

Sobrenadante de *Lactobacillus spp.* aislados de secreción vaginal y su actividad antagónica sobre especies de *Candida*

Supernatant of *Lactobacillus spp.* isolated from vaginal secretion and its antagonistic activity against *Candida* species

Chinchay, Gerald¹; Guerra, Fiorella¹; Pérez, Gildert¹; Coronel, José^{1*}; De la Cruz, Ademar¹

¹Universidad Nacional de Jaén, Jaén, Perú

Recibido: 19/08/2024 | Aceptado: 28/12/2024 | Publicado: 17/12/2024

Correspondencia*: jose.coronel@est.unj.edu.pe

RESUMEN

La candidiasis vaginal es una infección común y recurrente en mujeres, y el uso de probióticos, tales como *Lactobacillus spp.*, se ha propuesto como una alternativa terapéutica debido a la capacidad para inhibir el crecimiento de patógenos. El objetivo del estudio fue evaluar la actividad inhibitoria del sobrenadante de cepas de *Lactobacillus spp.* aislados de secreciones vaginales contra *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. krusei*. Las muestras fueron obtenidas de mujeres saludables y se identificaron las cepas de *Lactobacillus spp.* mediante pruebas fenotípicas y bioquímicas. Se prepararon discos de sensibilidad impregnados con el sobrenadante de las cepas de *Lactobacillus spp.* y se evaluó su efecto antagónico contra las especies de *Candida spp.*, haciendo 3 repeticiones por especie, mediante el método de difusión en disco en agar Mueller-Hinton. Se observó que la cepa L₃ de *Lactobacillus spp.* tuvo un halo de inhibición de hasta 10 mm contra *C. albicans* y *C. glabrata*. Las cepas de *Lactobacillus spp.* aisladas de secreciones vaginales muestran potencial para inhibir el crecimiento de *C. albicans* y *C. glabrata*.

Palabras clave: *Lactobacillus spp.*; probióticos; actividad inhibitoria; *Candida spp.*; candidiasis vaginal

ABSTRACT

Vaginal candidiasis is a common and recurrent infection in women, and the use of probiotics, such as *Lactobacillus spp.*, has been proposed as a therapeutic alternative due to their ability to inhibit the growth of pathogens. The aim of the study was to evaluate the inhibitory activity of *Lactobacillus spp.* strains isolated from vaginal secretions against *C. albicans*, *C. glabrata*, and *C. krusei*. Samples were obtained from healthy women, and the *Lactobacillus spp.* strains were identified through phenotypic and biochemical tests. Sensitivity disks impregnated with the supernatant of the *Lactobacillus spp.* strains were prepared, and their antagonistic effect against *Candida spp.* species was evaluated by performing three repetitions per species using the disk diffusion method on Mueller-Hinton agar. It was observed that the L₃ strain of *Lactobacillus spp.* had an inhibition zone of up to 10 mm against *C. albicans* and *C. glabrata*. The *Lactobacillus spp.* strains isolated from vaginal secretions show potential to inhibit the growth of *C. albicans* and *C. glabrata*.

Keywords: *Lactobacillus spp.*; probiotics; inhibitory activity; *Candida spp.*; vaginal candidiasis

Cómo citar este artículo: Chinchay, G., Guerra, F., Pérez, G., Coronel, J. & De la Cruz, A. (2024). Sobrenadante de *Lactobacillus spp.* aislados de secreción vaginal y su actividad antagónica sobre especies de *Candida*. *Revista Científica Dékamu Agropec*, 5(2), 113-119. <https://doi.org/10.55996/dekamuagropec.v5i2.263>

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, se están implementando y desarrollando tratamientos con el uso de microorganismos, tales como *Lactobacillus spp.*, para combatir agentes patógenos que alteran la salud pública de todo el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), los probióticos son “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren beneficios para la salud del huésped”; siendo el género *Lactobacillus* el de mayor uso comercial con distintos beneficios para la salud general (Dahl, 2017).

La candidiasis vaginal es un problema infeccioso muy común en mujeres en edad fértil ocasionado por un microorganismo micótico en forma de levadura del género *Candida*, pero se presenta con mayor frecuencia por la especie de *Candida albicans*, la cual, aunque cause muchas molestias, tiene tratamiento sencillo (Cigna Healthcare, 2024).

En situaciones normales la vagina es el hábitat de *Candida* en cantidades muy pequeñas, ya que estas se ven afectadas por otros microorganismos, especialmente de bacterias denominadas *Lactobacillus acidophilus*; pero al alterar este equilibrio microbiológico, *Candida* excede su proliferación y origina esta enfermedad micótica (Cigna Healthcare, 2024).

La candidiasis vaginal siendo el 15 – 20% y 20 – 40% de consultas en mujeres no embarazadas y mujeres embarazadas respectivamente. Esta enfermedad es generalmente ocasionada principalmente por especies de *Candida spp.* y específicamente la mayor frecuencia es *Candida albicans* (Goje, 2023).

Lactobacillus spp. y *Candida spp.* en condiciones normales conviven en lugares del cuerpo humano, siendo *Lactobacillus spp.* el que inhibe ataques de microorganismos invasores, tal como *Candida spp.* (Wannun et al., 2014; Teanpaisan et al., 2011; Jørgensen et al., 2017), por ello se caracteriza puede tener capacidad antifúngica sobre *Candida spp.* (Jørgensen et al., 2017). Este probiótico inhibe a colonias de este patógeno debido a que puede generar un ambiente adverso para su multiplicación (Jalilpour et al., 2017).

Diversos estudios han demostrado que ciertas especies de *Candida spp.* fueron inhibidas por *Lactobacillus spp.*, algunos de estos, trataron específicamente con *C. albicans* (Osset et al., 2001; Brasília, 2019; Serrano Quevedo et al., 2021; Rodríguez et al., 2007; Sánchez et al., 2011).

El objetivo de esta investigación consiste en evaluar la actividad inhibitoria del sobrenadante de cepas de *Lactobacillus spp.* aislados de secreción vaginal frente a *Candida albicans*, *Candida glabrata* y *Candida krusei*. Este estudio servirá para coadyuvar a futuras investigaciones para la búsqueda de tratamientos novedosos con el uso de probióticos y así enfrentar las enfermedades causadas por *Candida spp.*

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación es un estudio tipo descriptivo y experimental (Hernández Sampieri et al., 2014), que tiene como objetivo analizar y documentar las características y comportamientos de un fenómeno específico, así como evaluar los efectos de una variable independiente sobre una variable dependiente a través de la manipulación y control de condiciones experimentales.

2.1. Aislamiento, Selección e Identificación de *Lactobacillus spp.*

Las muestras consistieron en secreciones vaginales de 10 mujeres saludables de entre 18 y 25 años, seleccionadas de manera no aleatoria, de la ciudad de Jaén, Perú. Siendo los criterios de exclusión:

Mujeres que sobrepasen los 25 años, se encuentren embarazadas y quienes hayan tenido o presenten alguna afección que comprometa la flora natural del área genital.

Las muestras vaginales, obtenidas con el previo consentimiento informado de las donantes y con conocimiento pleno del uso que se les daría, fueron recolectadas directamente por las mismas mediante el uso de un hisopo estéril, el cual fue introducido en tubos que contenían 5 mL de caldo MRS durante un período de 8 horas. Posteriormente, se sembró una alícuota de cada muestra en placas Petri con agar MRS, que fueron incubadas a 37°C en condiciones de anaerobiosis durante 24 – 48 h. Las muestras de lactobacilos fueron seleccionadas en base a sus características fenotípicas, tales como la morfología de las colonias y la observación microscópica posterior a la tinción de Gram de las bacterias, descartándose 9 de las muestras que, morfológicamente, correspondían a cocos. Al realizar las pruebas para verificar la presencia del género *Lactobacillus*, se encontró que la muestra restante presentaba las características propias del género: negativas para catalasa, oxidasa y motilidad; sin reducción de nitratos a nitritos y sin actividad de producción de sulfuro de hidrógeno.

2.2. Actividad antagónica de *Lactobacillus spp.*

Preparación del inóculo

Se aislaron 4 cepas de *Lactobacillus spp.*, identificados previamente, en placas con agar MRS durante 48 horas en anaerobiosis a 37° C. Transcurrido dicho tiempo, se añadieron 5 ml de caldo MRS, se realizó un “barrido” con ayuda de un hisopo y se separó la solución de la superficie en tubos esterilizados. Tras haber sido incubados durante 24 horas, estos tubos fueron sometidos a una centrifugación de 10 000 rpm durante 5 minutos. Obteniéndose el sobrenadante requerido para elaborar los discos inhibitorios.

Elaboración de discos inhibitorios

Para la preparación de los discos de sensibilidad de 5 mm de diámetro, se utilizó papel filtro como base. Luego, los discos se colocaron dentro de microplacas y se esterilizaron en la estufa durante 2 horas a 170° C. Posteriormente, los discos estériles se humedecieron con 20 µL del sobrenadante de cada cepa de *Lactobacillus spp.* y se dejaron reposar durante 5 minutos. Finalmente, los discos se distribuyeron uniformemente a una distancia de 25 mm entre ellos, y no se retiraron una vez que entraron en contacto con la superficie del agar (Ventura Egúsqiza & Sacsquispe Contreras, 2002; Cavalieri et al., 2005).

Efecto antagónico (método de disco difusión)

Para llevar a cabo la actividad antagónica de cada cepa identificada como *Lactobacillus spp.*, se emplearon medios de cultivo con agar Mueller Hinton y se colocaron cuatro discos del sobrenadante correspondiente de cada una de las cepas de *Lactobacillus spp.* con tres repeticiones por especie de *Candida* (incluyendo *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. krusei*). Cabe mencionar que, estas cepas silvestres fueron aisladas e identificadas por un equipo de investigadores a partir de muestras de secreciones vaginales de mujeres gestantes proporcionadas por el personal de salud del Hospital General de Jaén. Dichas muestras fueron sembradas en CHROM Agar Candida y se identificaron por la morfología de las colonias, observación microscópica y la prueba de tubo germinativo.

Asimismo, se incluyó un control positivo (Amfotericina B 100 µg) y un control negativo (agua destilada). Los discos de sensibilidad se dispusieron sobre el medio de cultivo utilizando agujas estériles, presionándolos suavemente para asegurar su completo contacto con la superficie del medio de cultivo. La lectura se efectuó después de 24 horas, midiendo los diámetros de los halos de inhibición con una regla milimetrada.

Análisis de datos

Para comparar las diferencias en los promedios (o medias) entre los diferentes halos de inhibición formados se usó una fórmula estadística (análisis de varianza- Anova).

3. RESULTADOS

La Tabla 1 presenta una evaluación del efecto antagonístico del sobrenadante de 4 cepas de *Lactobacillus spp.* contra *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. krusei*, incluyendo tres repeticiones de cada especie luego de 24 horas. Para *C. albicans*, L₁ y L₃ mostraron zonas de inhibición de 10 mm en la primera repetición, y L₃ tuvo el mismo diámetro en la segunda repetición. En el caso de *C. glabrata*, L₃ y L₄ mostraron zonas de inhibición de 10 mm en las tres repeticiones.

Tabla 1. Evaluación del efecto antagonístico de cepas de *Lactobacillus spp.* contra especies de *Candida spp.*

Tiempo	Candida	Repetición	Halos de inhibición (mm)					
			L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	Control positivo	Control negativo
24 horas	<i>C. albicans</i>	1	10	–	10	–	21	–
		2	–	–	10	–	21	–
		3	–	–	–	–	24	–
	<i>C. glabrata</i>	1	–	–	10	10	20	–
		2	–	–	10	10	20	–
		3	–	–	10	10	24	–
	<i>C. krusei</i>	1	–	–	–	–	13	–
		2	–	–	–	–	20	–
		3	–	–	–	–	22	–

4. DISCUSIÓN

Se observó que la cepa L₃ de *Lactobacillus spp.* mostró halos de inhibición de 10 mm contra *C. albicans* en los números de siembra 1 y 2, mientras que no hubo inhibición en el número de siembra 003. Estos hallazgos coinciden con el estudio de Osset et al. (2001) quienes reportaron una significativa inhibición de la adherencia de *C. albicans* en células vaginales por diferentes cepas de *Lactobacillus spp.*, alcanzando hasta un 62,9% de inhibición. Similarmente en el estudio de Serrano Quevedo et al. (2021) reportaron una inhibición promedio del 88,26% por parte de *Lactobacillus paracasei* sobre *C. albicans*, indicando una alta eficacia de ciertas cepas probióticas. En particular, Rodríguez et al. (2007) reportaron que ciertas cepas de *Lactobacillus* demostraron características probióticas prometedoras y una capacidad inhibidora contra *C. albicans* en estudios in vitro, con halos de inhibición significativos que respaldan la utilidad de *Lactobacillus* en aplicaciones probióticas.

En el caso de *C. glabrata*, los resultados muestran que las cepas L₃ y L₄ lograron inhibir esta especie en todos los números de siembra (10 mm). Este patrón es consistente con el trabajo de Lorenzoni⁹, quien reportó que *Lactobacillus casei* tuvo una menor eficacia contra *C. glabrata* comparado con otras especies de *Candida*, aunque mostró una acción microbicida significativa con un 58% de eficacia.

Por otro lado, *C. krusei* no fue inhibida por ninguna de las cepas de *Lactobacillus* evaluadas en este estudio, aunque los controles positivos presentaron halos de inhibición. Este resultado es contrastante con otros estudios que reportan una actividad antimicrobiana variable de *Lactobacillus spp.* dependiendo de las condiciones del experimento y las cepas específicas utilizadas (Serrano Quevedo et al., 2021; Rodríguez et al., 2007; Sánchez et al., 2011).

Por su parte, Sánchez et al. (2011) también destacaron la capacidad de *Lactobacillus spp.* para inhibir diversas especies de *Candida* en estudios in vitro, subrayando su potencial como candidatos probióticos al observar que la mayoría de estas cepas mostraron halos de inhibición contra *Candida*

spp. que oscilaron entre 12 mm y 22 mm. La inhibición observada en nuestro estudio contra *C. albicans* se alinea con sus hallazgos, aunque no se presentaron efectos contra *C. krusei*, lo cual resalta la importancia de seleccionar cepas específicas para el tratamiento de diferentes especies de *Candida*.

Estudios previos señalan que *Lactobacillus spp.* son capaces de producir sustancias, como ácido láctico y bacteriocinas, que inhiben el crecimiento de hongos patógenos vaginales. El efecto inhibitorio observado contra *C. albicans* y *C. glabrata* sugiere que *Lactobacillus spp.* pueden ser particularmente efectivos contra estas especies. La variabilidad en la inhibición de otras especies de *Candida* se debería a diferencias en la susceptibilidad intrínseca y la capacidad de adaptación a los compuestos antimicrobianos propios de *Lactobacillus spp.* (Agudelo Londoño, 2013; Monroy et al., 2014).

Los principales componentes químicos de las bacteriocinas están conformados por aminoácidos, como arginina y glicina, que interactúan con las membranas celulares de bacterias. Las bacteriocinas desestabilizan y forman poros o canales iónicos que reducen la fuerza motriz de la célula debido a la interacción con polímeros que constituyen la pared celular (Camargo Peralta et al., 2009).

Estos resultados sugieren que la eficacia de *Lactobacillus spp.* como agente antagónico contra *Candida spp.* es específica de la cepa y la especie de *Candida*, lo cual tiene importantes implicaciones para el desarrollo de tratamientos probióticos. El escaso interés en estudios sobre el efecto probiótico de *Lactobacillus spp.* resalta la necesidad de realizar más investigaciones para identificar las condiciones óptimas y combinaciones de cepas que maximicen el efecto antagónico contra infecciones causadas por *Candida spp.* y diversos agentes patógenos.

CONCLUSIONES

No se evidenció actividad inhibitoria de *C. krusei* por parte de ninguno de los sobrenadantes de *Lactobacillus spp.*, a pesar de las repeticiones. Además, el sobrenadante de la cepa L3 de *Lactobacillus spp.* inhibe el crecimiento de *C. albicans* y *C. glabrata*.

FINANCIAMIENTO

Los autores no recibieron ningún patrocinio para llevar a cabo este estudio-artículo.

CONFLICTO DE INTERESES

No existe ningún tipo de conflicto de interés relacionado con la materia del trabajo.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización, curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, software, redacción - borrador original, redacción - revisión y edición: Chinchay, G., Guerra, F., Pérez, G., Coronel, J. & De la Cruz, A.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agudelo Londoño, N. (2013). *Estado del arte de la obtención de bacteriocinas a partir de bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de alimentos* (Vol. 26, Issue 4).

Brasília, D. (2019). *Avaliação microbiana in vitro de lactobacillus casei contra candida spp.*

Camargo Peralta, I., Gómez Bertel, S., & Salazar Montoya, V. (2009). Impact of bacteriocins and

- their relevance as preservatives in the food industry. *Teoría y Praxis Investigativa*, 4(2), 27–32. <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3726666&info=resumen&idioma=ENG>
- Cavaliere, S., Harbeck, R., McCarter, Y., Ortez, J., Rankin, I., Sautter, R., Sharp, S., & Spiegel, C. (2005). Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. In *Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana*. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>
- Cigna Healthcare. (2024). *Candidiasis vaginal* | Cigna. <https://www.cigna.com/es-us/knowledge-center/hw/temas-de-salud/candidiasis-vaginal-hw61044>
- Dahl, W. (2017). Una guía sobre probióticos y salud. *EDIS*, 2017(3). <https://doi.org/10.32473/edis-fs297-2017>
- Goje, O. (2023). *Vaginitis candidiásica - Ginecología y obstetricia - Manual MSD versión para profesionales*. <https://www.msmanuals.com/es/professional/ginecología-y-obstetricia/vaginitis-cervicitis-y-enfermedad-inflamatoria-pélvica/vaginitis-candidiásica>
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2014). *Metodología de la Investigación*.
- Jalilpour, Y., Abdollahzade, B., ParviziFard, G., Aghazadeh, M., Bialvaei, A. Z., & Kafil, H. S. (2017). A simple route for preparation of pH-sensitive hydrogels by using egg white proteins in alginate scaffold for the encapsulation of probiotics. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 58(3), 127–136. <https://doi.org/10.30827/ars.v58i3.6530>
- Jørgensen, M. R., Kragelund, C., Jensen, P. Ø., Keller, M. K., & Twetman, S. (2017). Probiotic *Lactobacillus reuteri* has antifungal effects on oral *Candida* species in vitro. *Journal of Oral Microbiology*, 9(1), 1274582. <https://doi.org/10.1080/20002297.2016.1274582>
- Monroy, M. del C., Castro, T., Fernández, F., & Mayorga, L. (2014). Revisión bibliográfica: Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. *Contactos*, November 2009, 63–72.
- Osset, J., García, E., Bartolomé, R. M., & Andreu, A. (2001). Papel de *Lactobacillus* como factor protector de la candidiasis vaginal. *Medicina Clínica*, 117(8), 285–288. [https://doi.org/10.1016/S0025-7753\(01\)72089-1](https://doi.org/10.1016/S0025-7753(01)72089-1)
- Rodríguez, J. A. M., Rueda, Z. C., Cárdenas, B. G., Rojas, J. O., & Corcuera, G. L. (2007). Obtención de cepas de *Lactobacillus*. Caracterización in-vitro como potenciales probióticas. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 17(2), 178–185. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592007000200012&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Sánchez, L., Vichi, J., Llanes, M., Castro, E., Soler, D., Espinosa, I., Kociubinski, G. ., & Ferreira, C. (2011). Aislamiento y caracterización in vitro de cepas de *Lactobacillus* spp. como candidato a probióticas. *Revista de Salud Animal*, 33(3), 154–160. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2011000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Serrano Quevedo, K., Galvis Castillo, Y. S., Varela Rangel, Y. Y., Jiménez Medina, J. M., Martínez-Amaya, C., & Salas-Osorio, E. (2021). Actividad antagónica de lactobacilos probióticos sobre *Candida albicans* aisladas de lesiones bucales en pacientes con enfermedades sistémicas. *Odous Científica*, 23(1).
- Teanpaisan, R., Piwat, S., & Dahlén, G. (2011). Inhibitory effect of oral *Lactobacillus* against oral pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 53(4), 452–459. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03132.x>
- Ventura Egúsqüiza, G., & Sacsquispe Contreras, R. (2002). *Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias* (p. 6).

Wannun, P., Piwat, S., & Teanpaisan, R. (2014). Purification and characterization of bacteriocin produced by oral *Lactobacillus paracasei* SD1. *Anaerobe*, 27, 17–21.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.03.001>