-Thomas y Pal (51), trabajan con moscas domésticas y - con escarabajos (Musca domestica nebulosa y Trogoderma granarium), con aceite de ajo. Los autores encuentran cambios en los niveles de acetilcolina y acetilcolinesterasa; sugieren que el sistema nervioso es el sitio principal de la lesión primaria responsable de la muerte. - De los dos insectos, la mosca fue más susceptible; además, los adultos de ambas especies fueron más susceptibles que las formas larvarias. Otros autores (52), estudiaron su actividad inhibitoria sobre la fosforilación oxidativa en mitocondrias de hígado de ratón.

Antifúngica

Los extractos de ajo, presentan inhibición del crecimiento de hongos y levaduras.

Upadhyay (53), comunica que las gotas de ajo son de beneficio - en las infecciones de los ojos.

Smalley y Hansen (54), reportan que el crecimiento de Penicillium sp que normalmente parasita al ajo, fue menos inhibido por sus extractos crudos a diferencia de cepas que crecen en otros huéspedes.

El ajo, ha mostrado inhibir la producción de aflatoxinas por -- Aspergillus flavus y Aspergillus parasiticus. Mabrouk y El Shayeb

(55), observaron que el ajo picado inhibía el crecimiento de hongos y la formación de aflatoxinas a diferencia del ajo esterilizado en autoclave cuando se probaba contra Aspergillus flavus.

Caporaso y otros (56), no encontraron actividad antifúngica en la orina de pacientes que previamente tomaron 25 ml de jugo de ajo; en base a esta observación y otras razones, concluyeron que administrado oralmente no era de mucha utilidad en el tratamiento de infecciones fúngicas.

Una variedad de hongos levaduriformes de los géneros Candida, - Rhodotorula, Torulopsis y Trichosporon, fueron inhibidos por la presencia de un extracto acuoso de ajo "in vitro".

Se aislaron 22 cepas de C. albicans de vaginitis. En todos los casos se inhibió el crecimiento con el extracto diluido 1:1024 con incubación a 37°C. La actividad antimicótica fue mayor a esta temperatura que a 30°C. La propiedad fungistática se mantuvo a 4, -10 y -60°C por un período de prueba de 30 días, pero la propiedad fungicida disminuyó en una semana bajo las mismas condiciones de almacenamiento (6).

Fromtling y Bulmer (19), realizan un estudio sobre el efecto de un extracto acuoso de ajo en el crecimiento y viabilidad de Cryptococcus neoformans. Su acción fue probada en 18 cepas por diferentes métodos; en pruebas de sensibilidad en disco. Se observó que a saturación del disco, la zona de inhibición fue de 37.9 mm; en aquellas pruebas que contenía 20 l/disco, fue de 17.8 mm en agar dextrosa de Sabouraud y 17.3 mm en agar modificado Czapek Dox.

Las pruebas de dilución en tubo mostraron que a concentraciones 1:512 fue fungicida.

Fliermans realiza un trabajo con Histoplasma capsulatum. La inhibición fue más clara con los extractos que con los condensados volátiles (20). La fase micelial fue inhibida por ambos. Su extracto fue inhibitorio a concentraciones de 254 partes por billón (ppb);

mientras que 8.1 partes por millón (ppm) resultaron letales para cultivos puros.

Tansey y Appleton (16,52), realizan un trabajo comparativo en el crecimiento de hongos en presencia y ausencia de un extracto acuoso de ajo. Concluyen que el crecimiento se ve inhibido en muchas, pero no todas las especies de hongos, algunos de los cuales son de importancia médica y económica.

Yamada y Azuma (57), evalúan la actividad antifúngica de la alicina "in vitro". Esta fué efectiva contra Candida, Cryptococcus, -- Trichophyton, Epidermophyton y Microsporium. La concentración mínima inhibitoria contra estos géneros fue de 3.13 a 6.25 g/ml por el método de dilución en agar y 1.57 a 6.25 g/ml por el método de dilución en caldo; utilizando medio de glucosa Sabourand. Sin embargo, se presentó una disminución en su actividad con el género Aspergillus. La concentración mínima inhibitoria de la alicina contra varios hongos patógenos fue afectada considerablemente por diferencias en las condiciones experimentales, por ejemplo: tiempo de incubación, tamaño del inóculo, tipo del medio y su pH. La concentración inhibitoria contra Candida, Cryptococcus y Aspergillus permaneció constante después de más de tres días de incubación, y contra dermatofitos se mantuvo constante después de más de 10 días de incubación. El pH óptimo fue de 5.6.

Por microscopía, se observó que la alicina induce anomalías morfológicas en las hifas de T. mentagrophytes.

Recientemente Amer, Taha y Tosson (4), estudian el efecto del extracto acuoso del ajo en el crecimiento de diferentes dermatofitos de importancia médica.

Este fue probado con las siguientes cepas: M. gypseum, T. verrucosum, T. violaceum, T. rubrum, T. schoenleini, T. mentagrophytes y E. floccosum.

La concentración inhibitoria se encontró alrededor de 40-200 -- mg/l.

En el estudio "in vivo", la infección fue inducida en conejos y cuyos. El tratamiento de las lesiones producidas fue de manera tópica y por inyección del extracto.

La aplicación tópica fue efectiva produciendo curación completa en un tiempo de 14 a 17 días, aplicando dos veces al día. La inyección no mostró actividad, ya que las lesiones continuaron apareciendo cerca del sitio de infección. Los resultados fueron confirmados por microscopía.

TABLA 2

ESPECTRO DE ACCION ANTIFUNGICA DEL ALLIUM SATIVUM

Absidia sp.
Alternaria sp.
Candida albicans.
C. parapsilopsis
C. pseudotropicalis
C. stellatoidea
C. tropicalis
Cephalosporium sp.
Cladosporium sp.
Cryptococcus neoformans
Epidermophyton floccosum
Fusarium sp.
Geotrichum candidum
Helmintosporium sp.
Histoplasma capsulatum
Microsporium canis
M. gypseum
Mucor sp.
Penicilina sp.
Phialophora verrucosa
Rhizopus sp.
Rhodotorula rubra

Saccharomyces cerevisiae
Scopulariopsis sp.
Trichoderma viridis
Trichophyton mentagrophytes
T. rubrum
T. schoenleinii
T. tonsurans
Trichosporon beigeli.

Inhibición Enzimática

Wills (58), estudió la acción de la alicina sobre algunas enzimas, entre las cuales se encuentran la xantina oxidasa, ureasa y las del complejo de la succinato oxidasa.

Realizó una comparación entre las actividades de alicina pura y de un extracto acuoso de ajo, que resultaron similares. De esto, -- concluye que los efectos observados con los extractos de ajo, pueden ser explicados por la presencia de alicina en ellos.

La actividad de la alicina fue dividida en dos grupos:

Las enzimas que fueron fuertemente inhibidas. Tabla 3

Las enzimas que fueron inhibidas o no por ésta. Tabla 4.

TABLA 3
 ENZIMAS INHIBIDAS FUERTEMENTE

<u>Sustrato</u>	<u>Inhibición (%)</u>
Deshidrogenasa succfnica	90
Triosa fosfato deshidrogenasa	100
Xantina oxidasa	95

TABLA 4

ENZIMAS INHIBIDAS	ENZIMAS NO AFECTADAS
+ Deshidrogenasa succínica	Citocromo oxidasa
+ Ureasa	Lipasa
+ Papafina	Renina
' Xantina oxidasa	Pepsina
' Xantina oxidasa (hígado)	Tripsina
+ Colina oxidasa	Invertasa
+ Hexocinasa	amilasa
+ Colinesterasa	Esterasa (suero)
+ Alcohol deshidrogenasa	+ Anhidrasa carbónica
Deshidrogenasa láctica	+ Carboxilasa
Fosfatasa alcalina	+ amilasa
+ SH enzimas	
' Posibles SH enzimas	

El autor, reporta también que algunos compuestos como la cisteína, el glutatión y el 2,3-dimercaptopropanol, tienen la capacidad de proteger a la deshidrogenasa succínica y a aquellas enzimas que contienen azufre, de la actividad inhibitoria de la alicina. La inhibición de tales enzimas ha mostrado estar asociada con la presencia de los grupos -SO-S-, y no por la de los grupos -SO-, -S-S- ó -S-.

EFFECTOS COLATERALES

1. Asma bronquial

El primer caso reportado de asma bronquial inducido por el ajo, se obtuvo en 1940 por Henson (59). Se trataba de un paciente trabajador en una empacadora de carne. Aunque su diagnóstico no fue confirmado inmunológicamente, el paciente tenía una historia de ataques asmáticos asociados a la exposición al ajo, y exhibía una fuerte respuesta positiva a la prueba cutánea al ajo.

Dos reportes más de asma ocupacional debido al ajo han sido descritos; Falleroni y cols. (60), estudiaron el caso de un paciente -- propietario de una empacadora de especias, quien refería estornudos y tensión en el pecho cuando se encontraba cercano al ajo. Como resultado de estudios clínicos subsecuentes, incluyendo pruebas cutáneas, estos autores sugieren que la condición fue debida a una respuesta inmunológica mediada por IgE y detectaron IgE sérica específica a antígenos del ajo.

Lybarger y cols. (61), reportaron el caso de un paciente que sufría asma bronquial inducido por ingestión e inhalación del ajo. Los anticuerpos IgE específicos al ajo fueron encontrados nuevamente en el suero y se observó una reacción cruzada entre el ajo y la cebolla por la técnica de RAST.

2. Dermatitis por contacto

En 1950, Edelstein estudia un caso de dermatitis por contacto -- al ajo. A partir de entonces, han sido descritos un número adicional de éstos (62-65); en todos ellos, el ajo ha sido designado como el agente causal.

Sinah et al (66), encontró que éste es el más activo de 21 vege

tales examinados por la prueba del parche (67).

3. Otros efectos

Desde que la hipoglicemia ha mostrado causar daño testicular e inhibición de la espermatogénesis, Dixit y Joshi (68), investigaron el efecto sobre la disfunción testicular en ratas alimentadas por -- tiempos prolongados con polvo de ajo (350 mg/kg). El peso corporal y testicular, la vesícula seminal y la epidermis, se redujeron. Después de 45 días, los testículos mostraron cambios degenerativos y -- después de los 70 días, aparecieron severas lesiones testiculares. - La espermatogénesis se detuvo en la etapa de espermatocito primario. Mientras que el mecanismo de la supresión de la espermatogénesis inducida por el ajo no fue clara, los autores sugieren que puede ser - resultado de la inhibición de la síntesis de colesterol y la interferencia en el metabolismo de la glucosa.

METODOLOGIA

a) Preparación del extracto

1. Se pesan 500 g. de bulbos de ajo pelados y se congelan.
2. Se licúan con 150 ml. de agua destilada hasta obtener una pasta homogénea.
3. Filtrar a través de 8 capas de gasa y finalmente por papel filtro.
4. Calentar el filtrado en baño María a 37°C durante una hora.
5. Centrifugar a 8,000 rpm durante 15 minutos.
6. Mantener en refrigeración hasta utilizarlo.

b) Preparación del inóculo

1. Se prepara medio de cultivo caldo glucosa de Sabouraud.
2. Se colocan 2 ml. de medio en tubos de 13 x 100 mm.
3. Esterilizar en autoclave (121°C, 15 minutos, 15 lb. de presión).
4. Se enfría a temperatura ambiente.
5. Se inocula la cepa a investigar.
6. Se incuba a 28°C durante 2 a 3 días, dependiendo de la cepa utilizada.

c) Preparación de medios de cultivo

C.1 Medio de agar glucosa de Sabouraud

Fórmula: Glucosa ----- 40 g.
 Peptona ----- 10 g.
 Agar ----- 20 g.
 Agua destilada --- 1000 ml.

Se hierve el medio hasta disolución completa, después se distribuye en tubos de 16 x 150 (con 7 ml. cada uno aproximadamente), - éstos se cubren con tapones de algodón y se esterilizan en autoclave, a 121°C durante 15 minutos (15 lb. de presión), posteriormente se sacan y se inclinan.

C.2 Medio caldo glucosa de Sabouraud

Fórmula: Glucosa ----- 20 g.
 Peptona ----- 10 g.
 Agua destilada --- 1000 ml.

Se disuelve el medio completamente, se distribuye en tubos de 16 x 150 (con 6 ml. cada uno aproximadamente), éstos se cubren con tapones de algodón y se esterilizan en autoclave, a 121°C, durante 15 minutos (15 lb. de presión), se enfrían inmediatamente bajo agua y se refrigeran.

C. 3 Medio de agar Micosel

La fórmula de éste es exactamente igual que el medio de Sabouraud, la diferencia es que se le agregan antibióticos en la siguiente proporción:

Actidione (cicloheximida) ---- 40 mg/l
 Cloranfenicol ----- 50 mg/l

El primero se disuelve en 5 ml. de acetona y el segundo en 5 ml. de etanol, se agregan una vez que el medio ha hervido y se este-

riliza en la misma forma que el medio Sabouraud.

C.4 Medio de agar Sabouraud - alicina.

1. Preparar diluciones seriadas del extracto de ajo - - - -
(10^{-1} ... 10^{-5}), en agua destilada.
2. Preparar medio de glucosa Sabouraud y esterilizar.
3. Dejar enfriar a 45°C y vaciar en cajas de petri estériles,
(9 ml. de medio por caja).
4. Agregar 1 ml. de la dilución correspondiente en cada ca-
ja.
5. Mantener en refrigeración.

C.5 Medio de caldo Sabouraud - alicina.

1. Preparar soluciones del extracto que contengan las concen-
traciones siguientes: 200, 150, 100, 50, 25 y 12.5 mg/ml
en caldo glucosa Sabouraud como se indica:

TUBO	MEDIO DE CULTIVO	EXTRACTO (ml)	CONC. (mg/ml)
1	5	0.9	200
2		0.67	150
3		0.45	100
4		0.33	75
5		0.22	50
6		0.11	25
7		0.05	12.5
8		-	-

2. Colocar en tubos de 16 x 150 mm y refrigerar.

C.6 Preparación del tapiz para la toma de muestra.

Se recortan pedazos de tapiz (alfombra) de 5x5 cm aproximadamente, se lavan y se envuelven en papel de estrasa, después se esterilizan en autoclave a 121°C, durante 15 minutos (15 lb de presión).

C.7 Preparación de portaobjetos

Se hacen paquetes de 2 portaobjetos, envueltos en pedazos de papel copia de 6 x 12 cm aproximadamente, se esterilizan en horno -- hasta vire del indicador, o bien, en autoclave a 121°C por 15 minutos (15 lb de presión).

PROTOCOLO

Estudio "in vitro"

1.0 Metodología

El estudio se realizó con las siguientes cepas:

- T. rubrum
- T. mentagrophytes
- M. canis
- E. floccosum
- T. tonsurans
- M. gypseum

1.1 Prueba de Sensibilidad en placa

Se procedió a la siembra de los dermatofitos en el medio de - agar Sabouraud - alicina a diferentes concentraciones (inciso C.4). Después de incubar de 4 a 6 días, se observó la inhibición del crecimiento, así como los cambios macroscópicos y microscópicos producidos por el principio activo.

1.2 Prueba de Sensibilidad en Caldo

Después de preparar el medio de cultivo, caldo Sabouraud alicina, (inciso C.5), se realizó la siembra de los dermatofitos, se incubó a 28°C durante 4 a 6 días y posteriormente, se observó la inhibición del crecimiento.

1.3 Prueba de Difusión en agar (Penicilindros)

Sobre una placa de agar glucosa de Sabouraud, se colocó un peni

cilindro, el cual se llenó con la dilución correspondiente del extracto (2 gotas aproximadamente). Se dejó difundir durante una hora y posteriormente se sembró el medio con el pie de inóculo (inciso b).

Después de incubar, se observó la inhibición:

- a las 24 horas
- a las 48 horas

1.4 Macroscopía

Se observaron los cambios producidos en la colonia y en la producción de pigmento de las diferentes cepas.

1.5 Microscopía

Los cultivos se valoraron por medio de exámenes directos con colorante azul algodón lactofenol. Se observaron cambios producidos en las hifas y en las conidias de cada dermatofito.

ESTUDIO "IN VIVO"

2.0 Metodología

Se evaluó el uso de la alicina (extracto acuoso de ajo), crema al 1% con dos aplicaciones al día, sobre pacientes de tinea corporis y/o cruris.

2.1 Selección de los pacientes

Se seleccionaron a 20 pacientes con tinea corporis y/o cruris - que cumplieron con los siguientes criterios:

a) Criterios de Inclusión

- Pacientes de cualquier edad y sexo.
- Hallazgo clínico positivo.
- Hallazgo micológico positivo, en el examen directo (con -- KOH al 20% p/v en solución acuosa), a partir de la muestra obtenida antes de iniciar el tratamiento.
- Confirmación del hallazgo microscópico mediante cultivo -- con identificación del agente causal.
- Consentimiento por anticipado del paciente y estar de -- acuerdo hasta su terminación.

b) Criterios de Exclusión

- Hallazgo micológico negativo o dudoso con hallazgo clínico positivo.
- Aquellos pacientes que presenten tinea corporis y/o cruris muy extensas.
- Tratamiento antimicótico local dentro de las dos semanas - anteriores al inicio del estudio.
- Tratamiento antimicótico sistémico dentro de las 4 semanas anteriores al inicio del estudio.

NOTA: No se efectuará ningún otro tratamiento antimicótico, local o sistémico durante el estudio.

2.2 Indicaciones

La alicina (extracto acuoso de ajo) crema al 1% se administró - dos veces al día, preferentemente por la mañana y la noche. Se aplicó en capa delgada y uniforme, únicamente sobre la(s) lesión(es). La duración del tratamiento fue de dos semanas, y posteriormente se dejó al paciente 8 días sin tratamiento para su observación.

2.3 Evaluación

Se evaluó clínicamente y micológicamente (examen directo con KOH 20% p/v en solución acuosa), a todos los pacientes, en cada una de las siguientes citas:

- Antes de iniciar el tratamiento.
- Una semana después de iniciado el tratamiento.
- Dos semanas después de iniciar el tratamiento.
- Una semana después de finalizado el tratamiento.

En la mayoría de casos, se tomaron fotografías para constatar la evolución clínica, con la misma luz, en la misma posición en la primera y última visita.

2.4 Valoración del Tratamiento

Se investigaron tratamientos previos al antimicótico en estudio y/o tratamientos concomitantes para otras enfermedades. Se hizo una evaluación clínica y micológica en cada cita, tomando en cuenta, los síntomas ocasionados por la micosis como: eritema, descamación, prurito, vesícula y ardor. Al final del tratamiento, mediante una co--

rrelación de los hallazgos clínicos y micológicos, se realizó la valoración de acuerdo a los siguientes parámetros:

- A. Muy bueno. Curación clínica y micológica (examen directo con KOH 20% p/v en solución acuosa y cultivos negativos).
- B. Bueno. Mejoría clínica y curación micológica (examen directo con KOH 20% p/v en solución acuosa y cultivos negativos).
- C. Regular. Ligera mejoría clínica y curación micológica (examen directo con KOH 20% p/v en solución acuosa y cultivos positivos).
- D. Malo. Actividad clínica y micológica.
- E. Intolerancia al medicamento.

2.5 Tolerancia

Durante el estudio, cuando un paciente presente irritación local o algún otro efecto secundario, se le suspenderá el tratamiento; considerándolo como fracaso terapéutico (inciso E).

2.6 Valoración Micológica

2.6.1. Toma de muestra

Una vez que se seleccionó al paciente por las manifestaciones clínicas que presentó, y que éstas correspondieron con las de una tinea corporis y/o cruris, se tomó la muestra de la siguiente manera:

Se recolectaron las escamas del borde de la lesión, por ser la parte donde hay mayor actividad micótica, haciendo un raspado con dos portaobjetos previamente esterilizados; el raspado se hizo colocando un portaobjetos en posición horizontal para recoger el material y otro en posición vertical para realizar el raspado, tratando

de quitar suficiente escama para su observación y cultivo.

2.6.2. Estudio micológico

a) Examen directo:

El material obtenido (escamas), se fragmentó con un bisturí, --tratando de obtener pedazos pequeños, posteriormente se agregó una gota de KOH 20% (p/v en solución acuosa), se colocó encima un cubre-objetos y se flameó directamente sobre el mechero, aproximadamente - 10 segundos, con el fin de acelerar la degradación de la queratina y obtener mejor clarificación.

Después de realizar la técnica se observó la muestra en el microscopio óptico, recorriendo todos los campos, primero a 10X y luego a 40X para la identificación de filamentos y/o esporas.

b) Cultivo de material:

El sobrante de las escamas se sembró en dos tubos:

- Un tubo de agar glucosa de Sabouraud (medio inclinado)
- Un tubo de agar micose1 (medio inclinado).

c) Examen macroscópico de las colonias:

Se realizó una vez que se presentó desarrollo completo del dermatofito, se requirió en promedio 15 días, se tomaron en cuenta las siguientes características:

- anverso: para observar desarrollo y características especiales.
- reverso: para observar la presencia de pigmentos.

d) Examen microscópico de las colonias:

Para llegar a la tipificación completa de género y especie de -

la cepa en estudio, se realizaron exámenes directos con azul algodón lactofenol, a distintos periodos de crecimiento.

En el caso que la cepa no presentara sus características microscópicas, se le estimulará con algunos medios pobres como agar papa - zanahoria, papa dextrosa, etc.

El formato utilizado para cada paciente es el siguiente:

Paciente No. _____ Iniciales: _____ Edad: _____ Sexo: _____
 Ocupación _____ Procedencia _____
 Padeamiento: Tiña del cuerpo _____ Tiña de la ingle _____ Mixta _____
 Topografía _____

Evolución: _____
 Tratamientos previos: _____
 Examen Directo: _____
 Cultivo _____
 Sensibilidad "in vitro" _____

Valoración

SIGNOS	Inicial	1a semana	2a semana	3a semana	Dos semanas	post trat
	clin mic	clin mic	clin mic	clin mic	clin mic	clin mic

Eritema _____
 Escama _____
 Vesícula _____
 Inflamac. _____
 Otros _____
 Síntomas _____
 Prurito _____
 Ardor _____
 Otros _____

+ Opcional

Valoración Clínica: 0 no existe; 1 leve; 2 moderado; 3 intenso.

Valoración micológica. Negativo; Positivo.

Efectos secundarios _____

Valoración del tratamiento: A B C D E

- A. Curación Clínica y micológica
- B. Mejoría Clínica y curación micológica
- C. Ligerá mejoría clínica y curación micológica
- D. Actividad clínica y micológica
- E. Intolerancia al medicamento

Olor del medicamento: Agradable _____ Sin importancia _____

Desagradable _____ Muy desagradable _____

OBSERVACIONES:

Material:

- Aguja de disección
- Algodón absorbente
- Asa micrológica con porta asa de platino
- Bisturf
- Cajas petri
- Cinta adhesiva (scotch)
- Cubreobjetos
- Esmalte de uñas
- Espátula de aluminio
- Etiquetas
- Gasas
- Gradillas metálicas para 40 tubos
- Lápiz graso
- Matraces Erlenmeyer de 250 y 500 ml.
- Mechero Bunsen
- Papel engomado
- Papel de estrasa y papel copia
- Papel filtro
- Penicilindros
- Pipetas graduadas de 0.2, 1.0, 5.0 y 10 ml.
- Pinzas planas de depilar
- Portaobjetos
- Probetas de 25 y 50 ml.
- Soporte universal
- Tapiz en fragmentos de 5 x 5 cm.
- Tela de asbesto
- Termómetro
- Tubos de ensaye de 12 x 75 y 16 x 150 mm.
- Vasos de precipitados de 50 y 250 ml.

Equipo:

- Autoclave
- Balanza granataria
- Estufa
- Horno

- Incubadora de 28 y 37°C
- Refrigerador
- Microscopio Óptico

Reactivos:

- Agua destilada
- Azul algodón lactofenol
- Cicloheximida
- Cloranfenicol
- KOH al 10 y 20% solución acuosa

Medios de cultivo:

- Agar glucosa de Sabouraud
- Agar Sabouraud - alicina
- Agar de micosel
- Caldo glucosa de Sabouraud
- Caldo Sabouraud - alicina

Principio activo en estudio:

- Alicina (extracto acuoso de ajo al 1% en frasco de 40 gramos).

con. mg/ml	12.5	10.0	7.25	5.0	2.5	test.
cepa						
<u>M. canis</u>	-	-	-	-	-	4+
<u>M. gypseum</u>	-	-	-	+	2+	4+
<u>T. tonsurans</u>	-	-	-	-	-	4+
<u>T. rubrum</u>	-	-	-	-	+	4+
<u>E. floccosum</u>	-	-	-	-	+	4+
	50.0	45.0	40.0	30.0	25.0	
<u>T. mentagrop.</u>	-	+	2+	2+	3+	4+

Dosis mínima inhibitoria para T. mentagrophytes: 50 mg/ml.

Dosis mínima inhibitoria para los otros dermatofitos diferentes de -
T. mentagrophytes: 5 mg/ml.

2.0 Estudio "in vivo"

Se evaluaron 20 pacientes con las siguientes características:

2.1 Sexo:

Masculino	12 pacientes	60%
Femenino	8 "	40%
	20	100%

Edad:

Mínima	3 años	
Máxima	31 años	Edad promedio 17 años

2.2 Ocupación

Ocupación	No. de pacientes	%
- Estudiantes	16	80
- Empleados	2	10
- Hogar	<u>2</u>	<u>10</u>
	20	100%

2.3 Diagnósticos clínicos:

Tipo de <u>tinea</u>	No.	%
- <u>Corporis</u>	18	90
- <u>Cruris</u>	<u>2</u>	<u>10</u>
	20 casos	100%

2.4 Tratamientos previos y deserciones

- Antimicóticos tópicos*	6 pacientes	30%
- Deserciones	2 "	10%

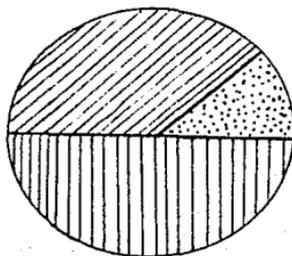
* Con un intervalo de uso anterior a dos semanas.

2.5 Agentes etiológicos aislados

	No.	%
- <u>T. rubrum</u>	8	40
- <u>T. mentagrophytes</u>	2	10
- <u>M. canis</u>	<u>10</u>	<u>50</u>
	20 casos	100%

A continuación se muestra la gráfica en porcentajes de los dermatofitos aislados:

Gráfica en porcentajes de los dermatofitos aislados.



50 %

M. canis

40 %

T. rubrum

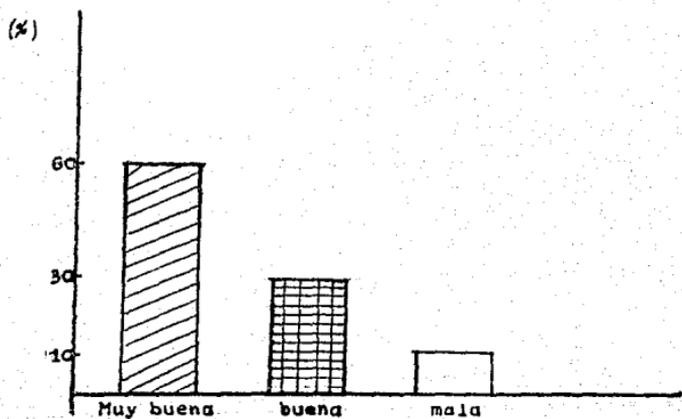
10 %

T. mentagrophytes

2.6 Evaluación clínica al final del tratamiento con alicina - -
crema al 1%.

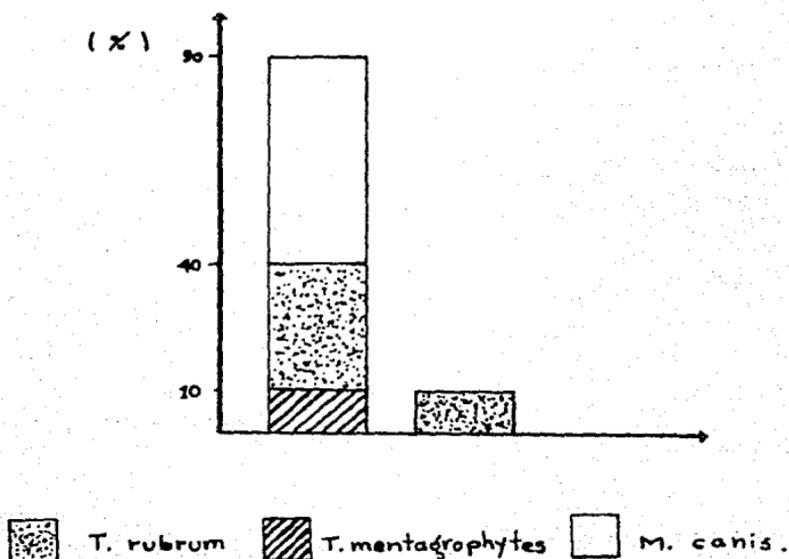
Valoración	No. de pacientes	%
- Muy buena	12	60
- Buena	6	30
- Mala	<u>2</u>	<u>10</u>
	20	100%

PORCENTAJE DE LA VALORACION CLINICA AL FINAL DEL TRATAMIENTO



2.7 Correlación Agente etiológico aislado - tipo de tinea

Agente etiológico	Tipo de tinea	No. de casos	%
- <u>M. canis</u>	corporis	10	50
- <u>T. rubrum</u>	corporis	6	30
	cruris	2	10
- <u>T. mentagrophytes</u>	corporis	<u>2</u>	<u>10</u>
		20	100%



CONCLUSIONES

- Se demostró que la alicina presentó actividad antidermatofítica "in vitro" para las siguientes cepas:

- | | |
|-----------------------|----------------------------|
| - <u>T. rubrum</u> | - <u>M. canis</u> |
| - <u>T. tonsurans</u> | - <u>M. gypseum</u> |
| - <u>E. floccosum</u> | - <u>T. mentagrophytes</u> |

- Se encontró una concentración mínima inhibitoria contra las cepas anteriores, siendo aproximadamente de 5 mg/ml para todos, excepto para T. mentagrophytes que fue de 50 mg/ml; por lo tanto, esta última dosis se puede emplear contra los dermatofitos más frecuentes en nuestro medio.

- Se comprobó la actividad "in vivo" del principio activo del ajo, empleado como tratamiento tópico en dermatofitosis del cuerpo e inguinal, en un 90% de los casos.

- El principio activo del ajo, generó dermatitis por contacto, en un 10% a una concentración de 1%.

COMENTARIOS

Durante la realización de este trabajo, se originaron algunos problemas, que nos permitieron evaluar tanto las técnicas empleadas como los resultados obtenidos.

Por lo que corresponde a las técnicas, observamos que la prueba de penicilindros, no resultó de gran utilidad, ya que presentó un -- problema en la difusión del extracto a través del medio; esto, probablemente se deba a la consistencia del propio extracto. Así pues, -- el crecimiento del dermatofito era más rápido que la misma difusión; por lo tanto, no se consideró de importancia la inhibición del dermatofito.

La prueba de sensibilidad en placa fue la que nos dió una primera idea de inhibición, de tal manera que pensamos, es una prueba puramente cualitativa, pero muy útil para nuestros propósitos.

Por estas razones, pudimos observar que la prueba de sensibilidad en caldo, nos dió mejores resultados; pues al mismo tiempo que -- representó inhibición cualitativa, nos permitió establecer una concentración mínima inhibitoria para los dermatofitos en estudio.

De nuestras cepas, elegimos una como patrón que fue T. mentagrophytes pues se adaptó rápidamente a nuestras condiciones de laboratorio. Posteriormente se probaron todas las demás mencionadas, e inclusive las obtenidas de los pacientes en estudio. De todas ellas, T. mentagrophytes fue el dermatofito menos sensible al principio activo.

Aunque tenemos una idea de que existen alteraciones microscópicas en la membrana y/o organelos de los dermatofitos, sería de importancia utilizar la microscopía electrónica para saber que cambios es tan ocurriendo a estos niveles; de tal forma que podríamos estable--

cer la actividad antimicótica como fungistática y/o fungicida.

Ciertamente en el estudio "in vivo" tuvimos actividad antimicótica en la mayoría de los casos, pero también existieron las dermatitis por contacto al principio activo, aún a concentraciones tan bajas como el 1%. Así pues, podemos decir que no hay que abusar de la utilización del ajo como tal, porque además de la dermatitis por contacto, genera fotosensibilidad.

El interés de este trabajo radica en que aprovecha los recursos de la herbolaria, a veces tan criticada, pero de la que no se puede negar la efectividad de algunos principios obtenidos de esta fuente; esperamos que con este trabajo sea la pauta o inicio de nuevos experimentos que arrojen más información al respecto.

BIBLIOGRAFIA

1. Gaius Plinius Secundus, 23 6 79 A.D. Tomado de: Ref. (3)
2. Publius Vergilius Maro. 70 6 19 B.C. Tomado de: Ref. (3)
3. Stoll, A. and Seebeck, E. 1951: Chemical investigations on allin, the specific principle of garlic. *Advances in Enzimology*. 11: - - 377-400.
4. Amer, M. Taha, M. and Tosson, Z. 1980: The effect of an aqueous - garlic extract on the growth of dermatophytes. *Int. J. Dermat.* -- 19: 285-287.
5. Wills, E.D. 1956: Enzyme inhibition by allicin. *Biochem. J.* 63: 514-520.
6. Moore, G.S. and Atkins, R.D. 1977: The fungicidal and fungistatic effects of an aqueous garlic extract on medically important yeast like fungi. *Mycologia*. 69: 341-348.
7. Roger, F.G. and Bryan, H.A. 1980: The genus Allium. Part 3. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 23: 1-35.
8. Semmler F.W. 1892: *Arch. Pharm.* 230, 434. Tomado: Ref. (3).
9. Rundqvist C. 1909. *Pharmaceutiskt Notisblad*: 18, 323. Tomado de: Ref. (3).
10. Cavallito, C.J. and Bailey, J.H. 1944: Allicin, the antibacterial principle of Allium sativum. I. Isolation, physical properties -- and antibacterial action. *J. Am. Chem. Soc.* 66: 1950-1951.
11. Cavallito C.J.; Buck, J. and Suter, C. 1944: Allicin the antibacterial principle of Allium sativum. II. Determination of the che-

- mical structure. J. Am. Chem. Soc. 66: 1952-1954.
12. Barone, F. and Tansey, M. 1977: Isolation, purification, synthesis - and kinetics of activity of the anticandidal component of Allium sativum, and a hypothesis for its mode of action. Mycologia. 69: 793-825.
 13. Cavallito, C.J.; Bailey, J.H. and Buck, J.S. 1945: The antibacterial principle of Allium sativum. III. Its precursor and --- "Essential oil of garlic". J. Am. Chem. soc. 67: 1032-1033.
 14. Windholz, M. and Budavari, S. The Merck Index. Tenth edition. -- Ed. Merck & Co, Inc. 1983. p. 40.
 15. Heber, W. Youngken. Tratado de farmacognosia. Ed. Atlante, MEXico. 1951. p. 227.
 16. Tansey, M.R. and Appleton, J.A. 1975: Inhibition of fungal - - growth by garlic extract. Mycologia. 67: 409-413.
 17. Tynecka, A. and Gos, Z. 1973: The inhibitory action of garlic -- (Allium sativum) on growth and respiration of some microorga -- nisms. Acta Pathology Microbiol. Polon. Ser. B. 5(22): 51-62.
 18. Raghunandana, R.R.; Srinivasa, R.S. and Venkatarman, P.R. 1946: Investigations on plant antibiotics. I. Studies on allicin, the antibacterial principle of Allium sativum (garlic). J. Sci. Ind. Research India. 1B: 31-35.
 19. Fromtling, R.A. and Bulmer, G.S. 1978: In vitro effect of --- aqueous extract of garlic (Allium sativum) on the growth and -- viability of Cryptococcus neoformans. Mycologia. 79: 397-405.
 20. Fliermans, C.B. 1973: Inhibition of Histoplasma capsulatum by -- garlic. Mycopathol. Mycol. Appl. 50: 227-231.
 21. Subrahmanyam, V.; Sreenivasamurthy, V.; Krishnamurthy, K. and - Swaminathan, M. 1957: Effect of garlic in the diet on the intes-

- tinal microflora of rats. J. Sci. Ind. Research India. 160: 173.
22. Subrahmanyam, V.; Krishnamurthy, K.; Sreenivasamurthy, V. and -- Swaminathan, M. 1957: Studies on the antibacterial activity of -- spices. J. Sci. Ind. Research India. 16C: 240.
 23. De With, J.C.; Nortermans, S.; Gorin, N. and Kampelmacher, E.H. 1979: Effect of garlic oil or onion oil on toxin production by -- Clostridium botulinum in meat slurry. J. Food Protect. 42: 222.
 24. Elnima, E.I.; Ahmed, S.A.; Mekkawi, A.G. and Mossa, J.S. 1983: -- The antimicrobial activity of garlic and onion extracts. Pharmazie. 38: 747.
 25. Nagai, K. 1973: Experimental studies on preventive effect of -- garlic extract against infections with influenza and Japanese -- encephalitis viruses in mice. J. Jpn. Assoc. Infect. Dis. 47:111.
 26. Samson, R.R. 1982: Effects on dietary garlic and temporal drift on platelet aggregation. Atherosclerosis. 44: 119.
 27. Chutani, S.K. and Bordia, A.K. 1981: The effect of fried vs. raw garlic on fibrinolytic activity in man. Atherosclerosis. 38: 417.
 28. Bordia, A.L.; Sanadhya, Y.K. and Bhu, N. 1977: Effect of essential oil of garlic on serum fibrinolytic activity in patients -- with coronary artery disease. Atherosclerosis. 28: 155.
 29. Fletcher, R.D.; Parker, B. and Hasset, M. 1974: Inhibition of -- coagulase activity and growth of Staphylococcus aureus by garlic extracts. Folia Microbiol. 19: 494.
 30. Bordia, A.K.; Bansal, H.C.; Arora, S.K.; Rathore, A.S.; Ranawat, R.V. and Singh, S.V. 1974: Effect of the essential oil (active -- principle) of garlic on serum cholesterol, plasma fibrinogen -- whole blood coagulation time and fibrinolytic activity in alimentary lipaemia, J. Assoc. Phys. Ind. 22: 267.

31. Augusti, K.T. 1977: Hypercholesteraemic effect of garlic - - - (Allium sativum). Ind. J. Exp. Biol. 15:489.
32. Bushan, S.; Verma, S.; Bhatnagar, V.M. and Singh, J. V. 1976: A study of the hipocholesterolaemic effect of onion (Allim cepa) - on normal human beings. Ind. J. Physiol. Pharmacol. 20: 107.
33. Bushan, S.; Sharma, S.P.; Singh, S.P.; Agrawal, S.; Indrayan, A. and Seth, P. 1979: Effect of garlic on normal blood cholesterol levels. Ind. J. Physiol. Pharmacol. 23: 211.
34. Sucur, M. 1980: Effect of garlic on serum lipids and lipopro- -- teins in patients suffering from hyperlipoproteinemia. Diabetol. Croatica. 9: 323.
35. Brahmachari, H.D. and Augusti, K.T. 1962: Orally effective hypoglycaemic agents from plants. J. Pharm. Pharmacol. 14: 254.
36. Mathew, P.T. and Augusti, K.T. 1973: Studies on the effect of -- allicin (diallyl disulphide) on alloxan diabetes. I. Hypoglycaemic action and enhancement of serum insulin effect and glycogen synthesis. J. Ind. Biochem. Biophys. 10: 209.
37. Romanyuk, N.M. 1952: The influence of the antibiotics of garlic on the activity of proteolytic enzymes of malignant tumors of - human and experimental animals. Ukrain. Biokhim. Zhur. 24: 53.
38. Von Euler, H. and Lindeman, G. 1949: Zur Biochemie der tumorentwick lung under tumor hemmung. Ark. Kemi. 1: 87.
39. Weisberger, A.S. and Pensky, J. 1957: Tumour inhibiting effects derived from an active principle of garlic (Allium sativum). - - Science. 126: 1112.
40. Weisberger, A.S. and Pensky, J. 1958: Tumour inhibition by a - - sulphhydryl-blocking agent related to an active principle of garlic (Allium sativum). Cancer Res. 18: 1301.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

41. Horwitz, N. 1981: Garlic as a plat du jour. Chinese study finds it could prevent G.I. Cancer Med. Tri. August 12.
42. Kada, T.; Sadaie, Y. and Hara, M. 1978: Analysis of mutagen-anti mutagen reactions in food and food aditives by the rec assay and reversion-assay procedures. Mut. Res. 53: 206.
43. Takemura, N. and Shimizu, H. 1978: Mutations products off pyrolysis products of allin and vitamin B. Mut. Res. 54: 255.
44. Abraham, S.L. and Kesaven, P.C. Trabajo no publicado referido en (45).
45. Abraham, S.L. and Kesaven, P.C. 1984. Genotoxicity of garlic, -- turmeric and asafoetida in mice. Mut. Res. 136: 85.
46. Singh, A.K. and Singh, N. 1977: Pharmacotherapeutic investigation on some medicinal plants. Ann. Natl. Acad. Med. Sci. (Ind.) 13: 177.
47. Bastidas, G.J. 1969: Effect of ingested garlic on Necator americanus and Ancylostoma caninum. Am. J. Trop. Med. Hygiene. 18: 920.
48. Deb-Kirtaniya, S.; Ghosh, M.R.; Adityachaudhuri, N. and Chatterjee, A. 1980: Extracts of garlic as possible source of insecticides. Ind. J. Agr. Sci. 50:507.
49. Amonkar, S.V. and Reeves, E.L. 1970: Mosquito control with active principle of garlic, Allium sativum. J. Econ. Entomol. 63: -- 1172.
50. George, K.C.; Amonkar, S.V. and Eapen, J. 1973: Effect of garlic oil on incorporation of aminoacids into proteins of Culex bipi-- ens quinquefasciatus. Say. Larvae. Chem. Biol. Interactions. 6: 169.

51. Bhatnagar - Thomas, P.L. and Pal, A.K. 1974: Studies on the insecticidal activity of garlic oil. II. Mode of action of the oil as a pesticide in Musca domestica nebulosa and Trogoderma granarium. J. Food. Sci. Tech. 11: 110.
52. George, K.C. and Eapen, J. 1974: Mode of action of garlic oil, - effect on oxidative phosphorylation in hepatic mitochondria of mice. Biochem. Pharmacol. 23: 931.
53. Upadhyay, M.P.; Manandhar, K.L. and Shrestha, R.B. 1977: Antifungal activity of garlic against fungi isolated from human eyes. - J. Gen. Appl. Microbiol. 69: 341.
54. Smalley, E.B. and Hansen, H.N. 1962: Penicillium decay of garlic. Phytopathology. 52: 666.
55. Mabrouk, S.S. and El-Shayeb, N.M. 1981: The effects of garlic on mycelial growth and aflatoxin formation by Aspergillus flavus. - Chem. Mikrobiol. Tech. Lebvensm. 7: 37.
56. Caporaso, N.; Smith, S.M. and Eng, R.H. 1983: Antifungal activity in human urine and serum after ingestion of garlic (Allium sativum). Antimicrob. Agents Chemoter. 23: 700.
57. Yamada, Y. and Azuma, K. 1977: Evaluation of the "in vitro" antifungal activity of allicin. Antimicrob. Agentes Chemoter. 11: 743.
58. Henson, G.E. 1940: Garlic, an occupational factor in the etiology of bronchial asthma. J. Fla. Med. Assoc. 27: 86.
59. Wills, E.D. 1956 Enzyme inhibition by allicin, the active principle of garlic. Biochem. J. 63: 514.
60. Falleroni, A.E.; Zeiss, C.R. and Levitz, D. 1981: Occupational asthma secondary to inhalation of garlic dust. J. Allergy Clin. Immunol. 68: 156.

61. Lybarger, J.A.; Gallagher, J.S.; Pulver, D.W.; Litwin, A.; - - Brooks, S. and Bernstein, I.L. 1982: Occupational asthma induced by inhalation and ingestion of garlic. *J. Allergy Clin. Immunol.* 69: 448.
62. Burgess, J.F. 1952: Occupational dermatitis due to onion and -- garlic. *Can Med. Assoc. J.* 66: 275.
63. Bleumink, E.; Doeglas, H.M.; Klokke, A.H. and Nater, J. P. 1972: Allergenic contact dermatitis to garlic. *Br. J. Dermat.* 87: 6.
64. Ban Ketel, W.C. and de Haan, P. 1978: Occupational aczema from garlic and onion. *Contact. Dermat.* 4: 53.
65. Mitchell, J.C. 1980: Contact sensivity to garlic (Allium) Con- tact. *Dermat.* 6: 356.
66. Sinha, S.M.; Pasricha, J.S.; Sharma, R.C. and Kandhari, K.C. - - 1977: Vegetables responsible for contact dermatitis of the hands. *Arch. Dermat.* 113: 776.
67. Pasricha, J.S. and Guru, B. 1979: Preparation of an appropriate - antigen extract for patch test with garlic. *Arch. Dermat.* 115: - 230.
68. Bleumink, E. and Nater, J.P. 1973: Contact dermatitis to garlic, cross-reactivity between garlic, onion and tulip. *Arch. Derm. -- Forsch.* 247: 117.
69. Damrau, F. and Ferguson, E.A. 1969: The therapeutic value of - - garlic in functional gastrointestinal disorders. *Rev. Gastroente* rol. 16: 411.