

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**EFFECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE *Allium sativum* (AJO) EN
CEPAS DE *Candida albicans* ATCC 10231**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTOR

PORTURAS RODRIGUEZ, JHONATAN MIGUEL

ORCID: 0000-0002-2259-751X

ASESOR

LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

ORCID: 0000-0003-4125-3381

TRUJILLO – PERÚ

2020

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Porturas Rodríguez, Jhonatan Miguel

ORCID: 0000-0002-2259-751X

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Estudiante de pregrado
Trujillo, Perú.

ASESOR

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de Ciencias de
la Salud. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú.

JURADO

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID: 0000-0002-6374-8732

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Asesor

AGRADECIMIENTO

A Dios

*Quien me dio la vida,
Agradecerte porque me has
iluminado y guiado durante
este tiempo en la universidad
y así poder concluir mis
estudios.*

A mis padres

*Gracias por todo el apoyo
que me han dado desde la
infancia y sobre todo los
buenos consejos que
me sirvieron en el transcurso
de mi vida como persona.*

A mis profesores

*Quienes con su sabiduría me
otorgaron el conocimiento
necesario para ser un buen
profesional.*

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada con mucho cariño a mis padres Miguel y Nancy, por inculcarme en todo este tiempo universitario con sus sabios consejos que me brindaron para seguir adelante, por la confianza y sobre todo por el apoyo mutuo en todas las etapas de mi vida.

A ustedes mi eterno agradecimiento.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) frente a *Candida albicans*. La investigación fue de tipo experimental y nivel explicativo. Se trabajó con 25 placas con cultivos de microorganismos divididas en 5 grupos: grupo blanco, grupo control o farmacológico (fluconazol 25ug), grupo experimental al 25%, 75% y 100%. Se realizó mediante los métodos de difusión de discos lo cual se determinó y recolecto los datos utilizando el programa Excel 2013. Según los resultados se observaron halos de inhibición formados por el efecto del extracto hidroalcohólico en diferentes grupos. En el grupo de concentración al 25% se observa un promedio de (7.1 mm) a diferencia al 75% de concentración se observa (13.05) mm y también se desarrolló con una concentración al 100% con una medida de 15.25 mm, diferenciados entre cada grupo significativamente mediante la prueba ANOVA ($p < 0,05$). En la comparación de grupos por T-Student existe una diferencia significativa entre ellos, siendo la concentración al 100% con mayor efecto antimicótico. Se concluyó que el extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) presentó efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

Palabras clave: Extracto hidroalcohólico, efecto antimicótico, inhibición.

ABSTRACT

The present research work was carried out with the objective of determining the in vitro antifungal effect of the hydroalcoholic extract of *Allium sativum* (garlic) against *Candida albicans*. The research was longitudinal and experimental explanatory level. We worked with 25 plates with cultures of microorganisms divided into 5 groups: blank group, control or pharmacological group (fluconazole 25ug), experimental group at 25%, 75% and 100%. It was carried out by means of disc diffusion methods, which was determined and the data was collected using the Excel 2013 program. According to the results, inhibition halos formed by the effect of the hydroalcoholic extract were observed in different groups. In the 25% concentration group, an average of (7.1 mm) is observed, as opposed to the 75% concentration, (13.05) mm is observed and it also developed with a 100% concentration with a measurement of 15.25 mm, differentiated between each group significantly by ANOVA test ($p < 0.05$). In the comparison of groups by T-Student, there is a significant difference between them, the concentration being 100% with the greatest antifungal effect. It was concluded that the hydroalcoholic extract of *Allium sativum* (garlic) had an antifungal effect against *Candida albicans*.

Key words: Hydroalcoholic extract, antifungal effect, inhibition.

CONTENIDO

EQUIPO DE TRABAJO	i
JURADO EVALUADOR DE TESIS	ii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
INDICE DE FIGURAS	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	5
2.1 Antecedentes	5
2.2 Bases teóricas de la investigación	9
III. HIPOTESIS	14
IV. METODOLOGIA	15
4.1 Diseño de la investigación	15
4.2 Población y muestra	17
4.3 Definición y operacionalización de las variables	18
4.4 Técnicas y métodos de recolección de datos	19
4.5 Plan de análisis	22
4.6 Principios éticos	22
4.7 Matriz de consistencia	24
V. RESULTADOS	25
VI. ANALISIS DE RESULTADOS	27
VII. CONCLUSIONES	31
RECOMENDACIONES	32
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	33
ANEXOS	41

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) en cepas ATCC 10231 de *Candida albicans*.....24

Tabla 2: Comparación del efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) en cepas ATCC 10231 de *Candida albicans*.....25

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Extracto hidroalcohólico.....	40
Fig. 2. Sembrado de la cepa <i>Candida albicans</i>	41
Fig. 3. Cultivo de la cepa <i>Candida albicans</i>	42

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales, desde un inicio han ocupado un lugar privilegiado como agentes terapéuticos. En el siglo VI a. c. por la colección de obras atribuidas a Hipócrates, se hace la clasificación de agentes terapéuticos que son de origen animal, vegetal y por ultimo mineral. Los de origen animal por la semejanza y similitud con la naturaleza del cuerpo humano tendrían una acción muy fuerte, por lo tanto los de origen mineral seria lo contrario por la gran diferencia al ser humano tendrían un menor acción. Mientras que los de origen vegetal son seres vivos pero con una diferencia a la naturaleza humana y por lo cual son indicados para actuar sobre las patologías ⁽¹⁾.

Es importante conocer cada especie de las plantas medicinales para su utilización, la forma de extracción, preparación y sobre todo la dosificación. En las plantas medicinales con cada compuesto tienen un efecto sinérgico, por lo tanto en combinaciones de dos a más especies es una condición útil para presentar efectos beneficiosos para actuar en las enfermedades ⁽²⁾.

En la humanidad uno de los puntos más importantes es de gozar una buena salud, por lo cual tendrían que haber un control de dichas y multitudes de enfermedades que van cada día evolucionando, como también apareciendo nuevas patologías que son a las veces incontrolables. Para ello desde inicios se viene utilizando diversos recursos que ofrece la naturaleza como las plantas medicinales. Estos tipos de recursos no

solo ofrecen el alimento sino también remedios, antídotos contra dichas patologías de cualquier tipo y magnitud ⁽³⁾.

Una de las plantas medicinales que ha sido utilizado en tiempos ancestrales, y sobre todo para multitudes de malestares como las hemorroides, reumatismo, dolores abdominales e incluso variedades de infecciones. El ajo unos de los productos con mucha mayor exportación y consumo en los seres humanos, se ha usado en diferentes países para aliviar molestias sobre infecciones. Ha este vegetal se ha descubierto propiedades medicinales, anti protozoarias, antibacteriano y antifúngico. Actualmente hay un interés en el ajo como un agente antimicótico. Se ha demostrado que el extracto de ajo es efectivo en hongos patógenos, especialmente en *Candida albicans* ⁽⁴⁾.

La *Candida albicans* son hongos que mayormente se localiza en la boca de individuos sanos y como tales se le considera residentes normales de la microflora oral, es decir existen pero no causan daño en las mucosas (membranas), orejas, ojos, tracto gastrointestinal, heces, vagina, cavidad oral, etc. Se le identifica como un hongo o flora normal. Pero si ocurre un desequilibrio que lleva a un crecimiento excesivo se convierte en una micosis. Se considera un de las especies más infecciosa en la cavidad oral. Se ha reportado que un 30% al 50 % de las personas llevan consigo este organismo ⁽⁵⁾.

Los estudios realizados hasta el momento demuestran que cada especie vegetal del genero *Allium*, especialmente el AJO presentan variedad de acción frente a bacteria Gram + y Gram -. La presente investigación es de suma importancia porque busca nuevos aporte sobre *Allium sativum*, más conocimientos que puedan completar el amplio estudio e investigación sobre este vegetal de suma importancia para la población beneficiándoles en los problemas de salud que puedan presentar. De esta manera incentiva a más profesionales e investigadores, continuar con más estudios sobre los principios activos de cada variedad de este vegetal como el ajo.

Por lo citado anteriormente, el presente trabajo de investigación se procura conocer si el extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo), tiene efecto antimicótico en diferentes concentraciones sobre la cepa *Candida albicans* ATCC 10231, dicho microorganismo que afecta mayormente a la población, mediante infecciones bucales e vaginales. Por lo cual se formuló la siguiente pregunta, ¿Presenta mayor efecto antimicótico in vitro de extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) sobre *Candida albicans*?

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto antimicótico in vitro de extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

OBJETIVO ESPECIFICO

Determinar cuál es la concentración de mayor actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico sobre el crecimiento in vitro de *Candida albicans* ATCC 10231.

Comparar el efecto antimicótico in vitro de los extractos hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre *Candida albicans* utilizando el grupo farmacológico.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Antecedentes

Pantoja et al., en el 2011 en Perú examinaron el Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal. El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto antimicrobiano y antifúngico del extracto de *Allium sativum* frente a las cepas ATCC de *S.mutans*, *Capnocytophaga sputigena*, *Lactobacillus casei* y *C. albicans* a diversas concentraciones. El extracto se obtuvo por el proceso de maceración, utilizando el ciprofloxacino, fluconazol y alcohol. Los resultados fueron: La concentración antimicrobiana frente al *Capnocytophaga sputigena*, *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*, fue de 120mg/mL, teniendo como referencia al estándar al ciprofloxacino a una concentración de 4mg/ml y fluconazol a una concentración de 2mg/ml. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* presentó efecto antimicrobiano frente a la cepa ATCC de *S. mutans*, *Capnocytophaga sputigena*, y *C. albicans* a excepción de *Lactobacillus casei* que presentó resistencia (11).

Sánchez et al., en el 2016 en Trujillo analizaron el Efecto antimicótico in vitro de la solución de ajo (*Allium sativum*), la avena coloidal (avena sativa) versus el Clotrimazol sobre cultivos de *Candida albicans* (ATCC 10231). El objetivo de presente estudio es probar el efecto antimicótico in vitro de la solución de ajo (*Allium sativum*), la avena coloidal (Avena sativa) versus el Clotrimazol en el crecimiento de cepas de *Candida albicans*. Métodos: Se realizó un estudio experimental in vitro, de

corte transversal donde se probó la eficacia antimicótica de la solución de ajo y la avena coloidal, en comparación con el Clotrimazol frente al crecimiento de *Candida albicans*. Resultados: Se evidencia la eficacia de la solución de ajo del 40% al 90%, siendo este último, de similar eficacia que el Clotrimazol de 500mg. Conclusiones: Se demuestra la efectividad antimicótica de la solución de ajo y el Clotrimazol sobre cepas de *Candida albicans*⁽¹²⁾.

Laguna et al., en el 2016 en Lima examinaron el Efecto Inhibidor del Extracto Hidroalcohólico del *Allium Sativum* (ajo) a Diferentes concentraciones en Comparación al Perio-aid® Frente a Cepas de *Streptococcus Mutans*. Estudio In Vitro. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto inhibidor del extracto hidroalcohólico del *Allium sativum* (ajo) en comparación al PERIO-AID® frente a cepas *Streptococcus mutans*. La muestra estuvo conformada por 40 placas Petri con Agar Mueller-Hinton, donde se hicieron 8 pozos de 6mm. De diámetro y se vertieron 80 µl. del extracto hidroalcohólico del *Allium sativum* (ajo) en sus distintas concentraciones, PERIO-AID® y agua destilada. Para determinar el efecto inhibidor, se midió el diámetro de los halos de inhibición con un calibrador vernier a las 24 y 48 horas. Se utilizaron las pruebas de T-student, Anova y Tukey para el análisis de los resultados demostrando que el PERIO-AID® con halos de inhibición de 18,4 mm. A las 24 horas y 18,1 mm. A las 48 horas. Se concluye que el extracto hidroalcohólico del *Allium sativum* (ajo) posee efecto inhibidor sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) al cabo de 24 y 48 horas y el extracto hidroalcohólico del *Allium sativum* (ajo) al 12 mg/ml. tiene menor efecto inhibidor⁽¹³⁾.

Mamani et al., en el 2014 en Juliaca investigaron el Efecto in vitro del ajo (*Allium sativum*) liofilizado, sobre la *Candida albicans* sp. Se obtuvieron 15 muestras de *Candida albicans* sp. Se utilizó el ajo liofilizado variedad Napuri, teniéndose en cuenta que la cantidad de alicina por cada gramo de ajo es 9mg. Posteriormente se procedió a hacer el sembrado de las 15 muestras en agar Sabouraud con la finalidad de encontrar los diámetros y así poder hallar la Concentración Óptima CO mediante la prueba de Bauer Kirby. En dicho procedimiento se encontró que la concentración mínima inhibitoria CMI produjo un halo de inhibición de promedio de 7.3mm siendo la concentración de ajo 25mg/ml. La concentración mínima letal CML, produjo un halo de inhibición promedio de 11.6 mm y una concentración de 50mg/ml de solución de ajo. Además se determinó la concentración óptima CO fue 200mg/ml y un halo promedio de 31.3mm. Concluyendo así que el ajo liofilizado tiene actividad antifúngica “in Vitro” frente a la *Candida albicans* sp, debido a los resultados analizados al final de la investigación ⁽¹⁴⁾.

Camacho et al., en el 2011 en Bolivia se examinó la Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del ajo (*Allium sativum*) contra *streptococcus pyogenes* mediante el método por dilución. Se determinara la actividad antibacteriana del ajo contra el *Streptococcus Pyogenes*. Para obtener el macerado de ajo (*Allium sativum*) se utilizaron 3 tipos de solventes de distinta polaridad como son: agua destilada estéril, éter de petróleo 60-80 °C y etanol 96°C. Se utilizó ajo (*Allium sativum*) de la variedad colorada y el antibiótico bacitracina para la verificación del *Streptococcus pyogenes* y su respectiva comparación con los extractos de ajo en los diferentes

solventes. La actividad antibacteriana In vitro del ajo (*Allium sativum*) se realizó sobre la cepa ATCC 19615 de *Streptococcus pyogenes*. Se obtuvo que el extracto etílico demuestra que la concentración mínima inhibitoria que tiene el extracto es de 12 mg/ml ya que a concentraciones menores existe desarrollo del *Streptococcus pyogenes* ⁽¹⁵⁾.

Lora et al., en el 2010 en Trujillo investigaron el Efecto in vitro de diferentes concentraciones de *Allium sativum* “ajo” frente a dermatofitos y *Candida albicans*. El presente trabajo estuvo orientado a investigar sí *Allium sativum* “ajo” en su forma liofilizada posee efecto antimicótico in vitro sobre dermatofitos y *Candida albicans*. Se emplearon un total de 30 cultivos puros de los cuales 07 correspondieron a *Trichophyton mentagrophytes*, 04 a *T. rubrum*, 04 a *Microsporium canis* y 15 a *Candida albicans*. Las pruebas de sensibilidad se realizaron usando el método de difusión en agar (MDA) y el método de dilución en tubo. Los resultados indican que para el caso de dermatofitos por el MDA se logra inhibición entre 300 a 400 ug de ajo liofilizado, una concentración mínima inhibitoria (MCI) de 500 ug/mL y un efecto fungicida de 1000 ug/mL. En el caso de *Candida albicans* por el MDA. Se obtuvo un mayor diámetro de inhibición entre 4000 a 5000 ug, una MCI de 2500 ug/mL y un efecto fungicida de 5000 ug/mL. Estos resultados podrán ser utilizados en la realización de estudios in vivo que corroboren las propiedades medicinales que se le atribuyen al ajo ⁽¹⁶⁾.

2.2 Bases teóricas de la investigación

Fitoterapia

Fito a planta, terapia a estudios, la fitoterapia es una ciencia que analiza y sobre todo estudia las plantas, para hacer productos vegetales que se utilizan para prevenir, curar y tratar enfermedades ⁽¹⁷⁾.

Plantas medicinales

Las plantas medicinales son aquellos que contienen sustancias que pueden ser utilizados con finalidad terapéutica o preventiva o como precursoras de otras sustancias que pueden ser utilizados con los mismos fines ⁽¹⁷⁾.

Droga vegetal

Una droga es cualquier componente ya sea natural o sintético que cambia la condición fisiológica de un ser vivo o parte de la planta medicinal de la que se extraen los principios activos para poder ser utilizados en terapéutica ⁽¹⁷⁾.

Principio activo

Las plantas medicinales contienen su principio activo que son sustancias químicas que se encuentran en determinadas partes u órganos del vegetal y que son responsables de su acción farmacológica ⁽¹⁷⁾.

Extracto

El beneficio firme o apelmazado logra una ebullición de extracto o una separación de esencia vegetal o animal. El principio se extrae por maceración de la planta en agua o solución alcohólica y posteriormente se concentra por evaporación hasta obtener el extracto ⁽¹⁸⁾.

Extracto hidroalcohólico

Un extracto hidroalcohólico se prepara con alcohol de 96°C, plantas o zumos que pueden ser utilizados como fungicidas e insecticidas de acuerdo a la planta que se utiliza. La principal función del alcohol es extraer esencias o las propiedades de la planta estudiada ⁽¹⁸⁾.

Allium sativum

Definición

El ajo su nombre científico es *Allium sativum*, la palabra *Allium* procede de All, que tiene como significado “ardiente”, y *sativum* tiene significado de “cultivado”. El ajo es utilizado a nivel mundial como hierba increíble en la utilidad de la medicina natural. Tiene el efecto de curar diferentes patologías como infecciones de garganta. ^(18,19).

Habitad

El *Allium sativum* (AJO) se cultiva en todo el mundo y en las regiones de clima cálido o templado. En el Perú en la zona sierra, y se utiliza como condimento o legumbre ⁽²⁰⁾.

Descripción botánica

El ajo tiene una descripción muy compleja, un tallo floral liso, con una altura de 30 a 80 cm dependiendo de la especie, crece a partir del bulbillo central. Enrollado por una vaina papirácea que enreja un número variable de bulbillos y finalmente con una umbela cubierta por un espato blanco, largo y puntiagudo. En la zona de las flores, la totalidad de las veces estériles, se manifiestan delicadas, de color blanco, rosa y verdáceo de seis pétalos. La floración tiene lugar en julio y agosto ⁽²⁰⁾.

Composición química

La composición química de *Allium sativum* contiene varios compuestos, uno de ellos son los azufrados que se encuentra: alixina, alicina, aliina, ajo en, adenosina, alil metano tiosulfonato, dialil disulfuro, dialil trisulfuro, alil metil trisulfonato, S-alil mercaptocisteina, 2-vinil-4H-1,2-ditiina y 5-alilcisteina. También obtienen hormonas similares a la acción de las hormonas sexuales masculinas y femeninas. Otros como fermentos, colina, ácido hidrorodanico y yodo. En el ajo también se encuentra algunos aminoácidos los cuales son: ácido aspártico, asparagina, alanina, arginina, histidina, metionina, fenilalanina, leucina, serina, treonina, prolina, trisptofano y valina ⁽¹⁹⁾.

Propiedades terapéuticas

El ajo es un depurativo que permite eliminar toxinas del organismo, como también es un regenerador de la flora intestinal. Mejora la circulación por que es altamente anticoagulante. Ayuda a bajar los niveles de colesterol los LDL y evita cualquier problema cardiaco, es recomendable para el tratamiento de infecciones respiratorias o resfríos, es un expectorante, antioxidante que estabiliza los niveles de glucosa, permite regular problemas con el hipotiroidismo ⁽²¹⁾.

Candida albicans

Definición

La *Candida albicans* es un hongo dimorfo, es decir crece de manera diferente por su grado de temperatura y desarrollo, como levadura, usualmente a 37°C, siendo de aspecto filamentoso a 25°C en el ambiente pertenece a filo ascomycota y se desarrolla de manera asexual por gemación ⁽²²⁾.

Genoma

Es una levadura diploide, con una fase haploide no descubierta hasta el momento y por un largo tiempo fue considerado asexual. Su genoma está organizado en ocho pares de cromosomas, llamados históricamente del 1 al 7 y R, con 32 Mb y contiene en total 12405 ORF's (open reading frames). Estudios actuales han demostrado que el genoma de *Candida albicans* muestra un alto grado de plasticidad. Es importante destacar que la capacidad de *Candida albicans* de someterse a reordenamientos del genoma y su aparente tolerancia a tales cambios puede ser crítico para su

supervivencia después de la exposición a las condiciones cambiantes, tales como tratamientos anti fúngicos ⁽²³⁾.

Etiopatogenia

El origen de la candidemia ocasionada por *Candida albicans* es principalmente endógeno, previamente colonizada la piel o las mucosas, pero también se puede transferir a través de material contaminado, personal sanitario o a través de otros pacientes ⁽²⁴⁾.

Mecanismos de virulencia

Candida albicans un microorganismo con mucha destreza para sobrevivir comensal, se une a células del hospedero, excreta enzimas degradativas y lo más importante su alteración morfológica papel principal en cada tipo de infección por este hongo ⁽²⁵⁾.

Inmunidad contra el Virus de Inmunodeficiencia Adquirida (VIH)

Una de las patologías más común es la candidiasis oral que es frecuentemente uno de los principales síntomas de la infección por VIH, y dentro de ellos encontramos varios agentes que están relacionados a su aparición. Está comprobado que es cada vez más usual la aparición de candidiasis a medida que la patología crece ⁽²⁶⁾.

Los pacientes que están infectados por el VIH con inmunodepresión y candidiasis resistente al tratamiento, fluconazol puede causar mayor efectividad en la profilaxis de recaídas. Pero generalmente en el uso extenso de fluconazol se encuentra la resistencia a este medicamento ⁽²⁶⁾

III. HIPOTESIS

Hipótesis Alternativa (H1):

El *Allium sativum* (AJO) tiene mayor efecto antimicótico in vitro frente a fluconazol en cepas *Candida albicans* ATCC 10231.

Hipótesis Nula (H₀):

El *Allium sativum* (AJO) no tiene mayor efecto antimicótico in vitro frente a fluconazol en cepas *Candida albicans* ATCC 10231.

IV. METODOLOGIA

4.1 Diseño de la investigación

El presente trabajo corresponde a una investigación de tipo experimental, corte longitudinal y nivel explicativo, por lo tanto se agruparon diferentes grupos:

Grupo Control Negativo

Se utilizaron 5 placas Petri con medio Agar Sabouraud (25 ml) y el cultivo de *Candida albicans* ATCC 10231. Se realizó por el método de difusión en agar (método kirby-bauer). Se colocaron 4 discos con solución salina fisiológica, sobre estos discos se aplicó un solvente (20 ul de solución suero fisiológico). El tiempo de incubación fue de 24h a una temperatura de 35°C, donde posteriormente se realizó la lectura de los cultivos.

Grupo Estándar Farmacológico

Se utilizaron 5 placas Petri con medio Agar Sabouraud (25 ml) y el cultivo de *Candida albicans* ATCC 10231. Se realizó por el método de difusión en agar (método kirby-bauer). Se colocaron 4 discos de fluconazol con un diámetro de 6 mm. El tiempo de incubación fue de 24h a una temperatura de 35°C, donde posteriormente se realizó la lectura de los cultivos.

Grupo Experimental 1

Se utilizaron 5 placas Petri con medio Agar Sabouraud (25 ml) y el cultivo de *Candida albicans* ATCC 10231. Se realizó por el método de difusión en agar

(método kirby-bauer). Se colocaron 4 discos, sobre estos discos se empleó el extracto hidroalcohólico de *Allium Sativum* (ajo) con una concentración de 25%. El tiempo de incubación fue de 24h a una temperatura de 35°C, donde posteriormente se realizó la lectura de los cultivos.

Grupo Experimental 2

Se utilizaron 5 placas Petri con medio Agar Sabouraud (25 ml) y el cultivo de *Candida albicans* ATCC 10231. Se realizó por el método de difusión en agar (método kirby-bauer). Se colocaron 4 discos, sobre estos discos se empleó el extracto hidroalcohólico de *Allium Sativum* (ajo) con una concentración de 75%. El tiempo de incubación fue de 24h a una temperatura de 35°C, donde posteriormente se realizó la lectura de los cultivos.

Grupo Experimental 3

Se utilizaron 5 placas Petri con medio Agar Sabouraud (25 ml) y el cultivo de *Candida albicans* ATCC 10231. Se realizó por el método de difusión en agar (método kirby-bauer). Se colocaron 4 discos, sobre estos discos se empleó el extracto hidroalcohólico *Allium Sativum* (ajo) con una concentración de 100%. El tiempo de incubación fue de 24h a una temperatura de 35°C, donde posteriormente se realizó la lectura de los cultivos.

4.2 Población y muestra

La planta de *Allium Sativum* (ajo) que se encuentran en la ciudad de Huamachuco bajo provincia Sánchez Carrión departamento La Libertad.

Muestra:

Ajos (*Allium Sativum*).

Criterios de inclusión: Ajos sanos, frescos, completas recién recolectadas. Con ausencia de oxigenación y se cortaran a mano.

Criterios de exclusión: Se rechazaron aquellos ajos (pequeños) o envejecidos, secos o enmohecidos, así mismo se evitara recoger hojas o flores u otros partes de la planta, deformadas, parasitadas. Evitando la manipulación excesiva de la muestra.

Material biológico

El material biológico estuvo constituido por la bacteria *Candida albicans* ATCC 10231. La cual se expuso a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico obtenido de *Allium Sativum* (ajo).

Criterios de inclusión: Cepa de una sola especie y se utilizaron bacterias jóvenes.

Criterios de exclusión: No se utilizaran bacterias que no sean morfológicamente iguales. No se utilizarán cepas que presenten contaminantes.

4.3 Definición y operacionalización de las variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
Variable dependiente: Efecto antimicótico sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Es el cambio inusual o susceptibilidad que presenta dicho microorganismo frente a un principio activo sea vegetal o químico.	Se determinó por los halos de inhibición.	Mediante la medición de los halos de inhibición por diámetros.	Variable cuantitativa de razón.
Variable independiente: Extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i>	Es la extracción del compuesto llamado droga o principio activo de un vegetal.	Se utilizaron concentraciones diferentes del extracto.	Las concentraciones al 25%, 75% y 100 %.	Variable cualitativa nominal.

4.4 Técnicas y métodos de recolección de datos

Recolección de *Allium sativum* (ajo):

El *Allium sativum* (ajo) fueron recolectadas de las plantaciones de la ciudad de Huamachuco bajo provincia de Sánchez Carrión departamento La Libertad en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

Técnicas de preparación de extracto hidroalcohólico

La preparación de extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) se llevó a cabo por el método de maceración, el método empleado por maceración fue de (Sharapin 2000) fundamentos de tecnología de productos Fitoterapéuticos, donde dos envases estéril de vidrio ámbar de boca ancha de 1 litro de capacidad, se colocaron 250g de ajo triturado y en el segundo envase 250.07 g. Luego se añadió alcohol de 96^a cantidad suficiente hasta cubrir 2 cm de altura. Se mezcló bien teniendo en cuenta que debe ocupar como máximo las $\frac{3}{4}$ partes del recipiente. Al final se cubrió el recipiente y se macero en ausencia de luz por 7 días, agitándose 10 minutos, dos veces al día ⁽²⁶⁾.

Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el líquido al vacío con papel de filtro whatman N° 1. Al líquido filtrado se le denominó extracto etanólico. A continuación, para tener la concentración inicial del extracto fue obtenido por la técnica del peso seco, se tomó una alícuota de 1ml del extracto etanólico en una luna de reloj, la cual fue pesada la luna de reloj en una balanza analítica, luego se colocó en baño maría

con el propósito de eliminar la fase líquida para obtener una fase sólida, después de obtener previamente lo dicho se pesó para el análisis de la concentración del extracto, restando el peso inicial (luna de reloj sola) y la luna con el extracto seco. Finalmente, mediante esta técnica se obtuvo el extracto seco de 54mg/ml de *Allium sativum*. A partir de este extracto seco se prepararon las concentraciones de; 25mg/ml; 75mg/ml y 100mg/ml peso/volumen con etanol al 96% ⁽²⁸⁾.

Luego cada concentración de extracto fue esterilizado por filtración con membrana. Finalmente, las concentraciones preparadas, del extracto etanólico, se colocaron en viales ámbar y fueron almacenadas a 4 °C hasta su posterior utilización.

Preparación de la cepa

En el cultivo de la cepa *Candida albicans* ATCC 10231, se utilizó el medio de Agar Sabouraud dextrosa más cloranfenicol, incubado a 35° por 24 horas, con el objetivo de obtener colonias del hongo rejuvenecidos ⁽²⁸⁾.

Preparación del inóculo

Se trasladó colonias de la cepa *Candida albicans* a un tubo de ensayo, luego se diluyó en una solución salina estéril (5ml), hasta alcanzar una turbidez similar al tubo de Mac Farland cuya concentración es equivalente a 1.5×10^6 UFC/ml.

Sembrado de la cepa

Se agregó 100µl del inóculo en la placa, por consiguiente se utilizó un hisopo estéril, la cual fue embebido para luego hacer el sembrado sobre la superficie del Agar Sabouraud, girando la placa Petri en 3 direcciones⁽²⁸⁾.

Técnica de medición de halos de inhibición:

Aplicación de discos, se colocó los discos individuales o multidisco sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril o la punta de una aguja presionando suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar. Distribuir los discos uniformemente, de modo que estén a una distancia mínima de 25 mm uno del otro (el diámetro de los discos según las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) debe ser de 6 mm). Un disco no debe ser removido una vez que tomó contacto con la superficie del agar debido a que algunos antimicrobianos se difunden rápidamente, se colocó 4 discos por placa, se agregó 20µl de extracto hidroalcohólico en concentraciones de 25mg/ml, 75mg/ml y 100mg/ml. En el grupo farmacológico se utilizó 25 µg/ disco de fluconazol, un grupo control con suero salino fisiológico. Finalmente se trasladado a la incubación (INCUCCELL AISI 304) a 35°C por 24 horas, la lectura de los halos fue en milímetros, por lo cual se utilizó un calibrador Vernier y se determinó el efecto antimicótico según la Escala de Duraffourd^(23, 29).

Escala de Duraffourd:

Según esta escala utilizada se puede determinar de manera cualitativa la actividad antimicrobiana, basada en los diámetros del halo de inhibición ^(29,30).

- ✓ Para un diámetro inferior a 8 mm, se le considera, Nula (-).
- ✓ Para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm, se lo define como (sensible = +).
- ✓ Un diámetro entre 14 y 20 mm, se le considera, Medio (muy sensible =++).
- ✓ Un diámetro superior a 20 mm es sumamente sensible (+++).

4.5 Plan de análisis

Análisis de recolección de datos: Para el análisis y tabulación de datos recolectados se utilizara el programa Excel 2013 los cuales serán procesados a través del paquete estadístico IBM-SPSSversión22.0 Microsoft Excel. Donde se encuentran las pruebas estadísticas TStudent para dos grupos y el análisis de varianza ANOVA para la comparación de varios grupos (grado de confianza 95% - $\alpha \leq 0.5$). Los resultados que se obtendrán de los grupos de estudios serán presentados en tablas ⁽²⁴⁾.

4.6 Principios éticos

En la presente investigación, se tuvo presente las normas de bioseguridad en laboratorio, garantizando la correcta manipulación del microorganismo desde la recepción hasta la culminación de la investigación. También se tuvo presente los principios éticos descritos en el código de Ética para la investigación, versión 001 de la ULADECH, tales como: Justicia : El investigador debe ejercer un juicio razonable,

ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos, y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas. Integridad científica: La integridad o rectitud deben regir no sólo la actividad científica de un investigador, sino que debe extenderse a sus actividades de enseñanza⁽²¹⁾.

4.7 Matriz de consistencia

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación – diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
“EFECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>Allium sativum</i> (ajo) SOBRE <i>Candida albicans</i> EN CEPAS DE <i>Candida albicans</i> ”	¿Cuál es el efecto antimicótico in vitro de extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> (ajo) sobre <i>Candida albicans</i> .	<p>a) Objetivo general: Determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> (ajo) frente a <i>Candida albicans</i></p> <p>b) Objetivo específico -Determinar cuál es la concentración de mayor actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico sobre el crecimiento in vitro de <i>Candida albicans</i>.</p> <p>-Comparar la actividad antimicótica de <i>Allium sativum</i> (ajo) frente a fluconazol en cepas de <i>Candida albicans</i>.</p>	<p>Hipótesis Alternativa (H₁): El <i>Allium sativum</i> (ajo) posee efecto antimicótico in vitro frente a fluconazol en cepas de <i>Candida albicans</i>.</p> <p>Hipótesis Nula (H₀): El <i>Allium sativum</i> (ajo) no posee efecto antimicótico in vitro frente a fluconazol en cepas de <i>Candida albicans</i>.</p>	Experimental, de enfoque cuantitativo y corte Transversal.	<p>Variable Independiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> (ajo) <p>Variable Dependiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Efecto antimicótico. 	<p>-Es el Producto que se obtuvo mediante la Extracción de las hojas de <i>Allium sativum</i> (ajo).</p> <p>-Es obtenido mediante la medición de los diámetros del halo de inhibición.</p>	<p>Grupo experimental 1 (25mg/ml)</p> <p>Grupo experimental 2 (75mg/ml)</p> <p>Grupo experimental 3 (100mg/ml)</p> <p>Grupo control negativo. (0mg/ml)</p> <p>Grupo control estándar Fluconazol (25µg/disco)</p> <p>Variable cualitativa Nominal. Mm (milímetros)</p> <p>Variable cuantitativa de razón.</p>	Pruebas paramétricas de ANOVA y TSTUDENT para el análisis de los Resultados.

V. RESULTADOS

Tabla 1. Efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 a 24 horas.

GRUPOS	Halos de inhibición en mm. X ± D.S.	Significancia P ANOVA
Blanco (S.S.F)	6.0 ± 0.0	0.000*
Estándar (fluconazol 24ug)	29.85 ± 2.5	
E.H. <i>Allium sativum</i> 25%	7.1 ± 0.6	
E.H. <i>Allium sativum</i> 75%	13.05 ± 1.5	
E.H. <i>Allium sativum</i> 100%	15.25 ± 1.9	

*(P<0.005).

Leyenda:

X: promedio

DS: Desviación estándar

Tabla 2. Comparación del efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) en cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 a 24 horas.

GRUPOS	Comparación de tamaños de halos		Significancia valor P
	X ± D.S.		T Student
G. ESTÁNDAR			
(Fluconazol 25ug) vs E.H. <i>Allium sativum</i> 25%	29.85±7.1	2.5±0.6	0.000
G. ESTÁNDAR			
(Fluconazol 25ug) vs E.H. <i>Allium sativum</i> 75%	29.85±13.05	2.5±1.5	0.010
G. ESTÁNDAR			
(Fluconazol 25ug) vs E.H. <i>Allium sativum</i> 100%	29.85 ± 15.25	2.5±1.9	0.018

*(P<0.005).

Leyenda:

X: promedio

DS: Desviación estándar

VI. ANALISIS DE RESULTADOS

En el presente trabajo se ha observado las concentraciones bacterianas empleadas a través del patrón de turbidez de Mac Farland, se presentaron resultados consistentes, sin las enormes variaciones en los resultados reportados en estudios similares realizados con anterioridad. Por lo tanto los datos obtenidos para el efecto del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre *Candida albicans*, se evidencio una diferencia significativa con respecto a los halos inhibición.

En el grupo blanco se observó que no hubo inhibición, la medida que se observó solo fue 6 mm medida correspondiente del disco. Por lo tanto en grupo farmacológico con fluconazol se observó la presencia de sensibilidad a través de los halos de inhibición de 29.85mm una gran significancia para este grupo por ser farmacológico, como sabemos el fluconazol es un antimicótico de primera línea para tratar problemas de micosis u hongos.

En los grupos experimentales con el extracto de *Allium sativum* a diferentes porcentajes y/o concentraciones de 25%, 75%, 100%, se observó significativamente diferencias de halos de inhibición. En el grupo de concentración al 25% se observó halos de inhibición, pero en pequeñas medidas de 7.1mm, por lo tanto en concentraciones de 75% se observó halos de inhibición de 13.05 mm lo que significa un mayor efecto antimicótico.

Por último se analizó en una concentración de 100% para verificar a que grado de inhibición presenta el extracto hidroalcohólico de *Allium sativum*, con los resultados obtenidos se presentó mayor potencial inhibitorio, se observó diámetro de 15.25mm de forma regular concluyendo su estado antimicótico frente a la cepa de *Candida albicans*.

Con base en los resultados obtenidos, en la tabla 1 se observa los promedios y desviación estándar de cada grupo, en diferentes porcentajes del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum*, también se observa la significancia entre los grupos utilizando la prueba paramétrica ANOVA, donde se compara los grupos de estudios, mostrando una significancia de 0.000, lo que significa que el valor P es menos a (0.05), por lo tanto existe una gran diferencia estadísticamente entre los grupos.

Con respecto a la tabla 2, se realizó el análisis estadístico con la prueba T-STUDENT, se estima que el valor $P < 0.05$, por lo que se observó que en la concentración de 75mg/ml muestra diferencias significativas en comparación con el fluconazol, también se muestra diferencias entre la concentración 100mg/ml y el compuesto farmacológico fluconazol. Por lo tanto estas dos últimas concentraciones muestra estadísticamente diferencias significativas, en efecto el extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) presento efecto antimicótico contra al fluconazol frente en cepas de *Candida albicans*.

Mamani et al., en el 2014 en Juliaca investigaron el Efecto in vitro del ajo (*Allium sativum*) liofilizado, sobre la *Candida albicans*, con la cantidad de alicina por cada gramo de ajo 9mg. En dicho procedimiento se encontró que la concentración mínima inhibitoria CMI produjo un halo de inhibición de promedio de 7.3mm siendo la concentración de ajo 25mg/ml. La concentración mínima letal CML, produjo un halo de inhibición promedio de 11.6 mm y una concentración de 50mg/ml de solución de ajo. Además se determinó la concentración óptima CO fue 200mg/ml y un halo promedio de 31.3mm. En la presente investigación se trabajó con diferentes concentraciones de 25mg/ml con un resultado de 7.1mm de halos de inhibición, según Mamani et al, obtuvo un resultado similar, a diferencia en otras concentraciones, en 75mg/ml se obtuvo 13.05mm, según el estudio realizado por Mamani et al, obtuvieron un halo de inhibición en concentración 50mg/ml de 11.6mm, y después en concentración de 200mg/ml con una medida de 31.3mm, en la investigación solo se trabajó hasta 100mg/ml con una medida de 15.25mm, la discrepancias que existe entre las medidas de los halos de inhibición, está relacionado en las concentraciones utilizados en las diferentes investigaciones ⁽¹⁴⁾.

Según las investigaciones de diversos autores el efecto antimicótico de *Allium sativum*, la acción antimicrobiana de ajo es bien conocida, el diente de ajo posee un compuesto sulfurado denominado alicina (5-alil-L-cisteina sulfóxido), según estudios se ha demostrado que este compuesto tiene un amplio espectro de actividad antibacteriana contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Se estableció que el extracto de alcohol etílico que aparecen las propiedades de la mayoría de los antimicrobianos. Este destilado, thiosulfinate dialilo, llamaron a la alicina. Las

propiedades más resaltantes antimicrobiana frente a *Candida albicans* es la sensibilidad, este hongo es muy sensible al ajo, disminuyendo el consumo de oxígeno, reduciendo el crecimiento del organismo e inhibiendo la síntesis de lípidos, proteínas y ácidos nucleico, que ocasionan daños a nivel de la membrana de estos organismos patógenos ⁽¹⁰⁾.

Su principal efecto antimicrobiano de este compuesto, se debe a su reacción química con los grupos tiol de las enzimas diferentes. La susceptibilidad al ajo puede depender de diferentes estructurales de las cepas bacterianas. Los polisacáridos y lípidos contenidos en la pared celular tienen un efecto sobre la permeabilidad de la alicina y otros constituyentes de ajo lo que puede ser responsable de la diferencia en la susceptibilidad al ajo, entre las bacterias Gram positivas y Gram negativas ⁽²⁷⁾.

VII. CONCLUSIONES

- El extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (AJO) presento efecto antimicótico contra la cepa *Candida albicans* ATCC 10231.

- Se determinó las concentraciones, donde al 75% se observa la actividad antimicótica y al 100% se presentó una mejor actividad frente a la cepa *Candida albicans*. La inhibición que se presentó en los tres grupos farmacológicos, indico que a medida que aumenta la concentración de *Allium sativum* el crecimiento del microorganismo *Candida albicans* es afectado como se confirma en la presente investigación.

- Se comparó la actividad antimicrobiana, resultando que ha concentración de 100% de extracto hidroalcohólico *Allium sativum*, mayor cantidad antimicótica frente a cepas *Candida albicans* ATCC 10231.

RECOMENDACIONES

Sería recomendable ver la acción del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* frente a otros microorganismos para ver su actividad o resistencia microbiana. Además realizar otros tipos de estudios al *Allium sativum* por su variedad de especies.

Los estudios de este tipo siempre generan inquietudes de diversa índole, las cuales pueden ser tema de trabajo de estudios posteriores. Algunos de ellos pueden estar orientados a comparar los resultados en condiciones in vitro con los resultados in vivo. Otros pueden incluir bacterias emergentes como *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* y *Campylobacter jejuni* y otros tantos orientados hacia la determinación de la concentración mínima inhibitoria de extractos con resultados verificados.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Salaverry O. PLANTAS MEDICINALES Y MEDICINA MODERNA. Director General Centro Nacional de Salud Intercultural - INS Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2012. Disponible en:<http://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/374/BOLETIN-2012-set-oct-155-157.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
2. Mejía y Cols. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. Lima: Agencia Española de Cooperación Internacional; 2000. [Consultado 31 de octubre 2018]. Disponible: http://repositorio.iiap.org.pe/bitstream/IIAP/74/2/Mejia_libro_2000.pdf
3. Córdova J. Uso y utilización de plantas medicinales en universidades de Lima [Tesis]. Lima: PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ. FACULTAD DE CIENCIAS SOCIALES; 2009. [Consultado 31 de octubre 2018]. Disponible: file:///C:/Users/pc/Downloads/CORDOVA_RENGIFO_JAVIER_USO_UTILIZACION.pdf.
4. Guardia S. EL AJO Y SUS EFECTOS ANTIMICROBIANOS. Revista IN CRESCENDO, Ciencias de la Salud Vol. 01, N 02, [Revista on-line] 2014 [Consultado 31 de octubre 2018]. Disponible en: <file:///C:/Users/pc/Downloads/373-1713-1-PB.pdf>

5. Pineda y Col. Adherencia de *Cándida albicans* a resinas acrílicas y poliamidas. Estudio in vitro. Revista Biosalud. [Revista on-line] 2017 [Consultado 31 de octubre 2018]. Disponible en: <http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=0&sid=b7f181d7-e2c4-4dd7-a189-6c8c9bce1f24%40sessionmgr4007>

6. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). Databio; 2012. [Consultado 31 de octubre 2018]. Disponible en: <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Hongos/Candida%20albicans.pdf>

7. Antonio B. Instituto especializado materno perinatal. Infecciones vaginales por *Cándida*: diagnóstico y tratamiento. Rev Per Ginecol Obstet; 2007. [Consultado 31 de noviembre 2018]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ginecologia/vol53_n3/pdf/a04v53n3.pdf

8. Guillermo y Cols. Evaluación micológica de un nuevo medio de cultivo cromógeno (*Cándida ID*®) para el aislamiento e identificación presuntiva de *Cándida albicans* y otras levaduras de interés médico. España: Revista Iberoamericana de Micología; 2001. [Consultado 11 de noviembre 2018]. Disponible en: <http://reviberoammicol.com/2001-18/023028.pdf>

9. Paternina y Cols. Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto de *Allium sativum* en porphyromonas gingivalis y streptococcus Mutans. Universidad de Cartagena; 2016. [Consultado 07 de diciembre 2018].
Disponible:[http://190.242.62.234:8080/jspui/bitstream/11227/4240/1/INFORMEFINAL%2013-12-16%20%20\(1\).pdf](http://190.242.62.234:8080/jspui/bitstream/11227/4240/1/INFORMEFINAL%2013-12-16%20%20(1).pdf)

10. Caqui S. “efecto inhibidor del extracto hidroalcohólico del *Allium sativum* diferentes concentraciones en comparación al perio-aid® frente a cepas de streptococcus mutans”. Estudio in vitro. Lima 2016. [Consultado 07 de mayo 2019].
Disponible en:
http://renati.sunedu.gob.pe/bitstream/sunedu/41924/1/T061_46730136_T.pdf

11. Munayco y Col. Efecto Antimicrobiano Del Extracto Hidroalcohólico de *Allium Sativum* sobre cepas Estándares De La Cavidad Bucal. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2011. [Consultado 07 de abril 2019].
Disponible:http://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNMS_8f1639d7fc2218a9c6801cc36d4e8f41

12. Sánchez y Col. "Efecto antimicótico in vitro de la solución de ajo (*Allium sativum*), la avena coloidal (avena sativa) versus el clotrimazol sobre cultivos de *Cándida albicans* (ATCC 10231), Trujillo, enero-octubre Del 2016." (2016). [Consultado 07 de diciembre 2019]. Disponible en:
<http://repositorio.uap.edu.pe/handle/uap/5671>

13. Laguna y Col. "Efecto Inhibidor del Extracto Hidroalcohólico del *Allium Sativum* a Diferentes Concentraciones en Comparación al Perio-aid® Frente a Cepas de Streptococcus Mutans. Estudio In Vitro. Lima 2016." (2016). [Consultado 07 de diciembre 2019]. Disponible en: <http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/41924>
14. Mamani y Cols. "EFECTO IN VITRO DEL AJO (ALLIUM SATIVUM L.) LIOFILIZADO, SOBRE LA CANDIDA ALBICANS SP JULIACA 2009". REVISTA ESTOMATOLÓGICA DEL ALTIPLANO 1.1 (2014): 44. [Consultado 07 de diciembre 2019]. Disponible en: <http://huajsapata.unap.edu.pe/journal/index.php/REA/article/view/38>
15. Rojas y Cols. "Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del ajo (*Allium sativum*) contra streptococcus pyogenes mediante el método por dilución." Universidad, Ciencia y Sociedad (2011): 13. [Consultado 07 de diciembre 2019]. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/ucs/n4/n4_a03.pdf
16. Sarabia y Col. "Efecto in vitro de diferentes concentraciones de *Allium sativum* "ajo" frente a dermatofitos y *Cándida albicans*"; 2016. Disponible en: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/37971235/C._albicans_y_dermatofitos.Allium_sativum.pdf?

17. Fernández y Cols. Dispensación de productos farmacéuticos [Internet]. Madrid: McGraw-Hill España; 2013. [Citado noviembre del 2019]. Available from: ProQuest EbookCentral. Disponible en: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=3212947>

18. Pancho L. Efecto antimicrobiano de los extractos de las hojas de tomillo (*thymus vulgaris*) y de las pepas de ajo (*Allium sativum*) sobre las cepas de enterococcus faecalis. Estudio in vitro. BS thesis. Quito: UCE, 2016. <https://www.avogel.es/enciclopedia-de-plantas/allium-sativum.php#top>

19. Hernández y col. Estudio de las propiedades anti fúngicas de los extractos de hojas de *Cassia grandis* (carao) y Bulbos de *Allium sativum* (ajo) en *Microsporun canis*, *trichophyton rubrum* y *epidermophyton floccosum*. Diss. Universidad de El Salvador, 2004. [Consultado 07 de diciembre 2019]. Disponible: <http://www.pulevasalud.com/ps/revista/2010/02/alimentosaz.pdf>

20. Pontón y Cols. Hongos y actinomicetos alérgicos. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao, 2002. Disponible en: <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Hongos/Candida%20albicans.pdf>

21. Bergel. . "La Declaración Universal de la UNESCO sobre el genoma humano y los derechos humanos." Alegatos, (49) (1998): 217-232. Disponible: <http://www.fge.chiapas.gob.mx/informacion/marcojuridico/leyes/Di.pdf>
22. Henríquez M. "Osteonecrosis de los maxilares: nuevas evidencias sobre su etiopatogenia." Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral. México; 2011[Consultado 07 de diciembre 2019]. Disponible en:https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=definici%C3%B3n+sobre+ Etiopatogenia&btnG=
23. Rivera, Castrillón L, Alejandro R, and Padilla C. "Factores de virulencia en *Cándida sp.*" Dermatología Revista Mexicana 49.1 (2005): 12-27. [Consultado 07 de diciembre 2019]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2005/rmd051c.pdf>
24. Castillo. "Infección-enfermedad por VIH/SIDA." Medisan 8.4 (2004): 49-6.3. Consultado el 13 de mayo del 2020. Disponible en: http://www.cicv.cl/sites/default/files/sida_y_revision_bibliografica.pdf
25. Caqui S. efecto inhibidor del extracto hidroalcohólico del *Allium sativum* (ajo) a diferentes concentraciones en comparación al perio-aid® frente a cepas de streptococcus mutans. estudio in vitro. universidad privada norbert wiener. Lima; 2016. Disponible en: http://renati.sunedu.gob.pe/bitstream/sunedu/41924/1/T061_46730136_T.pdf

26. Sharapin N. 2000. Fundamentos de fitotecnología de productos fitoterapéuticos. Colombia: Convenio Andrés Bello. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=XH2HzSlJPywC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
27. Matthew Egbobor Eja, Bassey E Asikong, Clement Aribi. A comparative assessment of the antimicrobial effects of garlic(*Allium sativum*) and antibiotics on diarrheagenic organisms. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2007; vol 38 N°2 March; 343-348.
28. Díaz L. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* (Ajo) y su efecto sobre algunas propiedades de fotografía en blanco y negro. [Tesis]. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias Básicas Microbiología Industrial Bogotá, D. C. Colombia, 2010. [Citado 10 mayo 2020]. Disponible en: https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8640/tesis_598.pdf;jsessionid=D182674221385530C38C0A494EA81FA3?Sequence=1
29. Castillo C. Efecto inhibitorio in vitro de *Myrciaria dubia* “camu-camu” sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Perú. [Tesis] .Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Medicina, 2013.

30. Aigaje A, Zurita M. Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (tipo) al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas gingivalis*. Dom. Cien., ISSN: 2477-8818 .Vol. 3, núm. 1, enero, 2017, pp. 3-20 [Tesis]. [Citado 08 Julio 2018]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5802909.pdf>

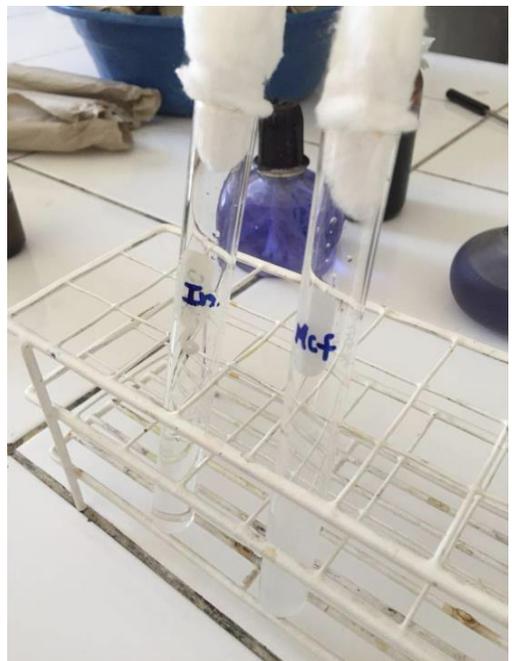
ANEXOS

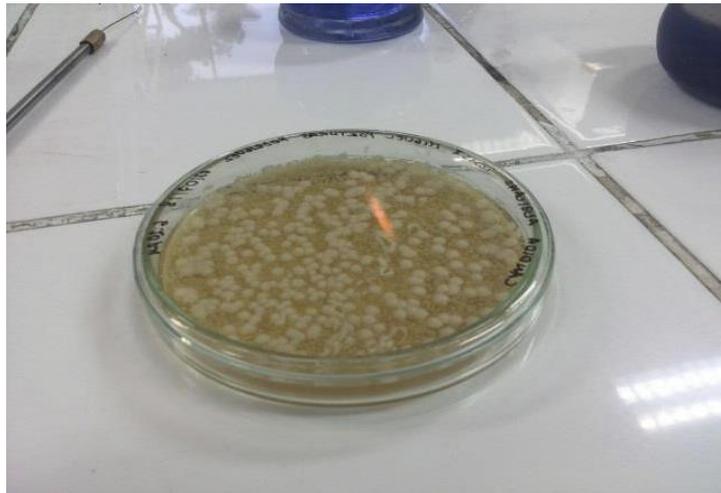
Extracto hidroalcohólico





Sembrado de la cepa *Candida albicans*





Cultivo de la cepa *Candida albicans*





Instituto Nacional de Salud

B358600030092 CEPA CANDIDA ALBICANS ATCC 10231.

Denominación CEPA CANDIDA ALBICANS ATCC 10231.

Principal

Presentación Vial.

Temperatura de Almacenamiento 25 °C.

Otra(s) Denominación(es):

3147 [CBS 6431;
CCY 29-3-106; CIP 48.72; DSM 1386; IFO
1594; NCPF 3179; NCYC 1363; NIH 3147; VTT
C-85161]

Documento(s):

- Certificado de Análisis.

Características

- N° ATCC : 10231.
- Vial liofilizado. No más de dos pasajes de la cepa de referencia.
- Condiciones de crecimiento: Agar YM o caldo YM. Temperatura: 25 °C.
- Se utiliza para el control de calidad de medios de cultivo.

Fecha de Vencimiento

No menor de 1 Año