



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

INDUCCION DE Trichophyton mentagrophytes EN ANIMALES
DE EXPERIMENTACION (RATONES) Y SU CURACION
CON EL EXTRACTO CONCENTRADO DEL AJO.

TESIS

PROFESIONAL

que para obtener el titulo de
QUIMICO FARMACOBIOLOGO

p r e s e n t a :

MA. DEL CARMEN GONZALEZ CASTILLO

SAN LUIS POTOSI, S.L.P.

1992

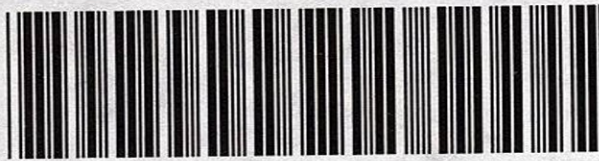


T

QR 245

G6

c. 1



1080075342



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**INDUCCION DE Trichophyton mentagrophytes EN ANIMALES
DE EXPERIMENTACION (RATONES) Y SU CURACION
CON EL EXTRACTO CONCENTRADO DEL AJO.**

TESIS PROFESIONAL

que para obtener el titulo de
QUIMICO FARMACOBIOLOGO

p r e s e n t a :

MA. DEL CARMEN GONZALEZ CASTILLO

SAN LUIS POTOSI, S.L.P.

1992



T
GR245
E6



DEDICATORIA

A MI PADRE:

Ing. José Roberto González Espinoza

Por tus constantes muestras de cariño, tu sonrisa y ayuda moral que sirvieron de apoyo para conocer los retos que tiene la vida. Por tus indicaciones y consejos, los cuales cumplí con la fuerza de tu ejemplo.

A MI MADRE:

Ma. del Carmen Castillo de González.

Por esa confianza y seguridad que siempre me has dado.
Por todos esos momentos alegres, de angustias y sinsabores, que pasaste junto a mí.

A MIS HERMANOS:

Liliana y Roberto González Castillo.

Por su comprensión y por el cariño que nos une.

A MIS FAMILIARES:

Por su apoyo y ayuda incondicional en todo momento.

A MIS MAESTROS:

Que procuraron hacer interesante sus enseñanzas, despertaron el deseo de trabajar y convirtieron toda su labor en placer

A MIS AMIGOS:

Que con su amistad, desinterés, paciencia y optimismo, contribuyeron a la culminación de un objetivo muy grande en mi vida.

A JAIME:

Por tu gran disponibilidad, por compartir mis inquietudes, alegrías, entusiasmos, triunfos y fracasos.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Químicas de la U.A.S.L.P

Al personal del Laboratorio de Análisis Clínicos con Servicio al Público de la Facultad de Ciencias Químicas de la U.A.S.L.P mi más sincero agradecimiento y su ayuda brindada en la realización de este trabajo.

Al Centro de Investigación y Estudios de Posgrado del Area de Ciencias Biológicas.

Un agradecimiento especial:

Q.F.B. Alejandro Salazar Navarro.

Q.F.B. Alicia Zavalza

M.C. Silvia Romano.

Por su colaboración e importantes sugerencias.

M.C. Ismael Acosta Rodríguez.

Por su asesoramiento en la elaboración de este trabajo, así como su amistad brindada.

Al Centro de Computo de CIBERMEX del Centro por su gran colaboración.

INDICE GENERAL

	Página
I.-Resumen	1
II.-Introducción General	2
III.-Generalidades	3
Características de los dermatofitos más comunes	4
Generalidades sobre <i>T. mentagrophytes</i> ..	5
Estados teleomorfos	5
Anverso de la colonia	6
Reverso de la colonia	6
Morfología microscópica	7
IV.-Ajo(<i>Allium sativum</i>)	8
Historia	8
Origen	8
Sustancias activas	9
Contenido	9
Bioquímica	9
Propiedades terapéuticas	11
Antecedentes	12
Objetivos (Particulares y Generales)	14
V.-Material y métodos	15
Material biológico	15
Cristalería	15
Varios	15
Reactivos	15
Antimicóticos utilizados para valorar la irritabilidad en piel de ratones sanos	16
Diente de ajo	16
Extracto concentrado de ajo fresco	16
Extracto concentrado de ajo inactivo	16

Preparación de Medios de cultivo	17
Agar Sabouraud Dextrosa	17
Borelli	17
Solución salina estéril	18
Suspensiones micóticas	18
Preparación de extracto de ajo	18
VI.-Técnica de inoculación de <i>T. mentagrophytes</i> a los ratones de experimentación.	27
VII.-Resultados	28
VIII.-Discusión	29
IX.-Conclusiones	32
X.-Glosario Micológico	33
XI.-Bibliografía	35

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla No.1.- Tratamiento y curación de los ratones infectados.	30
Tabla No.2.- Grado de irritabilidad por cruces en ratones utilizados para este estudio.	31

INDICE DE FOTOGRAFIAS

	Página
Foto No. 1.-Dermatofitosis Experimental inducida con <u><i>T. mentagrophytes.</i></u>	19
Foto No.2.- Ratón tratado y curado tópicamente con extracto fresco de ajo.	20
Foto No.3.- Ratón con Dermatoftosis no tratado con extracto fresco de ajo (4 semanas).	21
Foto No. 4.- Ratón tratado con extracto de ajo inactivo	22
Foto No.5.- Irritabilidad de ratón inducida con violeta de genciana.	23
Foto No.6.- Irritabilidad en ratón inducida con Tintura de yodo.	24
Foto No.7.- Irritabilidad en ratón inducida con extracto de ajo concentrado.	25
Foto No.8.- Irritabilidad en ratón inducida con diente de ajo fresco.	26

RESUMEN

Las micosis son enfermedades producidas por diferentes especies de hongos, y su frecuencia tiende a aumentar debido en parte al uso de antibióticos inmunodepresores, enfermedades inmunodepresoras y a que los tratamientos son largos y muy costosos (principalmente de las micosis superficiales), por lo que se ha sugerido el uso e investigación de nuevos agentes antimicóticos, baratos, de fácil acceso y que no provoquen reacciones secundarias, entre las cuales se encuentra el ajo (Allium sativum), el cual se ha reportado que tiene propiedades antimicóticas, por lo que el objetivo de este trabajo fué inducir dermatofitosis en animales de laboratorio (ratones hembras) con *T. mentagrophytes*, y posterior tratamiento y curación con extracto concentrado fresco de ajo.

Se inocularon previo raspado de diferentes zonas, 15 ratones hembras, diariamente durante un mes, induciendo la infección, la cual se comprobó por análisis directo y en cultivo de escamas de las lesiones, en comparación con una cepa control. Cabe mencionar que sólo 10 ratones presentaron la infección y que se inocularon esporas y micelios del hongo previa suspensión en solución salina estéril, a partir de cultivos frescos en ASD.

Posteriormente, se trataron tópicamente con extracto concentrado de ajo fresco, cada tercer día en las zonas afectadas, comprobando su curación total de los ratones entre tres y cuatro semanas de tratamiento, aunque las zonas presentan una irritabilidad moderada, aunque menor a la presentada por el ajo nativo (diente de ajo).

Los resultados obtenidos comprueban los datos de la literatura del efecto inhibitorio del ajo, así como los de nuestro grupo de Investigación tanto “in vivo” como “in vitro”.

INTRODUCCION GENERAL

Las infecciones cutáneas incluyen una amplia variedad de enfermedades que afectan el tegumento y sus apéndices: el pelo y uñas . En general la infección está limitada a las capas córneas , muertas , pero se presentan diversos cambios patológicos en el huésped , debido a la presencia del agente infeccioso y sus productos metabólicos . La mayor parte de estas infecciones son causadas por un grupo homogéneo de hongos queratinófilos denominados dermatofitos.

Una sola especie puede participar en varios tipos de enfermedades, cada uno con su patología característica . Estos hongos están entre los agentes infecciosos más comunes en el hombre y no existe ningún pueblo o área geográfica sin tiña .

Al grupo de enfermedades que causan se conoce en forma colectiva como dermatofitosis; esta es una entidad clínica causada por miembros del género anamórfico **Trichophyton** , **Microsporum** y **Epidermophyton** (Rippon.1987).

En sentido estricto las dermatofitosis son la formación de colonias de hongos dermatofitos en los tejidos queratinizados: uñas , pelo y estrato córneo.

La intensidad de la enfermedad depende de la cepa o de las especies de dermatofito y de la sensibilidad del huésped al hongo en particular , así como la idiosincrasia de cada huésped.

La dermatofitosis incluye varias entidades clínicas diferentes , según el sitio anatómico y el agente etiológico que se trate.

Al comienzo, la patología producida en el huésped es una respuesta ecematoide, seguida de manifestaciones alérgicas e inflamatorias.

El tipo y gravedad de estas lesiones están en relación con el estado inmune del huésped , así como con la cepa y las especies del microorganismo causante de la infección (Rippon.1990;Torrez Rodríguez,1987).

GENERALIDADES

Los dermatofitos corresponden a un grupo de hongos miceliares integrados dentro de los géneros: *Trichopyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton* que se caracterizan por:

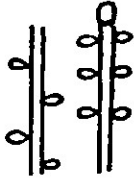

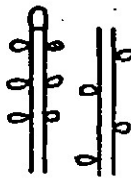

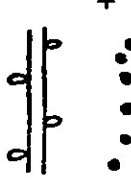





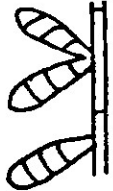
1.º Su queratinofilia, es decir , su apetencia por desarrollarse sobre la queratina , escleroproteína insoluble, presente en la piel y anexos.

2º Su actividad queratinofílica, capacidad de producir enzimas que permiten su asimilación de la queratina como nutriente del hongo.

3º La producción de macroconidios, que aunque variados en su estructura y frecuencia confieren características morfológicas similares a las diferentes especies.

4º La posibilidad de tener contacto, sea por transmisión directa de persona a persona o entre animales homeotermos y entre estos últimos y el hombre (Rippon.1987).

CARACTERÍSTICAS DE LOS DERMATOFITOS MAS COMUNES

Dermatofito	Microconidias	Macroconidias	Modalidades	Macromorfología
<i>Trichophyton rubrum</i>	 + ++ +	 +	Micelio delgado	- Colonia blancavellosa o pulverulenta. - Pigmento rojo
<i>Trichophyton tonsurans</i>	 ++ + +	 +	Clamidosporas	- Colonia beige cerebriforme o crateriforme - Pigmento café
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	 + +++	 ++	Zarcillos Espirales	- Colonia blancavellosa o pulverulenta - Sin pigmento
<i>Microsporium canis</i>	 +	Más de 6 septos 	Kaquetas	- Colonia vellosa plano y radial - Pigmento amarillo-naranja
<i>Microsporium gypseum</i>	 +	Menos de 6 septos 	Escaso micelio	- Colonia beige polvosa - Sin pigmento
<i>Epidermophyton floccosum</i>	No presenta		Clamidosporas	- Colonia beige cerebriforme - Pigmento amarillo-verdoso

GENERALIDADES SOBRE T.mentagrophytes

SINONIMIA: *Microsporum mentagrophytes* , *Achorion quinckeanum* , *Trichophyton felinum* , *T. gypseum* , *T. granulosum* , *T radiolatum* , *T. laticolor* , *T.denticulatum* , *T. farinulentum*, *T. asteroides*, *T. interdigitale*, *T."C"*, *T. Kaufman-Wolf Ota. Trichophyton pedis* (Rippon.1990).

ESTADOS TELEOMORFOS:

Arthroderma benhamiae, *A.vanbreuseghmeii*. *Trichophyton mentagrophytes* es el dermatofito más común en el hombre y los animales.

Su morfología es tan variable que se cuenta con una larga lista de binomios, formados a partir del color de la colonia, morfología, combinación y asociación con el huésped.

Las características son tan variables y se observan tantos intermediarios que en la práctica estos nombres no tienen ninguna utilidad.

Casi todas estas variantes se aparean con las cepas de prueba de *A. benhamiae* y *A. vanbruesghemei* , por lo cual solo se reconoce una especie anamorfa (Rippon.1990).

T. mentagrophytes es universal y se ha encontrado en formas antropófilas y zoófilas.

Si se obtiene del suelo está en relación con la caspa del animal, como la que se encuentra en las madrigueras de los roedores. No se le considera geófilo.

En general es ectotrix, conidiado, pequeño, no presentan fluorescencia en pelo infectado.

Algunas cepas pueden producir invasión endotrix y presentan fluorescencia oscura (*quinckeanum*).

Todas las cepas producen órganos perforantes del pelo.

Los cobayos se infectan con facilidad por medio de cepas granulares, pero en menor grado por el tipo de vellos (*interdigitale*).

La variedad *quinckeanum* está relacionada con el favus del ratón, la mayor

parte de las cepas se aparean con las cepas de prueba A (+) ó A (-) de A. benhamiae, se demostró que 19 aislados se aparean con A.simii 678A, pero no con otros probadores de A. simii . (Torrez-Rodríguez,1987).

La variedad erincei se aparea con A. benhamiae pero no con A, vanbreuseghemii (Rippon.1990).

La variedad interdigitale es un hongo antropófilo, aislado de tinea pedis ligera u oculta, la cual se debe considerar como una especie distinta, ya que ninguno de los 6 aislados se aparean con A. benhamiae, A. vanbreuseghemii, o A. simii.

Anverso de la Colonia.

La variedad interdigitale, forma antropófila, crece como un talo plano, veloso con bordes blancos, y un área central color crema.

Otras cepas son completamente blancas y velosas. En agar patata-glucosa, se observa una colonia estrellada con micelio esparcido y numerosos conidios. Los aislados zoófilos producen una colonia plana de crecimiento rápido, granular, de color crema, amarillento, de ante a canela o pardo-rojizo.

Por lo general el micelio está esparcido y el aspecto pulverulento se debe a los microconidios. A menudo los bordes son parecidos a los rayos del sol (Rippon.1990).

Reverso de la Colonia

La pigmentación es variable, incolora, pardo-amarillenta, pardo-rojiza, parda o rojo- vinosa, oscura, por lo que se parece a T. rubrum.

Con el fin de diferenciar las colonias pigmentadas de T. rubrum, hay que tener en cuenta que la última suele producir pigmento rojo en patata-glucosa y harina de maíz al 1% en agar-glucosa, mientras que T. mentagrophytes no lo produce .

Casi todas las cepas de T. mentagrophytes son ureasa positiva, con excepción de la variedad erincei, la cual es negativa. T. rubrum es ureasa negativa (Rippon.1990).

Morfología Microscópica.

Con toda probabilidad, la característica más consistente de *T. mentagrophytes*, es la producción de microconidios globosos en racimos, parecidos a uvas. (Rippon, 1990, Bonifaz, 1990). Son más abundantes entre las cepas granulares zoófilas (var. *mentagrophytes*), que en las cepas vellosas (var. *interdigitale*). En este último caso, la forma de los conidios es en masa y se parecen al *T. rubrum*.

Los macroconidios son de paredes delgadas, lisas y de forma variable.

Sus tamaños varían de 4-8 μm por 20-25 μm y tienen 3-5 ó más células.

En general su forma es de cigarro con base de unión estrecha y aquí, en contraste con el *T. rubrum*, el extremo de la célula de estos conidios puede tener un filamento terminal o un apéndice en forma de cola de rata.

La vista microscópica de *T. mentagrophytes* ofrece en forma típica microconidios en masa, algunos macroconidios y varias células hifales en espiral, todas ellas en racimos sobre las hifas vegetativas.

También se observan estructuras parecidas a las hifas peridiales, hifas con aspecto de asta de venado, artroconidios; los cuerpos nodulares son numerosos y presenta pocos macroconidios, esta variedad no se desarrolla a pH=4, produce lesiones inflamatorias, que rara vez se manifiestan en seres humanos, pero es muy común en los erizos.

Los órganos perforantes del pelo y la falta de pigmento en medio de glucosa harina de maíz y en agar-patata-glucosa, separan a *T. mentagrophytes* de *T. rubrum* (Rippon. 1990).

Los estados teleomorfos son: *Arthroderma benhamiae* *Arthroderma vanbreushemeii*.

También pueden existir otros estados teleomorfos, como algunas cepas de infecciones humanas ocultas y aislados de pelos de roedores que no se aparean con ninguna serie de cepas de prueba. (Rippon. 1990)

AJO (Allium sativum)

HISTORIA

Podemos leer en las escrituras sagradas que Booz distribuía ajos entre sus segadores, tanto para fortificarlos, como para protegerlos de las epidemias.

Siglos más tarde durante la epidemia de cólera que azotó al puerto francés de Marsella en 1772, ganó mucha popularidad un vinagre de ajo con el que se dice que los enfermos se aliviaban milagrosamente.

El ajo es una planta perenne de la familia de las liliáceas, que crece en bulbos, cada uno de los cuales llega a tener más de 20 dientes. Existen tres variedades principales de este vegetal : blanco, morado y rojo.

Aunque el de las dos primeras variedades (blanco y morado) es comestible, su fuerte olor y sabor no permiten su consumo abundante, impidiendo así que nos beneficiemos de sus nutrientes.

Por otra parte, el entomólogo hindú Shankar Amonkar, estudiando las propiedades que desde hace milenios le son atribuidas al ajo , descubrió que el aceite de este vegetal es rico en su principio activo llamado alicina, fulmina, con mayor prontitud que la mayoría de los insecticidas a cinco temibles enemigos de la humanidad: Las larvas de los mosquitos vectores de la encefalitis, la elefantiasis, la fiebre amarilla, el dengue y la malaria (Erwin Moller, 1990).

ORIGEN:

Aunque el ajo es originario de Asia Central, su uso, tanto medicinal , como culinario, pronto se extendió a Europa y Medio Oriente, pasando desde allí hasta el resto del mundo. Pero en donde este oloroso bulbo encontró mayor aplicación fué en Grecia, España, Francia e Italia.

Según Thompson (1957), el ajo es originario del Sur de Europa; Eredia (1971), lo cita como un cultivo originario de Asia Central, extendido por toda la región del Mediterráneo en tiempos prehistóricos (Erwin Moller, 1990; Ledezma Fernández, 1991).

SUSTANCIAS ACTIVAS

A) Alicina, con propiedades antibióticas.

B) Hormonas, que actúan de modo similar a las hormonas sexuales masculinas y femeninas.

C) Colina, Acido sulfanílico, yodo y vestigios de uranio.

La esencia del ajo, es el aceite que se extrae de los bulbos del ajo común. se ha descrito que está constituido por sulfuro de alilo $(C_3H_5)_2S$, pero, según Semmler, no contiene sulfuro de alilo, ni terpenos, sino una mezcla de dos disulfuros y de polisulfuros ($C_6H_{10}S_3$ y $C_6H_{10}S_4$). (Ledezma Fernández. 1991, E. Moller, 1990).

CONTENIDO

El ajo contiene cierta cantidad de proteínas y calcio, es rico en potasio y fósforo, contiene vitaminas A,B y C, así como selenio y azufre.

Componentes	%
Agua	58
Materias amiláceas, azucaradas, mucilaginosas	33.68
Cenizas	1.43
Celulosa	1.22
Materia grasa	0.15

BIOQUIMICA:

Las investigaciones conducentes a elucidar las bases científicas del uso medicinal del ajo, revelan que los extractos del ajo poseen actividad “in vitro” contra el crecimiento de un gran número de hongos, incluyendo levaduras, a la vez que confieren la protección “in vivo” a las infecciones micóticas experimentales .

Kabelik demostró que los extractos de ajo eran más efectivos que la nistatina, el violeta de genciana y el azul de metileno contra levaduras patógenas,

mientras que Prasad y Sharma mostraron que un suplemento (5%) de ajo en el alimento de los pollos infectados con *Candida albicans* conducía a la curación.

Por otro lado el tratamiento de Criptococosis experimental en ratones con extracto de ajo ha conducido a resultados inconsistentes, en cuanto que se observó una reducción de un 25% en la población de criptococosis en el cerebro, aunque no fué posible erradicar la infección que volvió a sus niveles iniciales una vez suspendido el tratamiento.

El componente activo del ajo parece ser la alicina.

Su mecanismo de acción no ha sido precisado todavía, aunque Barone y Tansey propusieron que el ajo actúa inactivando a los tioles esenciales, mientras que Adetumbi y cols. han postulado una inhibición de la síntesis de lípidos en *Candida albicans*. (Ghanoum.1988).usando extractos acuosos del ajo (AGE), comprobó que su presencia causaba cambios en los niveles de los lípidos polares y no polares en varias cepas de *Candida albicans*.

En 1983, Aptiz y cols, aislaron un compuesto ulteriormente llamado ajoeno, caracterizado como E,Z-4,5,9-trihadodeca-1,6,11-trieno-9 óxido, producido por arreglo y S-tioacilación de la alicina. Se demostró que el ajoeno ejercía acción como inhibidor de la agregación plaquetaria, a través de una inhibición de la liberación de los cuerpos densos y gránulos, junto con una disminución de la microvellosidad de la capa más interna de la bicapa lipídica membranosa, sin afectar los estratos hidrófilos externos. Asimismo, Block y cols, han postulado que los grupos sulfhidrilo de la membrana plaquetaria participan en una reacción de intercambio de disulfuros con ajoeno y sus homólogos, alteración que previene la agregación.

El uso del ajoeno como antitrómbico no produce efectos colaterales adversos en animales de experimentación (San Blas G,1990).

Esta sustancia ha sido probada en su capacidad antifúngica en razón de las ya descritas propiedades antimicóticas del ajo.

(Yoshida y cols,1987) observaron una inhibición del crecimiento de las fases levaduriformes y miceliales de *P. brasiliensis* por ajoeno resulta más bien

de perturbaciones en la membrana citoplásmica que podrían conducir, en un segundo estadio, a malformaciones de la pared celular por deficiencia de las enzimas sintetizadoras de esta estructura, enzimas que se encuentran radicadas en las membranas. La posibilidad de que los daños a las membranas estén relacionadas con los grupos disulfuros o con la enzima disulfuro reductasa está siendo considerada en estos momentos (San-Blas y cols, resultados inéditos) en razón de que esta última enzima se encuentra en mayor proporción en la fase levaduriforme que es más afectada por la presencia del ajoeno.

La propia estructura química del ajoeno con su puente disulfuro inclina hacia esta hipótesis (San Blas G, 1991).

PROPIEDADES TERAPEUTICAS

El ajo y las demás liláceas suelen ser ricas en selenio, un mineral casi desconocido, pero muy importante para la salud, pues forma: Glutation-peroxidasa, una enzima que destruye los peróxidos antes de que ataquen las membranas celulares. Los peróxidos son sustancias que se forman cuando el oxígeno se incorpora en exceso a ciertas sustancias presentes en los tejidos y se estima que podrían tener mucho que ver con el envejecimiento prematuro y el cáncer. Cuando el organismo presenta carencia de selenio y vitamina E, queda prácticamente a merced de los peróxidos, que inician sus ataques a nivel de las membranas celulares, esto, cuando no se dispone de ni uno, ni de otro nutriente; pero cuando hay suficiente selenio, la glutacion-peroxidasa inhibe la reacción en la parte externa de la membrana, en tanto que la vitamina E hace otro tanto en el interior de la célula. De manera que si efectivamente los peróxidos favorecen la aparición de cáncer, entonces, el ajo, através de su riqueza en selenio puede ayudar a prevenirlo. Y las estadísticas parecen apoyar esta hipótesis ya que la mortalidad a causa del cáncer de estómago, esófago y recto es mucho mayor que en aquellas áreas en que el suelo es deficiente en este elemento. Un suelo pobre produce vegetales casi deprovistos de selenio. Además las diferencias de mortalidad por cáncer de pulmón, pancreas y próstata entre las áreas ricas y las

áreas pobres en este elemento también puede señalar un efecto protector contra el cáncer (Yogui, 1990).

ANTECEDENTES

Desde hace muchos años se ha tenido conocimiento de las infecciones por dermatofitos en animales salvajes y domésticos, algunos animales actúan como reservorios de la dermatofitosis. La enfermedad de la tiña en animales domésticos constituye una fuente constante de infección para las personas que están en contacto con ellos.

Estas infecciones por dermatofitos zoófilos son muy comunes en las áreas rurales. Los hongos de animales domésticos, como perros y gatos, pueden desencadenar una epidemia entre los niños. Los animales salvajes también sufren tiña y pueden ser una fuente indirecta de infecciones en el hombre debido a que los pelos infectados que se desprenden de estos animales, pueden contaminar las viviendas y las áreas de trabajo. También los ácaros transmiten dermatofitos en las poblaciones animales. Algunas veces la contaminación originada por roedores, que son portadores, llegan a ocasionar dermatofitosis graves en la población humana.

El *T. mentagrophytes* está implicado en las enfermedades del hombre, constituyendo una reacción inflamatoria más intensa que otras dermatofitosis.

Las infecciones en animales de experimentación, sobre todo en conejos y cobayos, se emplean en forma común, con el fin de estudiar la patogenicidad, la inmunidad, el tratamiento y la profilaxis de las infecciones por dermatofitos. La enfermedad se establece con más facilidad en las especies zoófilas ó geófilas. Esto se realiza de la siguiente manera:

Se depila el área que será infectada, el sitio preparado se escarifica y se inocula una suspensión de microconidios. Un dispositivo más útil es la pistola de punciones múltiples, la cual se sumerge dentro de los microconidios y se aplica en el área depilada. Algunas veces se utilizan vendajes oclusivos. En el término de una semana se desarrollan lesiones que en general son inflamatorias y a

menudo se pueden observar costras. La eliminación de estas lesiones tiene lugar en un término de 3-4 semanas, aunque rara vez puede establecerse una infección escamosa crónica que se dispersa, la cual puede durar meses o años. La infección afecta el estrato córneo de la piel y con frecuencia invade el pelo, con la producción de artroconidios (Rippon,1990).

En nuestro estado existen muy pocos reportes de infecciones por micosis superficiales (Alvarez Ojeda, 1989, Moctezuma y cols, 1991;Gómez, 1991), aunque son un problema muy grande y su frecuencia tiende a aumentar (Rippon,1990;Bonifaz,1990), por lo que nuestro grupo de investigación estamos interesado en el estudio de las propiedades antimicóticas de algunos productos naturales (Vázquez,1989;Clapera,1991; Ledezma,1991), entre ellos, el ajo, del cual se ha reportado que tiene una gran variedad de propiedades, entre ellas, la de ser un antimicótico muy efectivo (Cavallito, 1946; Vázquez, 1989; Clapera, 1991), aunque la mayoría de estos estudios han sido “in vitro”, al menos en nuestro país (Vázquez,1989;Clapera,1991), tiene gran interés saber, si se presentan las mismas propiedades “in vivo”.

OBJETIVOS

1° OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto antimicótico del ajo en animales de experimentación.

2° OBJETIVOS PARTICULARES

- A) Inducir dermatofitosis por *Trichophyton mentagrophytes* en animales de experimentación (Ratones) .
- B) Tratamiento de la infección con extracto concentrado de ajo fresco.
- C) Determinar la hipersensibilidad cutánea de los animales de experimentación acción al extracto concentrado de ajo fresco.
- D) Determinar la efectividad antimicótica del ajo “ in vivo”.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

- 1.- Cepa de *T. mentagrophytes*.
- 2.- Animales de experimentación: ratones hembras y machos.

MATERIAL

1° CRISTALERIA

Cajas de petri de vidrio

Tubos de ensayo de diferentes tamaños

Micropipetas de 100 microlitros.

Matraces Erlenmeyer de 250, 500 y 1000 ml.

Pipetas Pasteur

Portaobjetos y cubreobjetos

2° VARIOS

Mechero de Bunsen

Balanza

Espátula

Estufa

Gradilla metálica

Asa de platino

Microscopio

3° REACTIVOS

Solución salina al 0.85% estéril

Alcohol etílico industrial

Azul de lactofenol

**4° ANTIMICOTICOS UTILIZADOS PARA VALORAR LA
IRRITABILIDAD EN PIEL DE RATONES SANOS**

Tintura de yodo

Violeta de genciana

Callosol

5° DIENTE DE AJO.

6° EXTRACTO CONCENTRADO DE AJO FRESCO.

7° EXTRACTO CONCENTRADO DE AJO INACTIVO.

PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO Y EXTRACTO DE AJO.

1.- AGAR SABOURAUD DEXTROSA (ASD)

Fórmula para 1000 ml de agua destilada

Mezcla de peptonas.....	10gr
Dextrosa.....	40gr
Agar.....	15gr
pH final.....	5.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 65 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien hasta que se obtenga una suspensión uniforme y esterilizar a 1 atmósfera de presión durante 15 minutos. Enfriar a 45-50°C y vaciar en cajas de Petri y tubos de ensaye previamente esterilizados.

Usos

Emplear éste medio para el cultivo de las especies:

- a) Cándidas
- b) Dermatofito

2.-MEDIO DE BORELLI (LACRIMEL)

Fórmula para 1000 ml de agua destilada

Harina de trigo.....	14 gr
Leche en polvo.....	14 gr
Miel.....	7 gr
Agar.....	20 gr

Esterilizar en autoclave a 110°C durante 10 minutos

Usos

Primoaislamiento, conservación y producción de pigmentos de Dermatofitos.

SOLUCION SALINA ESTERIL AL 0.85%

Se disuelven 0.85 gr de Cloruro de sodio, en agua destilada. Esterilizar a 1 atmósfera de presión, durante 15 minutos. Guardar en el refrigerador a 4-10°C

SUSPENSIONES MICOTICAS

Tomar con el asa de platino previamente esterilizada en la flama, un fragmento de la colonia del hongo a probar y disolver en 1000 microlitros de solución salina estéril al 0.85%.

PREPARACION DE EXTRACTO DE AJO

AJO (*Allium sativum*)

Se licúan en seco, aproximadamente 15 cabezas crudas y peladas; la suspensión resultante se filtra en gasa presionándola para obtener un mayor filtrado, y se guarda en refrigeración.



Foto No.1.- Dermatitis Experimental inducida con *T. mentagrophytes*



Foto No.2.- Ratón tratado y curado tópicamente con extracto fresco de ajo.



Foto No. 3.- Ratón con Dermatofitosis no tratado con extracto fresco de ajo (4 semanas)

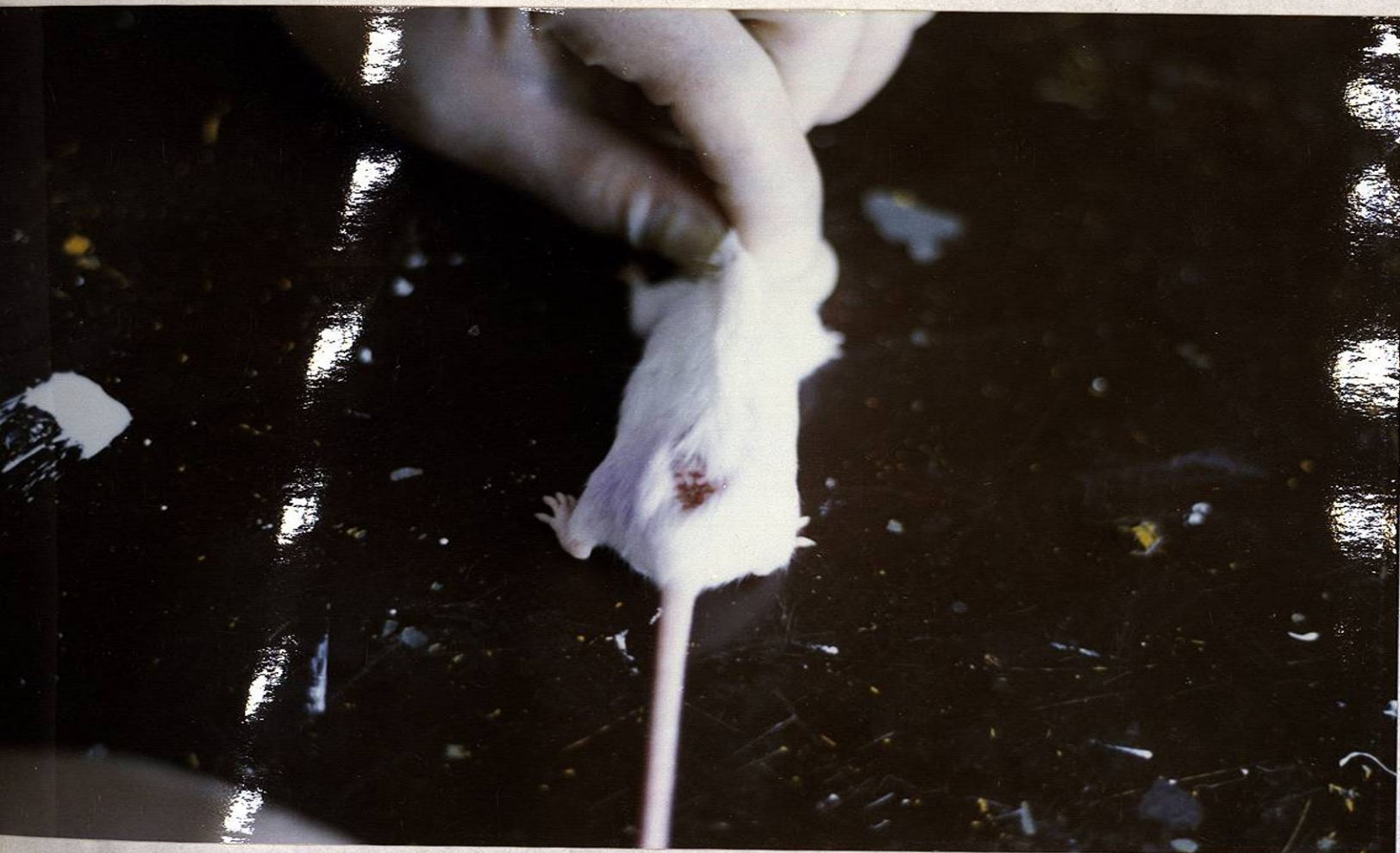


Foto No. 4.- Ratón tratado con extracto de ajo inactivo.

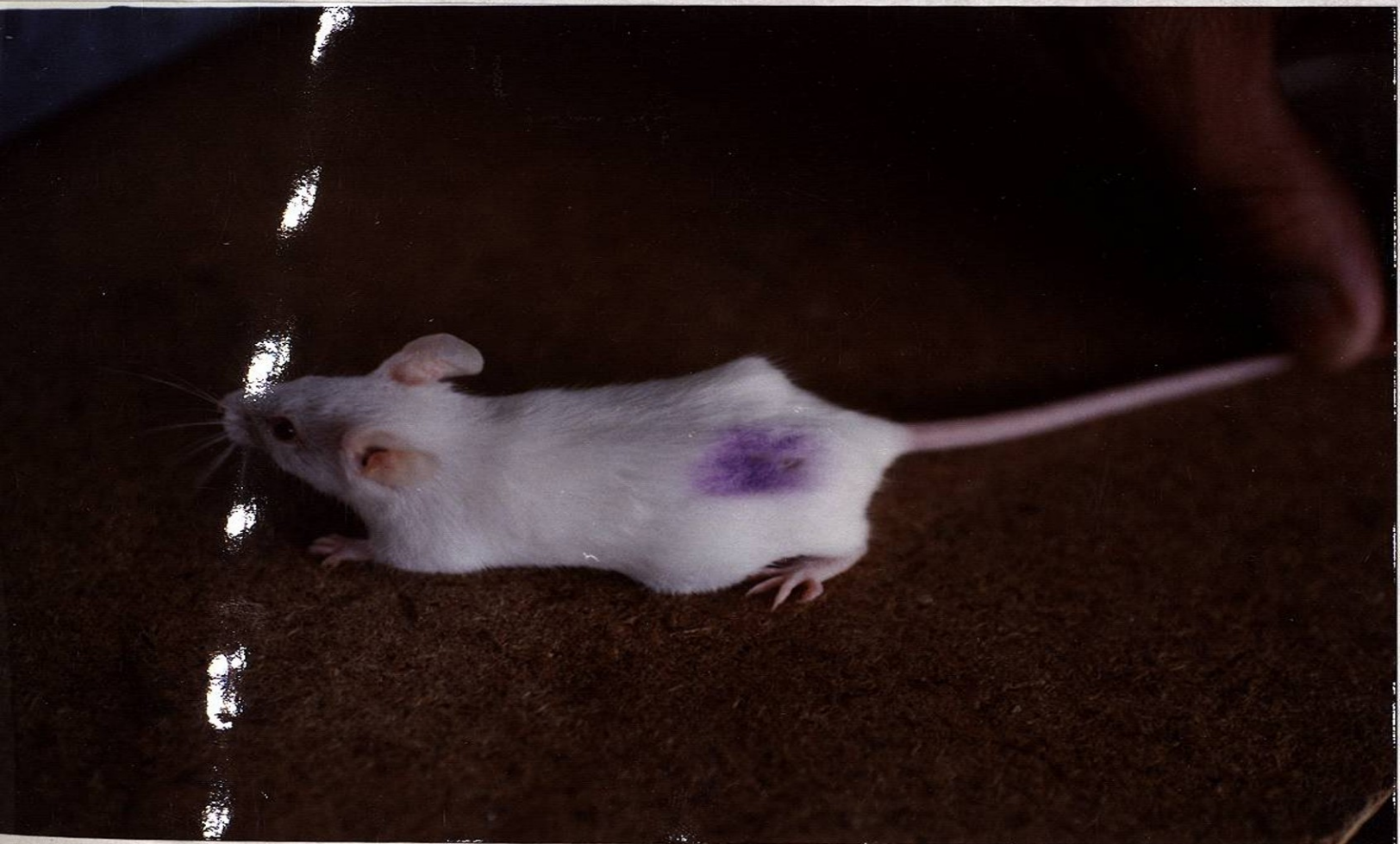


Foto No. 5.- Irritabilidad de ratón inducida con violeta de genciana

Foto No. 6 - Irritabilidad anatómica inducida con Violeta de genciana

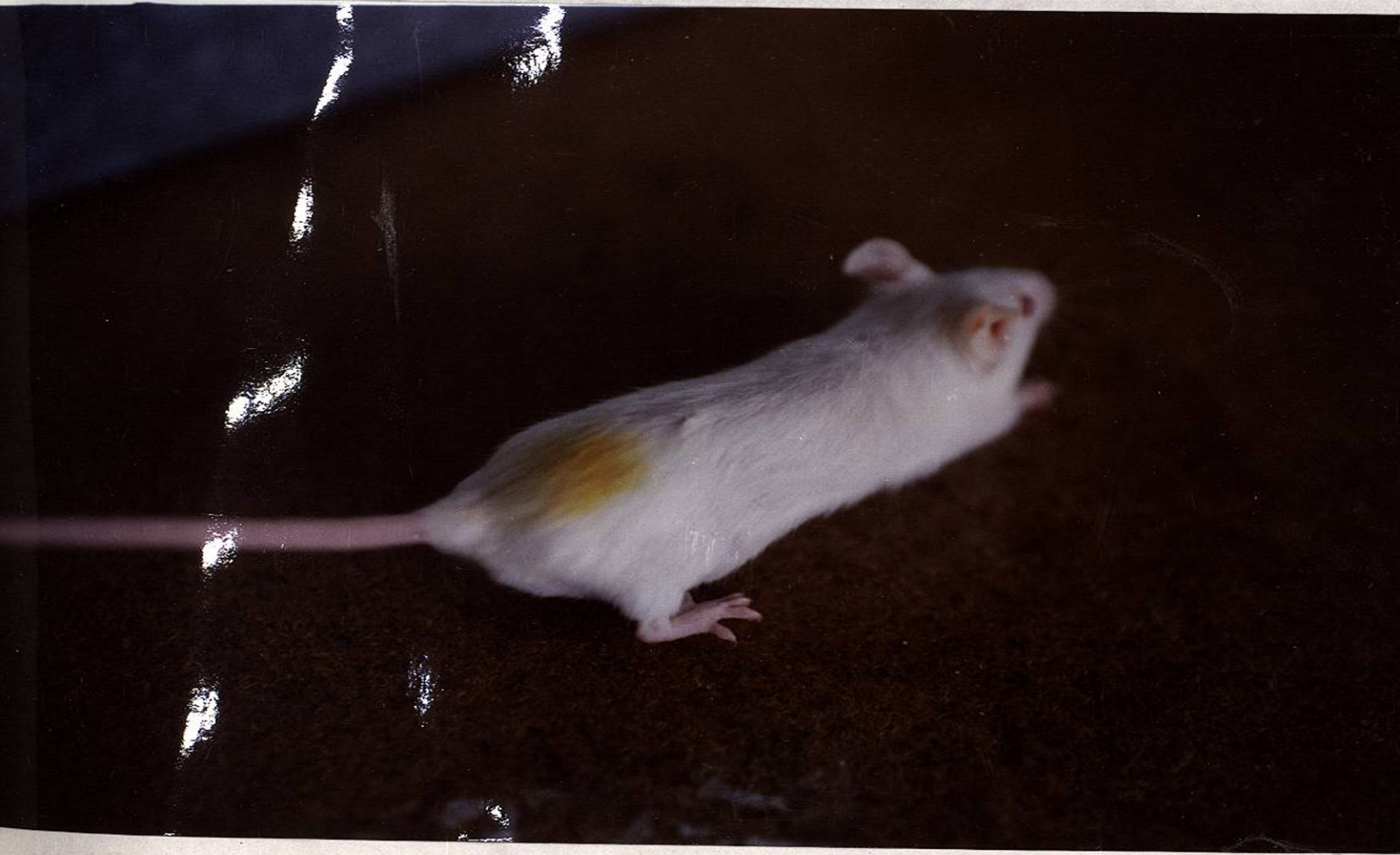


Foto No. 6.- Irritabilidad en ratón inducida con Tintura de yodo.



Foto No. 8.- Irritabilidad en ratón inducida con jugo de ajo.

Foto No. 7.- Irritabilidad en ratón inducida con extracto de ajo concentrado.



Foto No. 8.- Irritabilidad en ratón inducida con diente de ajo fresco.

TECNICA DE INOCULACION DE *Trichophyton mentagrophytes* A LOS RATONES DE EXPERIMENTACION

Se depila el área que será infectada, el sitio preparado se escarifica y se inocula una suspensión de microconidios, en solución salina.

Los microconidios provienen de una cepa sembrada en ASD.

La inoculación se realiza utilizando hisopos estériles. Esto se hace cada tercer día, durante 30 días o más hasta que los animales desarrollen la infección, la cual se comprueba por tomar raspados de las lesiones y cultivándolas en medios diferenciales, en base a una cepa control y a ratones inoculados solamente con solución salina.

RESULTADOS

En primer lugar se indujo una dermatofitosis en animales de experimentación (ver material y métodos).

Inicialmente se inocularon 15 ratones incluyendo un control, inoculado con solución salina al 0.85% estéril, de los cuales sólo 10 ratones presentaron la infección en diferentes zonas después de un mes de inoculación con microconidios de *T.mentagrophytes*. (Los otros cinco fueron extraviados durante el experimento)

Se comprobó que fué una dermatofitosis, por el análisis de escamas de las zonas infectadas, tanto en forma directa, como en medios de cultivo selectivos, en comparación con la cepa control.

Posteriormente, 5 ratones se trataron tópicamente con extracto concentrado de ajo fresco (Ver material y métodos), 3 con extracto de ajo inactivado (de los cuales uno se extravió) y 2 no tratados , por un período de 3-4 semanas, observando macroscópicamente la evolución de las lesiones y comprobando la curación por raspado y análisis de las escamas de las zonas infectadas.

Todos los ratones tratados con el extracto fresco se curaron (3- 4 semanas de tratamiento), mientras que los tratados con el extracto inactivado y los controles no se curaron.

Con respecto al grado de irritabilidad en la piel inducida por el extracto concentrado fresco de ajo, en comparación con otros antifúngicos, se utilizaron ratones sanos, observando la irritabilidad producida en los mismos con respecto al control,utilizando como parámetros de irritabilidad, la caída del pelo, irritación y enrojecimiento de las zonas tratadas con las diferentes sustancias antimicóticas analizadas.

DISCUSION

En este trabajo, se indujo Dermatofitosis en ratones , por T. mentagrophytes, de los 15 ratones infectados, sólo 10 de ellos desarrollaron la infección de una manera fácil y eficiente, lo que concuerda con otros reportes de la literatura (Rippon,1990; Bonifaz,1990; Torres Rodríguez,1987) en los cuales se reportó que el T. mentagrophytes es el hongo que infecta más facilmente animales, tanto de laboratorio como silvestres (Prasad y cols,1982).

Con lo que respecta al efecto del extracto fresco de ajo , se demostró que es muy efectivo “in vivo”,pues todos los ratones tratados se curaron, lo que concuerda con algunos estudios “in vitro” (Vázquez, 1989;Ledezma,1991; Cavallito y cols;1944,San Blas y cols;1989), y confirma algunos algunos reportes “in vivo”, por ejemplo Prasad y Parma (1980), en pollos contra levaduras patógenas, Kabelik (1970), en ratones infectados con levaduras, demostró, que el ajo es más efectivo que la nistatina, la violeta de genciana y el azul de metileno. Cabe mencionar que los ratones tratados con extracto inactivo y los controles no se curaron, lo que confirma el poder antimicótico del extracto concentrado de ajo fresco activo.

Por otro lado Houria y cols. (1989) encontraron datos contradictorios en ratones infectados con Criptococcus neoformans, pues se observó una disminución del 25% en la población de criptococcus en el cerebro, aunque no fué posible erradicar la infección y cuando se suspendió el tratamiento, la infección volvió a sus niveles normales.

Con respecto al grado de irritabilidad del extracto de ajo, en comparación con otros productos antifúngicos, se observó que es un poco más irritante que los antifúngicos clásicos utilizados, similar al callosol y menor al que presentó e el diente nativo (Tabla No. 2)

Tabla No. 1: tratamiento y curación de los ratones infectados.

Los ratones infectados se trataron con extracto concentrado fresco de ajo según el siguiente protocolo:

Ratones tratados	Tópico utilizado	Curación
5	Extracto concentrado fresco de ajo	+
3	Extracto de ajo inactivado	-
2	Solución salina estéril	-

NOTA: El extracto de ajo fué incubado a 4°C durante 45 a 50 días, objeto de determinar el tiempo en el cual pierde sus propiedades antimicóticas, con lo cual se comprobó al sembrar cada semana *C.albicans* con el extracto de ajo en ASD, hasta que dicho extracto no inhibió el crecimiento de *C.albicans*, y fué utilizado como control negativo en el tratamiento de los ratones infectados.

Tabla No. 2: Grado de irritabilidad por cruces en ratones normales utilizados para este estudio.

No. de ratón	Sustancia a analizar	Resultados
1	Solución salina	-
2	Extracto concentrado de ajo fresco	++
3	Extracto concentrado de ajo inactivado	++
4	Diente de ajo nativo	++++
5	Tintura de yodo	-
6	Violeta de Genciana	-
7	Callosol	+++

Callosol (Sulfato de aluminio, Nitrato de arsénico, fenol)

NOTA: El número de cruces fué considerado en cuanto al grado de irritación en la piel de los ratones normales, valorando, caída de pelo, enrojecimiento e irritación de la zona tratada.

CONCLUSIONES

1° Se indujo la infección experimental en ratones con *T. mentagrophytes*.

2° Se logró la curación de los ratones infectados, efecto que no se logró con el ajo inactivado y los ratones control.

3° El extracto de ajo concentrado presentó menos irritabilidad que el diente nativo, hecho que presentó una ventaja para su uso en enfermedades micóticas superficiales.

4° El ajo es una excelente alternativa en el tratamiento y curación de algunas micosis.

GLOSARIO MICOLOGICO

Anamorfo: Estado sexual de un hongo, proceso reproductivo en el que no se produce recombinación nuclear.

Arthroconidio: Conidio tálico producido en cadenas por desarticulación de una hifa a nivel de sus tabiques por regeneración de las células vecinas.

Colonia: Grupo de individuos de la misma especie que viven en estrecha asociación: Se refiere al conjunto de hifas que crecen apartir de un solo punto y forman un talo.

Dermatofitos: Hongos queratinófilos causantes de micosis superficiales, llamadas tiñas o dermatofitosis.

Dermatofitosis: Infección de la piel o anexos causada por hongos dermatofitos.

Ectotrix: Parasitismo del pelo en que los arthroconidios se disponen en su exterior.

Endotrix: Arthroconidios formados en el interior del tallo piloso, la cutícula del pelo queda intacta.

Ergosterol: Esterol común en los hongos, constituyente de la pared y membrana celular.

Geófilo: Hongo cuyo hábitat natural es el suelo.

Glabra: Referencia a la colonia fúngica lisa, casi sin micelio aéreo.

Hifa: Filamento tubular que actúa como unidad estructural en la mayor parte de los hongos.

Hongo: Organismo eucariota perteneciente al reino fungi.

Levadura: Hongo unicelular redondeado u ovoide que se reproduce por gemación o por fisión. Su estado teleomórfico se incluye en los basidiomicetos y ascomicetos.

Micelio: Masa de hifas que constituyen el talo del hongo.

Quitina: Polisacárido constituido por unidad de N-acetil glucosamina, que forma parte de la pared celular de los hongos.

Septos: Tabique que separa las células de las hifas de los hongos o algunos conidios o esporas.

Teleomorfa: Fase sexuada de un hongo (Forma perfecta)

Tiña: Proceso infeccioso de las zonas queratinizadas de piel o anexos. Producida por dermatofitos.

Zoófilo: Hongo inicialmente patógeno de los animales.

BIBLIOGRAFIA

1° Acosta I; Ramírez N; y Moctezuma, M.G. 1991. Incidencia de micosis que afectan piel, pelo y uñas en una población de escasos recursos en San Luis Potosí; S.L.P. Memorias de las IV Jornadas Científicas de Graduados. pp 61-V75.

2° Alvarez Ojeda, M.G. 1989. Determinación de la etiología en 25 casos de dermatofitosis y ensayo de un medio de cultivo a base de tuna para aislamiento de Dermatofitos. Tesis Licenciatura. Químico Farmacobiólogo. Facultad de Ciencias Químicas. U.A.S.L.P.

3° Aptiz-Castro R, Ledezma E, Escalante J, Jorquera A, Piñate F, Moreno-Rea J, Carrillo G, Leal O, 1988; Jain MK Ajoene (E,Z)-4-5-9-tri-thiadodeca-1-6-11 triene 9-oxidel, reversibly prevents platelet activation in dogs under extracorporeal circulation. *Arzneim Forsh* ;38: 901-904.

4° Barone FE, Tansey MR. 1977; Insolation, purification, identification, synthesis and kinetics of activity of the anticandidal components of *Allium sativum*, and a hypothesis for its mode of action. *Mycologia* ; 69: 793-895.

5° Bhajan Yogui. 1990. Propiedades curativas de los alimentos. Ed. Posada, pág: 49-50.

6° Bonifaz A. 1990. *Micología Médica Básica*. Ed. Méndez Cervantes. México, D.F. pp. 77-87.

7° Cavallito CJ, Buck JS, Suter CM. 1944; 66: 1952-1954; Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. II. Determination of the chemical structure. *J Am Chem Soc*.

8° Clapera Gómez Ma. del Mar.1991. Efecto del Tepescohuite (Mimosa tenuiflora poir) sobre el crecimiento de algunas especies de hongos. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias Químicas. U.A.S.L.P.

9° Fernández Ledezma P. César .1991. Estudio comparativo de algunos preparados antimicóticos sobre el crecimiento de algunas especies de hongos. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias Químicas. U.A.S.L.P.

10° González R.L. 1987. Examen directo para diagnóstico de tiñas y su correlación con cultivo con tres medios de rutina. Tesis Licenciatura. Químico Farmacobiólogo. Facultad de Ciencias Químicas. U.A.S.L.P.

11° Kabelik JC.1954. Antimikrobialle Eigenschaften des Pharmazine; 25: 266-270.

12° Koneman, E.W; Allen, S.D; Dowel, V.R; y Sommers, H.M. 1983. Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas color. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.pp. 428-469.

13° Louria DB, Lovenhar M, Kaminski T, Eng RHK. 1989 Garlic (*Allium sativum*) in the treatment of experimental cryptococcosis. J . Med Vet Mycol ;27: 253-256.

14° Prasad G, Sharma V.D 1980; Efficacy of Garlic (*Allium sativum*) treatment against experimental candidiasis in chicks. Brit Veter J ;136:448-451.

15° Prasad G;Sharma V.D, Kumar A.1982; Efficacy of Garlic (*Allium sativum*) therapy against experimental dermatophytosis in rabbits Indian J. Med Res ;75: 465-467.

16° Rippon, J.W. 1990. Tratado de Micología Médica, 3a. ed. Ed. Interamericana. McGraw-Hill. México, D.F.pp. 187-292.

17° San Blas; G. 1991. Antibióticos antifúngicos: Hacia la búsqueda de antibióticos selectivos. Rev. Iberoamericana de micología, 8,24-34.

18° Torres Rodríguez, J.M. 1987. Micosis que afectan la piel y las mucosas, Ed. Doyma. Barcelona, España.pp. 38-52.

19° Vazquez Vazquez Ma. Elena.1989. Efecto de algunos productos naturales sobre el crecimiento de algunas especies de hongos para su posterior uso terapéutico. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias Químicas. U.A.S.L.P.

*Arista 270, C.P.78000
San Luis Potosi, SLP.*

