



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA**

**EFEECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO  
ACUOSO DE LOS BULBOS DE *Allium sativum* (Ajo)  
FRENTE A *Candida albicans*.**

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

**AUTORA**

**ORBEGOSO PAREDES, KAREN ELIZABETH**

**ASESOR**

**Mgtr. LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO**

**TRUJILLO - PERÚ**

**2018**

## **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:**

*Por regalarnos un día más de vida, y por ser nuestro guía a diario, al brindarnos fortaleza para hacer posible el cumplir con las metas profesionales.*

### **A mis docentes:**

*Que mediante sus enseñanzas y orientación, contribuyeron en el desarrollo y culminación de mi trabajo de investigación.*

### **A la Universidad:**

*Católica Los Ángeles de Chimbote, mediante el uso de sus instalaciones pude llevar a cabo el desarrollo y culminación de mi trabajo de investigación.*

## DEDICATORIA

*A mis padres, Leonel y Julia, quienes son mi motor de vida, que mediante su esfuerzo y apoyo contribuyen a mi desarrollo, como persona y profesional cada día de mi vida.*

*A mis hermanos(as), por su apoyo emocional y consejos brindados en el transcurso y término de mi carrera.*

*A mis amistades, por su apoyo incondicional. "En todo tiempo ama el amigo, y es como un hermano en tiempo de angustia". Proverbios 17:17.*

## RESUMEN

La presente investigación, de tipo experimental, de enfoque cuantitativo y corte transversal, se realizó con el objetivo de determinar el efecto antimicótico *in vitro* del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* frente a *Candida albicans*. Se utilizó el extracto acuoso a concentraciones de 22 mg/ml y 44 mg/ml para los grupos experimentales, como control estándar al Fluconazol (25µg /disco). Se evaluó la sensibilidad utilizando el método de disco difusión, Kirby – Bauer para medir los halos de inhibición, obtenidos a las 24 horas en los diferentes grupos, a una concentración de 22 mg/ml (32.40 mm), a 44 mg/ml (37.82 mm) y para el control estándar (25.31 mm). Los resultados, fueron sometidos a la prueba ANOVA y a la Prueba T- STUDENT, se aprecia que existe una diferencia estadísticamente significativa. Se concluyó que el extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* presentó efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

**Palabras clave:** *Allium sativum*, Extracto, Antimicótico, *Candida albicans*.

## ABSTRACT

The present investigation, of experimental type, of quantitative approach and cross section, was carried out with the objective of determining the in vitro antifungal effect of the aqueous extract of the *Allium sativum* bulbs against *Candida albicans*. The aqueous extract was used at concentrations of 22 mg/ml and 44 mg/ml for the experimental groups, as a standard control to Fluconazole (25µg/disc). Sensitivity was evaluated using the diffusion disc method, Kirby-Bauer, to measure the inhibition zones, obtained at 24 hours in the different groups, at a concentration of 22 mg/ml (32.40 mm), at 44 mg/ml ( 37.82 mm) and for the standard control (25.31 mm). The results were subjected to the ANOVA test and the T-STUDENT test, which shows that there is a statistically significant difference. It was concluded that the aqueous extract of the *Allium sativum* bulbs had an antifungal effect against *Candida albicans*.

**Key words:** *Allium sativum*, Extract, Antimicotic, *Candida albicans*.

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTO .....	iii
DEDICATORIA.....	iv
RESUMEN .....	v
ABSTRACT.....	vi
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISION DE LITERATURA .....	6
2.1. Antecedentes .....	6
2.2. Bases teóricas.....	9
III. HIPÓTESIS.....	18
IV. METODOLOGÍA .....	19
4.1. Diseño de la investigación .....	19
4.2. Población y muestra.....	20
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	22
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	23
4.5. Plan de análisis .....	26
4.6. Matriz de consistencia.....	27
4.7. Principios éticos .....	28
V. RESULTADOS .....	29
5.1. Resultados .....	29
5.2. Análisis de resultados .....	31
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	35
6.1. Conclusiones .....	35
6.2. Recomendaciones .....	36
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	37
VIII. ANEXOS .....	46

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01 Evaluación del efecto antimicótico <i>in vitro</i> del extracto acuoso de los bulbos de <i>Allium sativum</i> frente a <i>Candida albicans</i> .....	29
Tabla 02 Comparación del efecto antimicótico <i>in vitro</i> del extracto acuoso de los bulbos de <i>Allium sativum</i> frente a <i>Candida albicans</i> de los diferentes grupos de experimentación... ..	30

## **I. INTRODUCCIÓN:**

El uso de plantas medicinales de manera tradicional fueron actividades cruciales a inicios de la humanidad, debido a que las plantas son una materia prima importante, por los beneficios terapéuticos que se les atribuye a cada especie vegetal. Sin duda la popularidad de las plantas medicinales, es amplia, debido a la combinación de los estudios, a partir de las prácticas de medicina tradicional, el cual forma parte del cimiento de la medicina moderna, que ha evolucionado a gran magnitud dando origen a la creación de drogas sintéticas. En efecto, según el avance de la ciencia y la tecnología, existen grandes posibilidades de producir nuevos fármacos de origen vegetal como alternativa para tratar afecciones de distinta índole restando efectos adversos <sup>(1)</sup>.

Desde tiempos inmemoriales, el hombre ha buscado alternativas para solucionar problemas relacionados a la salud, lo que la naturaleza ha proporcionado desde sus inicios, no solo han sido utilizados como alimento, sino también, para combatir afecciones. Tiempos en los que surgieron los primeros médicos y boticarios, quienes tenían la capacidad de conocer propiedades terapéuticas de diferentes especies vegetales, las utilizaban de manera empírica para tratamientos; con el paso del tiempo, el conocimiento de las plantas medicinales, basado en su composición se ha desarrollado grandemente, según el avance de la ciencia, de tal manera que, las plantas medicinales y sus principios activos, forman parte de una fuente casi inagotable para nuevos fármacos <sup>(2)</sup>.

Para el uso de diversas partes de una planta, los boticarios, recurrían a diversos procesos para hacer preparados, con el fin de convertirlos en un medio adecuado para ser aplicados. Como tratamientos en diversas afecciones, utilizaban preparados artesanales, zumos, emplastos, pomadas, tinturas, infusiones, decocciones, etc. Los medios utilizados, fueron preparados con el objetivo de obtener una mayor potencia terapéutica, por lo tanto, desde los primeros años del siglo XX, ha cambiado enormemente la forma de elaboración de preparados artesanales, dando paso a la fabricación industrial, y en la actualidad la industria farmacéutica, según los avances científicos y tecnológicos, han logrado un complejo proceso de investigación, mediante modificaciones, aislamientos y síntesis de principios activos, logrando un alto índice de eficacia y seguridad para su uso <sup>(2)</sup>.

En esencia, estas drogas naturales, consisten en partes de plantas o extractos de plantas purificadas que están compuestos por variedades de metabolitos que pueden ejercer un efecto o actividad terapéutica en forma sinérgica, es decir que según los componentes de cada droga vegetal uno potencia el efecto del otro o también en conjunto cumplen o ejercen un efecto terapéutico. A nivel mundial el interés del público frente al uso de plantas medicinales, se ve atribuido a diversos factores, las cuales incluyen reclamaciones por la insatisfacción en la eficacia de productos sintéticos. La preferencia de la población por el uso de las terapias naturales ha incrementado debido a las creencias de que estos, tienen mayor eficacia en las terapias de diferentes patologías y por ende menos efectos dañinos en la salud <sup>(3)</sup>.

*Allium sativum*, comúnmente conocido como Ajo, es una planta versátil, a la que se le atribuye muchas propiedades terapéuticas, además de su uso culinario, cabe resaltar que ha sido utilizada por más de 4000 años. Según diferentes investigaciones, el alto contenido de compuestos orgánicos de azufre, son los responsables de ejercer efectos tóxicos y también diferentes efectos terapéuticos<sup>(4)</sup>, las cuales se destacan como, antibacteriano, antimicótico, antiviral, estimulante, diaforético, antiasmático, antioxidante, antiséptico, antihipertensivo, hipoglucemiante, etc. En la Edad Media, *Allium sativum* fue prescrito por los médicos para tratar la sordera; la parte más utilizada de la planta de *Allium sativum*, son los bulbos <sup>(5)</sup>.

El compuesto organosulfurado, aliina, es el sustrato principal para la enzima aliinasa, que al ser liberada de su compartimiento intracelular lo transforma en el tiosulfonato alicina, responsable de muchas actividades biológicas y de su olor característico y picante del *Allium sativum* triturado; dentro de la composición de *Allium sativum*, están presentes vitaminas, minerales, resaltando elementos traza, germanio y selenio, los aceites volátiles están compuestos por azufre como, disulfuro de dialilo, trisulfuro de dialilo y trisulfato de metilalilo <sup>(6,7)</sup>. Según, la investigación de, Lawal B, et al. sugiere, que la alicina, es responsable de los efectos terapéuticos y tóxicos, pero había informado la ausencia de efectos tóxicos visibles después de 14 días de administración de un extracto acuoso de *Allium sativum* en ratas <sup>(7)</sup>.

La dermis es susceptible a diversos microorganismos, tienen una capacidad de defensa al someterse a una elevada presión osmótica y baja temperatura. Los hongos pueden producir varias enfermedades cutáneas, dentro de las cuales tenemos la micosis; la micosis se caracteriza por ser infecciones producidas por hongos patógenos u oportunistas, capaces de generar una infección en hospederos susceptibles. Los agentes más comúnmente aislados en todo el mundo, tenemos levaduras del género *Candida*, estas forman parte de la microbiota del tracto respiratorio superior, tracto digestivo, cavidad oral y piel, cabe resaltar que, *Candida albicans*, es la principal especie comensal (69% a 90%), responsable de diferentes enfermedades, como la candidiasis, afección que se origina en las mucosas al producirse una alteración de los mecanismos de defensa, tanto a nivel local y en algunos casos también sistémicos<sup>(8 - 10)</sup>.

En la actualidad contamos con muchas plantas que presentan diversos efectos terapéuticos, una de las plantas más conocidas es el Ajo (*Allium sativum*), que por su efecto antimicótico; muchos hongos, han mostrado su sensibilidad a los compuestos del *Allium sativum*, que demostró disminuir el consumo de oxígeno, reduciendo el crecimiento del organismo e inhibiendo la síntesis de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, que ocasionan daños a nivel de la pared celular del hongo. El uso de los medicamentos antifúngicos, han tenido pocas respuestas clínicas, debido a la resistencia del agente al medicamento, por lo que se le suma la importancia y búsqueda de productos alternativos con actividades antimicóticas de fuentes naturales, resaltando el uso de *Allium sativum*<sup>(11,12)</sup>.

Existen múltiples medicamentos antimicóticos, de las cuales cabe resaltar sus efectos adversos, falta de efecto terapéutico por la resistencia al medicamento, alto costo para ser adquiridas, sobre todo de aquellas personas de bajos recursos económicos. Razón por la que se realizó esta investigación, con el fin de utilizar *Allium sativum* como fuente natural para tratar afecciones producidas por *Candida albicans*, es por ello que planteamos la siguiente interrogante:

¿El extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* presenta efecto antimicótico frente a *Candida albicans*?

Objetivo general:

- Determinar el efecto antimicótico *in vitro* del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* frente a *Candida albicans*.

Objetivos específicos:

- Determinar el efecto antimicótico del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* a una concentración de 22 mg/ml frente a *Candida albicans*, expresado en mm de diámetro del halo de inhibición.
- Medir el efecto antimicótico del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* a una concentración de 44 mg/ml frente a *Candida albicans*, expresado en mm de diámetro del halo de inhibición.
- Comparar el efecto antimicótico del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* a 22 mg/ml y a 44 mg/ml frente a *Candida albicans*.
- Comparar el efecto antimicótico *in vitro* del fluconazol y el extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* a diferentes concentraciones frente a *Candida albicans*.

## II. REVISION DE LA LITERATURA:

### 2.1. Antecedentes:

Meriga et al, en el año 2012, en la India, evaluaron las actividades antimicrobianas y antioxidantes de extractos de los bulbos de *Allium sativum*, la actividad antimicrobiana lo determinaron mediante el método de difusión, discos de ampicilina, tetraciclina y ketoconazol (20µg), fueron utilizados como antibióticos estándar contra bacterias y hongos. Las placas fueron incubadas durante 24 horas a 35°C para bacterias y durante 48 horas a 30 °C para hongos. La zona máxima de inhibición observada fue de 20 mm (CMI) con el extracto acuoso a una concentración de 100 µg/ml frente a *Candida albicans*. Demostraron que los extractos acuosos y de metanol tuvieron una mayor actividad antioxidante. Concluyeron de que la actividad antimicrobiana y antioxidante de los extractos de *Allium sativum*, proporcionan una base científica para su uso en la medicina <sup>(5)</sup>.

Corrales et al, en la Universidad de Ciencias Médicas de Granma, realizaron una investigación basada en revisiones bibliográficas de 26 documentos, sobre la actividad antimicrobiana y antifúngica del extracto de *Allium sativum*, en estomatología en el año 2014, obtuvieron información de textos y revistas consultadas en centros de referencia y a través de localizadores electrónicos como Pubmed, Scielo, Medline y Google. Los autores pudieron confirmar, que todo el conjunto de esta información reunida tiene vigencia y su aplicación resulta de gran utilidad en tratamientos de las afecciones contra cepas como, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, *Capnocytophaga sputigena* y *Candida albicans*, hongo implicado en la candidiasis oral <sup>(11)</sup>.

Gavanji et al, en el año 2017 , en Irán, determinaron el efecto del propóleo y compararon con el efecto de extractos de hierbas frente a *Candida albicans* ATCC 10231, hicieron su análisis por medio del ensayo de disco difusión y su dilución de microcaldo , los extractos que utilizaron fueron, *Thymus vulgaris*, *Echinophora platyloba*, *Allium cepa* y *Cinnamomum zeylanicum* , al ser evaluados fueron comparados con dos medicamentos, anfotericina B y nistatina en 24, 48 y 72 horas. Determinaron que el extracto de propóleo tuvo una MIC de 90 y una MFC entre 39 y 65 µg / ml, los extractos de *Allium cepa* y *Thymus vulgaris*, con una MFC de 169 y 137 µg / ml, mostraron menor efecto antimicótico. Los medicamentos produjeron mejores efectos sobre los hongos en comparación con los extractos. Llegaron a la conclusión, de que el extracto de propóleo es efectivo para controlar *Candida albicans* <sup>(13)</sup>.

Mendoza et al, en el año 2017, en México, determinaron la sensibilidad de cepas aisladas, de la especie *Candida*, procedente de prótesis dentales, compararon la sensibilidad en las células planctónicas y en la biopelícula; utilizaron cepas clínicas, como *Candida albicans*; evaluaron la sensibilidad frente al aceite esencial de *Allium sativum* y al fluconazol mediante la metodología M27-A3 del CLSI. Según sus resultados todas las cepas planctónicas de *Candida* fueron sensibles al aceite esencial de *Allium Sativum*, mientras que el 4,2% fueron resistentes al fluconazol, en cuanto a la sensibilidad en biopelícula, el 43,8% fueron resistentes a *Allium sativum* y el 91,7% lo fue al fluconazol. Concluyeron que todas las cepas de *Candida*, son susceptibles a 1mg/ml del aceite esencial de *Allium sativum* a diferencia del fluconazol <sup>(14)</sup>.

Munayco et al, en el año 2013, en Perú, determinaron el efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* frente a *Streptococcus mutans*, *Capnocytophaga sputigena*, *Lactobacillus casei* y *Candida albicans*, utilizaron concentraciones de 12mg/ml, 18mg/ml 30mg/ml, 60mg/ml, 90mg/ml, 120mg/ml. El extracto que realizaron, fue por maceración y utilizaron el método de difusión de discos, el ciprofloxacino y el fluconazol, fueron utilizados para el control positivo de las bacterias y hongos, alcohol de 70° (control negativo). La concentración antimicrobiana frente bacterias y a *Candida albicans*, fue de 90mg/ml (halo de 28mm), 120mg/ml, (31mm), teniendo como referencia al estándar fluconazol a una concentración de 2mg/ml (32mm). Concluyeron, que el extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* presentó efecto antimicrobiano frente a las bacterias y *C. albicans* <sup>(15)</sup>.

Guardia, en el año 2014, en Perú, determinó la acción antimicrobiana de *Allium sativum l*, trabajó con diferentes extractos al 100%, extracto puro, alcohólico y tintura frente a *Estafilococo aureus*, *Estreptococo pyogenes* y *Candida albicans*. Utilizó 20 placas de agar TSA y 10 de Agar sabourau, realizó el antibiograma por el método de socavado. El tiempo de incubación, fue de 24 horas, *S. aureus* y *S. pyogenes*, frente al extracto puro, mostró mayor halo de inhibición, que el extracto alcohólico y la tintura. El extracto puro, frente a *Candida albicans*, tuvo mayor halo de inhibición (37,5mm) en 24 horas, a diferencia de los extractos, alcohólico (27,7mm) y la tintura (15,3mm). Concluyeron que la tintura, el extracto puro y extracto alcohólico presentaron efecto antimicrobiano en comparación con la Eritromicina, Penicilina y Nistatina (obtuvo un halo de 16 mm) <sup>(16)</sup>.

## **2.2. Bases teóricas:**

### **Fitoterapia:**

La Organización mundial de la Salud (OMS), define a la fitoterapia como “La ciencia que estudia el uso de plantas medicinales, con fines terapéuticos, para prevenir, atenuar, incluso curar enfermedades”, resaltando la limitaciones sobre su uso, debido a que no se han realizados investigaciones exhaustivas de los efectos tanto terapéuticos y tóxicos <sup>(17)</sup>.

### **Planta medicinal:**

La plantas medicinales, son aquellas que, en una o diferentes partes de la misma, están presentes los compuestos llamados “principios activos”, estos componentes cumplen diferentes actividades terapéuticas, por sí solos o sinérgicamente, además pueden ser precursores para dar origen a productos semisintéticos <sup>(18)</sup>.

### **Principios activos:**

El principio activo, es aquel componente o sustancia química, ya sea de origen natural o sintético, responsable de ejercer una actividad farmacológica <sup>(18)</sup>.

### **Extracto vegetal:**

Un extracto vegetal, es un concentrado de principios activos, puede adoptar diferentes consistencias, ya sea sólida, líquida, semisólida, adquiridos por tratamiento apropiados de una planta, con el fin de asegurar la estabilidad de sus componentes de interés, cabe resaltar el uso adecuado de solventes y el tipo de extracción que se va a emplear <sup>(12,18)</sup>.

## A. *Allium sativum*

### **Descripción botánica:**

Planta carnosa y perenne, con hojas estrechas y sus bulbos son redondeados que están cubiertos por membranas, en su parte inferior brotan raíces de olor penetrante y sabor picante. El género *Allium*, contiene más de 300 especies, en las que destaca, *Allium sativum*, su tallo verdadero es pequeño, aproximadamente 3 cm de diámetro y 5 mm de altura, tiene la forma de un plato originándose de allí las raíces y las hojas, las hojas se forman por una vaina y un limbo aplanado estrecho, largo y fistuloso, con un nervio central bien desarrollado y puntiagudo al final <sup>(12,19)</sup>.

Las vainas son de forma cilíndrica y llegan a constituir el falso tallo o pseudotallo corto y erecto, característico de la planta, el tallo nace a partir de los bulbos alcanzando una altura cercana a los 50 cm y las hojas alcanzan un tamaño de 20 a 50 cm de longitud y de 1 a 3 cm de ancho. El bulbo del *Allium sativum* está compuesto por varios bulbillos unidos a una base; en las axilas de las hojas se forman de seis a siete bulbillos, los bulbillos son envueltos por las capas interiores y el bulbo completo por las exteriores. Las flores son blancas o rosadas, conformando una umbela en el extremo del tallo que se cierra antes de la floración, generalmente aparecen en el verano <sup>(19)</sup>.

### **Taxonomía <sup>(19)</sup>:**

- Nombre científico: *Allium sativum*.
- Familia: Alliaceae.
- Subfamilia: Allioideae.
- Otros nombres: Ajo.

**Hábitat:**

*Allium sativum*, es originario de Asia Central en estado silvestre, se encuentra en la India, actualmente se cultiva en diversas zonas sobre todo en climas templados en todo el mundo. Esta planta se difundió por toda Europa, pasando a África y luego a América <sup>(12,19)</sup>.

**Composición química:**

*Allium sativum* tienen diferentes componentes como, aceite esencial, agua, carbohidratos (como la fructosa) y posee gran cantidad de componentes sulfurosos. Alto contenido de compuestos fenólicos, polifenoles y fitoesteroles <sup>(12,19)</sup>. Según, Jangam G, et al, “*Allium sativum* tiene una mayor concentración de compuestos de azufre que cualquier otra especie de *Allium*” <sup>(20)</sup>. *Allium sativum*, presenta compuestos de azufre (como, aliina y alicina), enzimas (como aliinasas), aminoácidos (como, ácido aspártico, asparagina, alanina, arginina, histidina, metionina, fenilalanina, leucina, serina, treonina, prolina, triptófano y valina) <sup>(20)</sup>, taninos, flavonoides, alcaloides y glucósidos, están presentes en extracto acuoso <sup>(5)</sup>, carbohidratos, pectina, vitaminas del complejo B y vitaminas A, C y E, minerales (germanio, calcio, cobre, hierro, potasio, magnesio, selenio y zinc) y azúcares (inulina) <sup>(19,20,21,24)</sup>.

**Compuestos azufrados:** alicina, aliina, garlicina, ajoeno, adenosina, S-alil mercaptocisteína, 2-vinil-4H-1,2-ditiina, 5-ailcisteína <sup>(12,19,20)</sup>, 1-propenil-alil-tiosulfinato y 1 -glutamil-S-alkil- 1- cisteína <sup>(22,23)</sup>.

Según, Memudu A, et al. “La base de datos de nutrientes del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, establece que 100 g de *Allium sativum* crudo contienen carbohidratos, fibra dietética , grasa, proteínas,  $\beta$ -caroteno , tiamina (Vit B1), riboflavina (Vit B2), niacina (Vit B3), ácido pantoténico (Vit B5), piridoxina (Vit B6), folato (Vit B9), vitamina C, calcio, hierro, magnesio, fósforo, potasio, sodio, zinc, manganeso y selenio” <sup>(22)</sup>.

**Alicina (dialil tiosulfinato o disulfuro de dialilo):**

La alicina (no existe en el *Allium sativum*, hasta que es triturado o cortado) es un compuesto azufrado, derivado del aminoácido aliina, que entra en contacto con la aliinasa (la lesión del bulbo del *Allium sativum* activa a la enzima), transformando a la aliina en alicina. La alicina se metaboliza aún más a Ajoeno, este proceso de descomposición, se da en el transcurso de unas horas a temperatura ambiente y en minutos durante la cocción. La alicina (disulfuro de dialilo , trisulfuro de dialilo , trisulfuro de alilmetilo, tetrasulfuro de dialilo y sulfuro de dialilo) es responsable del olor y el picante del *Allium sativum* , además de ser una sustancia poco inestable <sup>(5,12, 20,23)</sup>.

**Propiedades terapéuticas de *Allium sativum*:**

**Propiedades antifúngicas:**

La alicina cumple un papel primordial, como antimicrobiano; los hongos sensibles a los componentes del *Allium sativum*, tenemos: *Candida Albicans*, *Trichophyton*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Aspergillus niger*. El Ajoeno inhibe el crecimiento de hongos como *Aspergillus niger* y *Candida albicans* <sup>(12, 15,19)</sup>.

**Otras propiedades de *Allium sativum*:**

Antimicrobiano, diaforético, expectorante, diurético, antihipertensivo, antiescorbútico, antiséptico, antiasmático <sup>(5,7)</sup>, antioxidante, antiplaquetario, antitrombótico, hipolipemiente, hipoglucémico, antitumoral, previene la aterosclerosis y alivia dolores reumáticos <sup>(12,19, 24, 25)</sup>.

**Contraindicaciones del uso de *Allium sativum*:**

*Allium sativum* no debe ser administrado o consumido a grandes dosis en mujeres embarazadas, madres lactantes, (debido a que puede producirse efectos adversos sobre la neurogénesis del hipocampo y las funciones neurocognitivas) y en niños <sup>(24)</sup>.

Basado en su propiedad antiplaquetaria, *Allium sativum*, se debe evitar, debido al riesgo de producirse una hemorragia, sobre todo en pacientes, a quienes se les administra warfarina, heparina y aspirina. A nivel del tracto gastrointestinal, los efectos adversos producidos por el consumo de *Allium sativum*, se ha reportado la aparición de dolor abdominal, pérdida de apetito, reacciones alérgicas como, dermatitis de contacto alérgico, urticaria, angioedema, pénfigo y quemaduras de piel <sup>(24)</sup>.

Según, Lawal B, et al, en su estudio determinó, que puede considerarse relativamente seguro el extracto de los bulbos de *Allium sativum*, como un tratamiento por vía oral a una dosis de 300 mg /kg, debido a que 5 000 mg / kg, había causado debilidad, taquicardia y desorientación en los animales de experimentación (ratas), resaltando que no se registró muerte <sup>(7)</sup>.

## **B. *Candida***

Se estima que los hongos representan un 7% (611.000 especies) de eucariotas en la tierra, la cual existen un aproximado de 600 especies patógenas. Dependiendo del daño que causan, infecciones leves y graves, entre los patógenos fúngicos más comunes, es *Candida*, responsables de infecciones superficiales (mucosas, cutáneas) e infecciones sistémicas potencialmente mortales en los humanos, <sup>(26)</sup> asociados comúnmente a candidiasis, tenemos, *Candida albicans* (65.3%), *Candida glabrata* (11.3%), *Candida tropicalis* (7.2%), *Candida parapsilosis* (6.0%) y *Candida krusei* (2.4%) <sup>(27)</sup>.

### ***Candida albicans*:**

Es un hongo comensal oportunista, es levaduriforme, puede crecer como un hongo filamentoso formando hifas, es por ello que se le considera un hongo polimórfico. *Candida albicans* forma parte de la microbiota de las personas, se coloniza en un 30 a 60 % en las mucosas, está presente en la piel, las mucosas de la cavidad bucal, esófago a nivel gastrointestinal y genitourinario <sup>(28-30)</sup>.

### **Pared celular de *Candida albicans*:**

La pared celular de *Candida albicans*, cumple funciones de protección contra el ambiente y sirve para el reconocimiento por el sistema inmune innato del hospedero. Pared que está compuesta por polisacáridos como, quitina (está presente en la capa interna y en conjunto con  $\beta$ -1,3 - glucano, constituyen el esqueleto de la pared celular), glucanos y mananos (presente en la capa externa, este se asocia covalentemente con proteínas formando glicoproteínas) <sup>(31)</sup>.

### **Patogenicidad de *Candida albicans*:**

La capacidad de *Candida albicans*, que produzca una infección en el ser humano, depende de la capacidad del mecanismo de defensa del hospedero, como también de la capacidad de adhesión y el desarrollo del microorganismo. Dentro de los factores de virulencia, se basa en la transición de levadura (facilita la diseminación del hongo en el torrente sanguíneo al adherirse a las células endoteliales) a hifa, cambios fenotípicos de células "blancas" a "opacas",<sup>(27,28)</sup> la adherencia a células del hospedero, la secreción de enzimas degradativas, expresión de adhesinas (biomoléculas que facilitan la unión a las células del hospedero) e invasinas, formación de biopelículas (adherencia y proliferación de levaduras, embebidas con hifas en una matriz extracelular), estos desempeñan un papel importante en el proceso de la infección<sup>(26,28,29)</sup>.

La virulencia se relaciona con la transición del crecimiento de la levadura redonda u ovoide (blastoconidia) a formas filamentosas como hifas y pseudohifas, donde las hifas pueden invadir y dañar las células epiteliales como las endoteliales y son necesarias para escapar de los macrófagos, después de la fagocitosis, invadiendo al sistema inmune y evitan la respuesta pro inflamatoria del hospedero<sup>(26-28)</sup>.

Las enzimas degradativas, aspartil proteinasas (SAP), está presente en la pared celular y sirve para que *Candida albicans*, hidrolice proteínas del hospedero como, colágeno, laminina, fibronectina, mucina, lactoferrina e inmunoglobulinas, de esta manera *Candida albicans*, logran invadir las células epiteliales, se nutren y evaden la respuesta inmune. Las fosfolipasas (PL), hidrolizan las uniones de glicerofosfolípidos de la membrana celular del huésped favoreciendo la invasión

del hongo capaz de destruir la membrana celular del hospedero, la pared celular del hongo tiene la capacidad de proteger al mismo, al inhibir la fagocitosis por neutrófilos debido al mecanismo competitivo entre el polisacárido de la pared celular y los receptores de los neutrófilos <sup>(26,28)</sup>.

La aparición de hifas es característica de una invasión, y es responsable de las manifestaciones clínicas de una candidiasis. En el desarrollo de una candidiasis sistémica, las células fúngicas, se pueden diseminar a diferentes órganos del hospedero, dependiendo de la disponibilidad de diferentes nutrientes que favorezcan el desarrollo de *Candida albicans*. Cabe resaltar, que durante una infección, los nutrientes son probablemente glucosa, lípidos, proteínas y aminoácidos presentes, según el órgano en el que causan daño <sup>(26)</sup>.

### **C. Micosis:**

Los hongos a quienes se les conoce como “oportunistas”, característico de los que forman parte de la microbiota del ser humano, estos agentes tienen la capacidad de desarrollarse y transformarse en patógenos dependiendo de las condiciones del hospedero, resaltando que de la especie *Candida spp*, *Candida albicans* es la más común, quien da origen a la candidiasis <sup>(32)</sup>.

*Candida albicans*, es un agente etiológico de micosis superficiales cutáneas, subcutáneas, más comunes en la piel y las mucosas, e infecciones sistémicas mortales en los hospederos susceptibles, particularmente en personas con disfunciones del sistema inmune <sup>(26,28,29)</sup>, pacientes inmunocomprometidos, otros factores como, (humedad excesiva, diabetes mellitus, leucemias, desnutrición severa, uso de medicamentos y tratamientos con radioterapia) desarrollándose la

patología dependiendo de la interacción de los mecanismos patogénicos del hongo y los mecanismos de defensa del ser humano <sup>(32,33)</sup>.

**D. Mecanismo de acción de *Allium sativum* frente a *Candida albicans*:**

La actividad antifúngica de *Allium sativum*, se basa principalmente en la acción de la alicina, debido a la disminución del consumo de oxígeno, inhibe el crecimiento del hongo al interferir en la síntesis de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, causando daño a nivel de la pared celular de *C. albicans* <sup>(11,12, 15,19)</sup>.

La acción del ajoeno, se basa en los cambios que se originan a nivel de la membrana plasmática, al inducir cambios en su composición lipídica, fosfolipídica (inhibiendo la biosíntesis de la fosfatidilcolina, produciéndose una acumulación de fosfatidiletanolamina como agente precursor que no favorece la formación de nuevas membranas celulares), produce un desorden en el empaquetamiento de fosfolípidos en la membrana, también inhibe a la enzima glutatión reductasa, enzima primordial en la regulación de la carga oxidativa, que se genera durante el metabolismo celular, produciéndose un desequilibrio que tiene como consecuencia el incremento en la aparición de radicales libres, causando muerte celular <sup>(11,12,34)</sup>.

### **III. HIPÓTESIS:**

#### **3.1. Hipótesis alternativa (H1):**

- El extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* SI tiene efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

#### **3.2. Hipótesis Nula (H0):**

- El extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* NO tiene efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

## **IV. METODOLOGÍA:**

### **4.1. Diseño de la investigación:**

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental, de enfoque cuantitativo y corte transversal.

#### **Control Negativo:**

*Candida albicans* se sembró en 5 placas, con cuatro discos por placa, con un medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa más cloranfenicol. Utilizando el método de Kirby – Bauer (disco difusión). El tiempo de incubación fue de 24 horas. En este grupo se evaluó la calidad del agua destilada y los discos de difusión.

#### **Control Estándar:**

*Candida albicans* se sembró en 5 placas, con cuatro discos por placa, con un medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa más cloranfenicol. Utilizando el método de Kirby – Bauer (disco difusión). El tiempo de incubación fue de 24 horas. Se utilizó fluconazol como estándar a una concentración de 25µg /20µl por disco, teniendo en cuenta la solubilidad del medicamento se utilizó un vehículo, agua destilada.

#### **Medicamento utilizado:**

- ✓ Flumil (Fluconazol), 20 capsulas de 150 mg.
- ✓ Laboratorio: Eurofarma
- ✓ Lote: 1010067, F.V. 01/2020.

## **Grupos experimentales:**

### **Experimental N° 01:**

*Candida albicans* se sembró en 5 placas, con cuatro discos por placa, con un medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa más cloranfenicol. Utilizando el método de Kirby – Bauer (disco difusión). El tiempo de incubación fue de 24 horas. Se agregó 20µl del extracto acuoso, de *Allium sativum* a una concentración de 22 mg/ml. Se tomó la lectura de los halos de inhibición según el tiempo de incubación.

### **Experimental N° 02:**

*Candida albicans* se sembró en 5 placas, con cuatro discos por placa, con un medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa más cloranfenicol. Utilizando el método de Kirby – Bauer (disco difusión). El tiempo de incubación fue de 24 horas. Se agregó 20 µl del extracto acuoso, de *Allium sativum* a una concentración de 44 mg/ml. Se tomó la lectura de los halos de inhibición según el tiempo de incubación.

## **4.2. Población y muestra:**

### **Población vegetal:**

La planta de *Allium sativum*, crece en el Distrito De Huamachuco, Provincia de Sánchez Carrión, en el Departamento de La Libertad, está situada a una latitud de 3.269 msnm.

**Muestra vegetal:**

Se recolectaron 255 g de los bulbos de *Allium sativum* en el Distrito De Huamachuco, Provincia de Sánchez Carrión, en el Departamento de la Libertad, fueron seleccionados bajo criterios de inclusión y exclusión.

**Criterios de inclusión:**

- Bulbos de *Allium sativum* de tamaño homogéneo
- Bulbos de *Allium sativum* sanos
- Bulbos de *Allium sativum* con ausencia de oxidación.

**Criterios de exclusión:**

- Bulbos de *Allium sativum* de diferente tamaño
- Bulbos de *Allium sativum* lacerados
- Bulbos de *Allium sativum* con presencia de oxidación.

**Población microbiológica:**

La Cepa *Candida albicans*, ATCC 10231, fue obtenida de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo. Ubicada en la ciudad de Trujillo, departamento de La Libertad.

**Criterios de inclusión y exclusión:****Criterios de inclusión:**

- Cepa de una sola especie.
- Cepa de *Candida albicans* viable.

**Criterios de exclusión:**

- Cepa de diferentes especies
- Cepa de *Candida albicans* contaminada.

### 4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores:

Variables		Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores Mg/ml	Escala de medición
<b>Variable Independiente</b>	Extracto del <i>Allium sativum</i>	Cantidad en mg de diversos metabolitos secundarios de <i>Allium sativum</i> , contenidos en un volumen de agua <sup>(15)</sup> .	Es el producto que se obtuvo mediante la homogenización de los bulbos de <i>Allium sativum</i> en agua destilada.	Grupo experimental 01 22mg/ml. Grupo experimental 02 44mg/ml. Grupo control negativo 0mg/ml. Grupo control estándar Fluconazol (25µg/disco)	Variable cualitativa Nominal.
<b>Variable Dependiente</b>	Efecto antimicótico	Es la capacidad de una sustancia para inhibir un cultivo de hongos <sup>(15)</sup> .	Es obtenido mediante la medición de los diámetros del halo de inhibición.	Mm (milímetros)	Variable cuantitativa de razón.

#### **4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:**

##### **Técnica: Obtención del extracto acuoso de *Allium sativum*.**

Para la preparación del extracto de *Allium sativum*, desprendimos la cubierta y fue eliminada, luego pesamos 255g de bulbos de *Allium sativum*, fueron lavados y picados para ser homogenizados en 900 ml de agua destilada, con la ayuda de un equipo de alta potencia, homogeneizador (BLSTMG-K15), en un tiempo de 3 minutos a velocidad media, para extraer el jugo del material de estudio, luego se centrifugó a 3000 rpm en un tiempo de 10 minutos. El material precipitado fue pesado y el sobrenadante se filtró a través de papel filtro Whatman N°1 previamente esterilizado, el extracto fue almacenado en un frasco ámbar a una temperatura de 4°C <sup>(35)</sup>.

##### **Concentración inicial del extracto:**

La concentración inicial del extracto *Allium sativum* fue obtenido por la técnica de peso seco, en la que tomamos una alícuota de 1 ml en una luna de reloj, la cual fue pesado la luna de reloj previamente en una balanza analítica, luego se colocó en baño maría con el fin de eliminar la fase líquida para obtener una fase sólida, seguidamente después de obtener la luna de reloj con el extracto seco, se pesó para el análisis de la concentración del extracto, restando peso inicial (de luna de reloj sola) y la luna con el extracto seco <sup>(36)</sup>. Mediante esta técnica se obtuvo un extracto seco de 63.1 mg/ml de *Allium sativum*. A partir de la concentración inicial obtenida se realizó las diferentes concentraciones previstas para el estudio de 22 mg/ml y 44 mg/ml, se obtuvo un rendimiento de 22.3 % del extracto seco de *Allium sativum*.

### **Preparación de Nefelómetro:**

#### **Preparación de la suspensión estándar de turbidez 0,5 de McFarland**

El patrón de McFarland, se preparó añadiendo 99,5 ml de ácido sulfúrico al 0.18 Molar (1% V/V), a una solución acuosa de 0.5 ml de cloruro de bario al 0.048 Molar (1.175% W/V), la cual se forma un precipitado suspendido de sulfato de bario <sup>(37)</sup>.

### **Preparación de la cepa:**

Para el cultivo de *Candida albicans*, se utilizó el medio de Agar Sabouraud Dextrosa más cloranfenicol, incubado a 35°C por 24 horas, con el objetivo de obtener colonias del hongo jóvenes <sup>(38)</sup>.

### **Preparación del inóculo:**

Se preparó transfiriendo las colonias de *Candida albicans* a un tubo de ensayo y se diluyó en una solución salina estéril (6 ml), para obtener una suspensión semejante a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de McFarland (Nefelómetro), que permite a simple vista conocer la cantidad aproximada de levaduras presentes en la dilución, de tal manera que la solución corresponde a una concentración de  $1,5 \times 10^6$  UFC/ml <sup>(18,38)</sup>.

### **Sembrado de *Candida albicans*:**

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 <sup>(34, 38)</sup>.

**Determinar el efecto inhibitorio (prueba de susceptibilidad):**

Se realizó el sembrado de *Candida albicans* en las placas Petri, en la cual se utilizó la prueba de susceptibilidad mediante el método de Difusión de Discos (Kirby- Bauer), se colocaron discos estériles sobre los cultivos, con la ayuda de una pinza estéril (presionando los discos suavemente, con el fin de asegurar la adherencia en el agar sólido), se colocó 4 discos por placa, distribuido a distancias semejantes, se agregó 20 µl del extracto acuoso, en las concentraciones de 22 mg/ml y 44 mg/ml en cada disco. Para los grupos controles, en el control estándar se utilizó 25 µg/disco de fluconazol (agente soluble en agua, estandarizado por el CLSI en el documento M44A, M44-P), y un grupo control (SSF). Seguidamente fueron incubados a 35°C por 24 horas, la lectura de los halos de inhibición fue tomada en milímetros, por el cual se utilizó un calibrador Vernier, y se determinó el efecto inhibitorio según la Escala de Duraffourd<sup>(38 - 41)</sup>.

**Escala de Duraffourd:**

Según esta escala utilizada se puede determinar de manera cualitativa la actividad antimicrobiana, basada en los diámetros del halo de inhibición<sup>(38,39)</sup>.

**Duraffourd**, que nos indica<sup>(38,39)</sup>:

- 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 (+++).

**Recolección de datos:**

En la investigación se utilizó, un cuaderno de campo, donde se diseñó una ficha de recolección de datos, asignando un código referencial a cada grupo experimental y una respectiva numeración a cada placa.

**4.5. Plan de análisis:**

Los datos fueron tabulados en un Software Microsoft Excel versión 2010, para su procesamiento se utilizó un paquete estadístico IBM SPSS V.22. 0. Para el análisis, se sometieron los datos a la prueba CHAPIRO – WILKS para determinar la normalidad de los grupos de estudio, seguidamente elegir las pruebas paramétricas de ANOVA y T-STUDENT para el análisis de los resultados.

#### 4.6. 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
EFFECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LOS BULBOS DE <i>Allium sativum</i> (Ajo) FRENTE A <i>Candida albicans</i> .	¿El extracto acuoso de los bulbos de <i>Allium sativum</i> presenta efecto antimicótico frente a <i>Candida albicans</i> ?	<p><b>Objetivo general:</b> Determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto acuoso de los bulbos de <i>Allium sativum</i> frente a <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Objetivos específicos:</b> Determinar el efecto antimicótico del extracto acuoso de los bulbos de <i>Allium sativum</i> a una concentración de 22 mg/ml frente a <i>Candida albicans</i>, expresado en mm de diámetro del halo de inhibición. Medir el efecto antimicótico del extracto acuoso de los bulbos de <i>Allium sativum</i> a una concentración de 44 mg/ml frente a <i>Candida albicans</i>, expresado en mm de diámetro del halo de inhibición. Comparar el efecto antimicótico del extracto acuoso de los bulbos de <i>Allium sativum</i> a 22 mg/ml y a 44 mg/ml frente a <i>Candida albicans</i>. Comparar el efecto antimicótico in vitro del fluconazol y el extracto acuoso de los bulbos de <i>Allium sativum</i> a diferentes concentraciones frente a <i>Candida albicans</i>.</p>	<p><b>Hipótesis alternativa (H1):</b> El extracto acuoso de los bulbos de <i>Allium sativum</i> SI tiene efecto antimicótico frente a <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Hipótesis Nula (H0):</b> El extracto acuoso de los bulbos de <i>Allium sativum</i> NO tiene efecto antimicótico frente a <i>Candida albicans</i>.</p>	Experimental, de enfoque cuantitativo y corte transversal.	<p><b>Variable Independiente</b></p> <p>Extracto del <i>Allium sativum</i></p> <p><b>Variable Dependiente</b></p> <p>Efecto antimicótico.</p>	Es el producto que se obtuvo mediante la homogenización de los bulbos de <i>Allium sativum</i> en agua destilada.	<p><b>Grupo experimental 1</b> (22mg/ml)</p> <p><b>Grupo experimental 2</b> (44mg/ml)</p> <p><b>Grupo control</b> negativo. (0mg/ml)</p> <p><b>Grupo control</b> estándar Fluconazol (25µg/disco)</p> <p>Variable cualitativa Nominal.</p> <p>Mm (milímetros)</p> <p>Variable cuantitativa de razón.</p>	Prueba CHAPIRO – WILKS para determinar la normalidad de los grupos de estudio, Pruebas paramétricas de ANOVA y T-STUDENT para el análisis de los resultados.

#### **4.7. Principios éticos:**

El presente trabajo de investigación, se realizó de tipo experimental, *in vitro*, se trabajó con medios de cultivo (hongos), respetando debidamente las normas de bioseguridad dentro y fuera del laboratorio. Según los principios rigen la actividad investigadora, la cual establece, que en toda investigación debe realizarse una evaluación exhaustiva de los riesgos y beneficios probables, para el medio ambiente y para las personas implicadas en el desarrollo del trabajo <sup>(42)</sup>.

## V. RESULTADOS:

### 5.1. Resultados:

**Tabla 01** Evaluación del efecto antimicótico *in vitro* del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* frente a *Candida albicans*.

GRUPOS	HALOS DE INHIBICION ( $\bar{x} \pm DS$ en mm )					Sig. (P)**
	Control negativo	Control estándar	Experimental 01	Experimental 02		
	N° Placa	Solución Salina Fisiológica	Fluconazol (25 $\mu$ g /disco)	Extracto acuoso A. <i>sativum</i> (22mg/ml)	Extracto acuoso A. <i>sativum</i> (44mg/ml)	
4+ Horas	1	6 $\pm$ 0	26.82 $\pm$ 0.99	34.5 $\pm$ 3	39.37 $\pm$ 2.09	0.000
	2	6 $\pm$ 0	25.5 $\pm$ 2.51	32.75 $\pm$ 2.5	38.75 $\pm$ 2.95	
	3	6 $\pm$ 0	26.5 $\pm$ 8.06	32.5 $\pm$ 2.38	37.97 $\pm$ 1.63	
	4	6 $\pm$ 0	23 $\pm$ 5.35	30.75 $\pm$ 2.06	36.5 $\pm$ 2.48	
	5	6 $\pm$ 0	24.75 $\pm$ 2.36	31.5 $\pm$ 3.10	36.52 $\pm$ 0.68	
	<b>Promedio</b>	6 $\pm$ 0	25.31 $\pm$ 3.85	32.4 $\pm$ 2.61	37.82 $\pm$ 1.97	

\*\*P (<0.05); PRUEBA ANOVA.

**Fuentes:** Paquete estadístico SPSS 22.0, datos obtenidos en la investigación.

**Tabla 02** Comparación del efecto antimicótico *in vitro* del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* frente a *Candida albicans* de los diferentes grupos de experimentación.

	<b>GRUPOS</b>	<b>Significancia (p) **</b>
	<b>Experimental 01</b>	
	vs	0.00
	<b>Control estándar</b>	
	<b>Experimental 02</b>	
<b>24 horas</b>	vs	0.00
	<b>Control estándar</b>	
	<b>Experimental 01</b>	
	vs	0.00
	<b>Experimental 02</b>	

\*\*P (<0.05); PRUEBA T-STUDENT.

**Leyenda: Experimental 01:** Extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* a una concentración de 22 mg/ml.

**Experimental 02:** Extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* a una concentración de 44 mg/ml.

**Fuentes:** Paquete estadístico SPSS 22.0, datos obtenidos en la investigación.

## 5.2. Análisis de resultados:

El efecto antimicótico del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* frente a *Candida albicans* fue demostrado, para la cual el extracto acuoso de *Allium sativum* a la concentración de 22 mg/ml presentó un halo de inhibición de 32.4 mm de diámetro; la concentración de 44 mg/ml presentó un halo de inhibición de 37.82 mm de diámetro, el control estándar fluconazol (25 µg/disco) presentó un halo de inhibición de 25.31 mm de diámetro, tomados a las 24 horas. Por tanto, *Allium sativum* sí presentó efecto antimicótico superior en ambas concentraciones. Al analizar los resultados, según la Tabla 01, la prueba paramétrica de ANOVA, en donde se compara los grupos de estudio, nos muestra un nivel de significancia de 0.000, es decir el Valor de P es menor que el alfa (0.05), por lo tanto, existe una diferencia significativa en los resultados obtenidos, según la concentración de 44mg/ml posee un efecto antimicótico superior, seguido de la concentración de 22mg/ml y el fluconazol.

En la Tabla 02, se realizó el análisis estadístico con la prueba paramétrica T-STUDENT, se aprecia que el valor de  $P < 0.05$  en el enfrentamiento de los grupos de experimentación, por lo que se observó que entre los promedios de los halos de inhibición obtenidos, entre la concentración de 22mg/ml muestran diferencias significativas en comparación con el fluconazol, también se muestra diferencia significativa entre la concentración de 44 mg/ml y fluconazol, es decir que tanto la concentración de 22mg/ml y 44mg/ml muestran una diferencia estadísticamente significativa, en efecto el extracto acuoso de *Allium sativum* presentó efecto antimicótico mayor al ser evaluado con el fluconazol frente a *Candida albicans*;

con influencia de las concentraciones utilizadas de los extractos, tales resultados se asemejan con otras investigaciones.

Meriga et al. En el año 2012, evaluó la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* contra *Candida albicans*, el halo de inhibición que observaron con el extracto acuoso (100µg/ml) fue de 20 mm, (CMI) a las 48 h <sup>(5)</sup>. En esta investigación se trabajó a concentraciones de 22 mg/ml y 44 mg/ml del extracto, y como estándar al fluconazol (25 µg), fue evaluado a las 24 horas, según Meriga et al, obtuvieron un halo de inhibición de 20 mm a las 48 horas <sup>(5)</sup>, se obtuvo un halo de inhibición de 32 mm a las 24 horas con la concentración de 22mg/ml, la discrepancias que existen entre las medidas de los halos, está relacionada principalmente a la concentración que se ha utilizado en ambos estudios.

Gavanji et al. En el año 2017 determinaron el efecto de extractos (*Allium cepa* frente a *Candida albicans*. Obtuvieron una concentración mínima fungicida (MFC) de 169 µg/ml, mostraron los menores efectos sobre *Candida albicans*, a diferencia de los medicamentos (Nistatina y Anfotericina B) que utilizaron, su efecto fue superior al de los extractos <sup>(13)</sup>. En la evaluación antifúngica que se trabajó, se utilizó las concentraciones de 22 mg/ml y 44 mg/ml del extracto acuoso de *Allium sativum*, a diferencia de Gavanji, trabajó con *Allium cepa*, planta de la misma familia de *Allium sativum* <sup>(13)</sup>. El efecto superior se debe a las concentraciones y teóricamente, *Allium sativum*, presenta mayor compuestos azufrados que otra especie de los *Allium*, responsables de la actividad antifúngica <sup>(20)</sup>.

Mendoza et al. En el año 2017, determinaron que todas las cepas en forma planctónica y biopelícula de *Candida albicans* son susceptibles a 1mg/ml del aceite esencial de *Allium sativum* a diferencia del fluconazol <sup>(14)</sup>. Guardia, en el año 2014, determinó la acción antimicrobiana del *Allium sativum l*, donde trabajó con extractos al 100%, el extracto puro (37,5 mm), frente a *Candida albicans*, tuvo mayor halo de inhibición en 24 horas <sup>(16)</sup>. En esta investigación *in vitro* se evaluó la actividad antimicótica, donde obtuvimos una halo de inhibición de 32,4 mm (22 mg/ml) y 37,8 mm (44 mg/ml) en 24 horas, según los datos obtenidos *Allium sativum* muestra un efecto antimicótico superior según las concentraciones, la discrepancias probablemente se deba a la concentración y al tipo de extracto que se utilizó en ambas investigaciones.

Munayco et al, en el año 2013, determinó el efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* frente a *Candida albicans*, utilizó diversas concentraciones, en la que determinó, una mayor actividad antifúngica frente a la concentración de 120 mg/ ml, con un halo de inhibición de 31mm, tuvieron como referencia al estándar de fluconazol a una concentración de 2mg/ml (32mm) <sup>(15)</sup>. En la presente investigación *in vitro*, se evaluó la actividad antimicótica del extracto acuoso de *Allium sativum*, se obtuvo una halo de inhibición de 32,4 mm (22 mg/ml) y 37,8 mm (44 mg/ml) en 24 horas, y como estándar al fluconazol 25µg (25.31mm), por tanto las discrepancias que existen frente a los halos obtenidos con los del autor Munayco, se relaciona con las concentraciones de 22 mg/ml y 44 mg/ml, mostraron un efecto antimicótico superior, resaltando las bajas concentraciones utilizadas.

Los hallazgos probablemente se deban al método utilizado y el tipo de extracto. Según corrales et al, en su investigación basada en revisiones bibliográficas en el año 2014, resalta que uno de los principios activos, principal y responsable del efecto antifúngico, alicina, se ve disminuido tal efecto, debido a la reacción de extracción por solventes<sup>(11)</sup>. Lo que explicaría el mayor efecto, según los halos de inhibición que se obtuvo a diferencia del autor Munayco.

Según las investigaciones de diversos autores, con respecto al efecto antifúngico de *Allium sativum* contra *Candida albicans*, alicina, causa una disminución del consumo de oxígeno, inhibe el crecimiento del hongo al interferir en la síntesis de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, causando daño a nivel de la pared celular del hongo <sup>(11,12, 15,19)</sup>. El ajoeno, sustancia que se origina del metabolismo de la alicina, actúa al producir cambios en la composición lipídica, fosfolipídica, además de inhibir a la enzima glutatión reductasa, enzima primordial en la regulación de la carga oxidativa, que se genera durante el metabolismo celular, produciéndose un desequilibrio que tiene como consecuencia el incremento en la aparición de radicales libres causando muerte celular <sup>(11,12, 23)</sup>.

Basándonos en los halos de inhibición medidos de las concentraciones de 22mg/ml y 44mg/ml, son superiores a 20 mm, según la escala de Duraffourd <sup>(38,39)</sup>; en efecto, *Candida albicans* es sumamente sensible frente al extracto acuoso de *Allium sativum*; en cuanto al fluconazol, basado en los halos de inhibición obtenidos a la concentración de 25 µg/disco, según el método de estandarización de CLSI, M44 A, establece que los halos de 15-18 mm, se considera sensible dependiente de la dosis <sup>(40)</sup>; por tanto *Candida albicans* mostró ser sensible al fluconazol.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:

### 6.1. Conclusiones:

- El extracto acuoso de *Allium sativum* mostró efectividad antimicótica *in vitro* frente a *Candida albicans*, en la cual se demostró por los mayores halos de inhibición.
- El efecto antimicótico de la concentración de 22 mg/ml del extracto acuoso de *Allium sativum* frente a *Candida albicans*, presentó halos de inhibición de 32.4 mm de diámetro, medido a las 24 horas de incubación.
- El efecto antimicótico de la concentración de 44 mg/ml del extracto acuoso de *Allium sativum* frente a *Candida albicans*, presentó halos de inhibición de 37.82 mm de diámetro, medido a las 24 horas de incubación.
- Se comparó el efecto antimicótico de ambas concentraciones experimentales del extracto acuoso de *Allium sativum* frente a *Candida albicans*, en la que se observó el mayor efecto antimicótico de la concentración de 44mg/ml.
- Según la comparación de los grupos, se demostró el efecto antimicótico de *Allium sativum* a diferentes concentraciones, presentó mayores halos de inhibición a diferencia de fluconazol.

## 6.2.Recomendaciones:

- Se recomienda realizar una investigación de los metabolitos puros, la cual son responsables de la actividad antimicótica del extracto de *Allium sativum*.
- Según los resultados obtenidos *in vitro* se recomienda aplicar el extracto de *Allium sativum* in vivo para determinar el efecto antimicótico.
- Realizar una investigación *in vitro* del extracto de *Allium sativum* frente a otros hongos que forman parte de la microbiota del ser humano.
- Es recomendable incentivar el uso de plantas medicinales como, *Allium sativum*, debido a sus propiedades terapéuticas, de tal manera que se utilice bajo estándares establecidos de seguridad y calidad de las plantas.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Reid A, et al. Traditional Medicine: The Ancient Roots of Modern Practice. Medicinal Plants for Holistic Health and Well - Being. 2018, Pages 1-11. [Citado 24 Junio 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128124758000019>
2. Rodríguez A, et al. Actualidad de las plantas medicinales en terapéutica. Acta Farmacéutica Portuguesa. 2015, vol. 4, n. 1, pp. 42-52. [Citado 24 Junio 2018]. Disponible en: <http://www.actafarmacaportuguesa.com/index.php/afp/article/view/59/118>
3. Ekor M .The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. 2013; 4: 177.PMID: 24454289; PMCID: PMC3887317; PMC3887317. [Citado 25 Abril 2017]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3887317/>
4. Marti G, et al. O15 Bioaccessibility of organosulphur compounds from *Allium sativum*. Biochemical Pharmacology. Volume 139, 1 September 2017, Page 114. [Citado 24 Junio 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295217304033>
5. Meriga B, Mopuri R, Muralikrishna T. Insecticidal, antimicrobial and antioxidant activities of bulb extracts of *Allium sativum*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. Volume 5, Issue 5, May 2012, Pages 391-395. [Citado 25 Junio 2018]. Disponible en: [https://ac.els-cdn.com/S1995764512600650-00650/1-s2.0-S1995764512600650-main.pdf?\\_tid=85eac6d9-8c0e-4e08-9b55-b6b6ac5c1752&acdnat=1529958692\\_4489d4f9011b4c66ad610c5c7329787b](https://ac.els-cdn.com/S1995764512600650-00650/1-s2.0-S1995764512600650-main.pdf?_tid=85eac6d9-8c0e-4e08-9b55-b6b6ac5c1752&acdnat=1529958692_4489d4f9011b4c66ad610c5c7329787b)

6. Musubika B, Domínguez G, Betancourt M, Nkwanguet D. Antithrombotic effect of combination of *Allium sativum* L. ethanol extract and warfarin in Wistar rats. Rev Cubana Plant Med vol.20 no.3 Ciudad de la Habana jul.-set. 2015. [Citado 25 Junio 2018]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962015000300005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000300005)
7. Lawal B, et al. Antimicrobial evaluation, acute and sub – acute toxicity studies of *Allium sativum*. Journal of Acute Disease. Volume 5, Issue 4, 1 July 2016, Pages 296-301. [Citado 25 Junio 2018]. Disponible en: [https://ac.els-cdn.com/S2221618916300592/1-s2.0-S2221618916300592-main.pdf?\\_tid=ec78c0aa-3df7-4dd6-a958-19e4c821ec38&acdnat=1529958495\\_6863eac367f0193b1061aefbd5065041](https://ac.els-cdn.com/S2221618916300592/1-s2.0-S2221618916300592-main.pdf?_tid=ec78c0aa-3df7-4dd6-a958-19e4c821ec38&acdnat=1529958495_6863eac367f0193b1061aefbd5065041)
8. Martínez I, González M, Torres H. Identificación molecular de *Cándida lusitaniae* en infección de tracto respiratorio inferior. Rev Argent Microbiol. 2014;46 (4):307-310. [Citado 25 junio 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v46n4/v46n4a05.pdf>
9. Fuentes M, Hermsilla G, Alburquenque C, Falconer M, Amaro J, Tapia C. Caracterización de los mecanismos de resistencia a azoles en aislados clínicos chilenos de *Candida albicans*. Rev. Chil. Infectol. vol.31 no.5 Santiago oct. 2014. [Citado 26 Junio 2018]. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182014000500001](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182014000500001)
10. Robledo L, et al. Actividad antifúngica in vitro de productos vegetales frente a hongos dermatofitos. Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica. Año 2, No. 9 Julio-Agosto 2014. [Citado 26 Junio 2018].

Disponible en: [http://riiit.com.mx/apps/site/files/actividad\\_antifngica\\_in\\_vitro\\_de\\_productos\\_vegetales\\_frente\\_a\\_hongos\\_dermatofitos\\_v1.pdf](http://riiit.com.mx/apps/site/files/actividad_antifngica_in_vitro_de_productos_vegetales_frente_a_hongos_dermatofitos_v1.pdf)

11. Corrales I, Reyes J. Actividad antimicrobiana y antifúngica de *Allium sativum* en estomatología. Revista 16 de abril. 2014; (254):59-68. [Citado 05 Mayo 2017]. Disponible en: [http://www.rev16deabril.sld.cu/index.php/16\\_04/article/view/22/pdf\\_15](http://www.rev16deabril.sld.cu/index.php/16_04/article/view/22/pdf_15)
12. Jiménez A. Estudio comparativo in vitro del efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (Ajo) blanco, purpura y clorhexidina al 0.12 % sobre cepas de *Streptococcus mutans*. [Tesis]. Universidad Central del Ecuador, 2015. [Citado 27 Mayo 2017]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/5335/1/T-UCE-0015-187.pdf>
13. Gavanji S, Larki B. Comparative Effect of Propolis of Honey Bee and Some Herbal Extracts on *Candida Albicans*. Chin J Integr Med. 2017 Mar; 23 (3):201-207. [Citado 13 Junio 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Comparative+Effect+of+Propolis+of+Honey+Be+e+and+Some+Herbal+Extracts+on+Candida+Albicans>
14. Mendoza A, Aranda S, Bermeo J, Gómez A, Pozos A, Sánchez L. The essential oil of *Allium sativum* as an alternative agent against *Candida* isolated from dental prostheses. Revista Iberoamericana de Micología Volume 34, Issue 3, July–September 2017, Pages 158-164. [Citado 26 Junio 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1130140617300475#!>
15. Munayco E, Moromi H. Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Odontol. Sanmarquina 2013; 16(2): 21-24.

- [Citado 26 Junio 2018]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/5400/5855>
16. Guardia S. El Ajo y sus efectos antimicrobianos. Revista IN CRESCENDO - Ciencias de la Salud - Vol. 01, N 02, 2014, pp. 415 – 419. [Citado 25 Junio 2018]. Disponible en: <http://revistas.uladech.edu.pe/index.php/increscendo-salud/article/view/373/250>
17. Torres V, Castro E. Fitoterapia. Rev. Act. Clin. Med v.42 La Paz mar. 2014. [Citado 25 junio 2018]. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014000300001 & script=sci\\_arttext](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014000300001 & script=sci_arttext)
18. Torres J. “Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de Luma chequen (molina) a. gray “arrayán” frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Lima - Perú.” [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2014. [Citado 28 Junio 2018]. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3605/1/Torres\\_cj.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3605/1/Torres_cj.pdf)
19. Ramírez H, Castro L, Martínez E. Efectos Terapéuticos del Ajo (*Allium Sativum*). Salud y Administración Volumen 3 Número 8 Mayo-Agosto 2016. [Citado 29 Junio 2018]. Disponible en: <http://www.unsis.edu.mx/SaludyAdministracion/08/A4%20-%20Efectos%20Terapeuticos%20Ajo.pdf>
20. Jangam G, Badole S. Polyphenols in Human Health and Disease. 2014, Pages 1401-1419. [Citado 26 Junio 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/sulfur-compounds>

21. Reda M. Efficacy of *Allium sativum* (garlic) against experimental cryptosporidiosis. Alexandria Journal of Medicine. Volume 48, Issue 1, March 2012, Pages 59-66. [Citado 26 Junio 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S209050681100128X>
22. Memudu A, Akinrinade I, Ogundele O. Retention of testicular integrity and testosterone levels upon ingestion of garlic cloves (*Allium sativum*) in the Sprague - Dawley rat. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine .Volume 5, Issue 4, April 2015, Pages 319-323. [Citado 26 Junio 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169115303518>
23. Kuete V, Medicinal Spices and Vegetables from Africa Therapeutic Potential Against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases 2017, Pages 645-673. [Citado 26 Junio 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/ajoene>
24. Majewski M. *Allium sativum*: facts and myths regarding human health. Rocznik Panstw Zakl Hig. 2014;65 (1):1-8. PMID: 24964572. [Citado el 26 Junio 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24964572>
25. Goncharov N, Orekhov A, Voitenko N, Ukolov A, Jenkins R, Avdonin P. Chapter 41 – Organosulfur Compounds as Nutraceuticals. Efficacy, Safety and Toxicity 2016, Pages 555-568 . [Citado 27 Junio 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128021477000413>
26. François L. Mayer, Duncan Wilson and Bernhard Hube. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. Virulence 4:2, 119–128; February 15, 2013; © 2013 Landes Bioscience. [Citado 28 Junio del 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3654610/pdf/viru-4-119.pdf>

27. Siobhan A. The *Candida* Pathogenic Species Complex. Cite this article as Cold Spring Harb Perspect Med 2014;4: a019778. [Citado 28 de Julio 2018]. Disponible en: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/4/9/a019778.full.pdf+html>
28. Calle N, Santa C, Cardona N. Factores de virulencia para la infección de tejidos queratinizados por *Candida albicans* y hongos dermatofitos. Rev CES Med 2012; 26(1): 43-55. [Citado 29 Junio 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v26n1/v26n1a05.pdf>
29. Ying Chieh Yeh, Hung Yen Wang, Chung Yu Lan .*Candida albicans* Aro1 affects cell wall integrity, biofilm formation and virulence. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. Available online 17 May 2018. [Citado 28 Junio 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1684118218301051>
30. Brown A, Brown G, Netea M, Gow N. Metabolism impacts upon *Candida* immunogenicity and pathogenicity at multiple levels. Trends in Microbiology. Volume 22, Issue 11, November 2014, Pages 614-622. [Citado 29 Junio 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X14001395>
31. Albuquerque C, Tapia C. Interacción *Candida albicans* - Hospedero: un proceso complejo en el que la inmunidad innata juega un importante papel. Bol. Micol. 2013; 28(2):37-47. [Citado 29 Junio 2018]. Disponible en: [revistas.uv.cl/index.php/Bolmicol/article/download/875/852](http://revistas.uv.cl/index.php/Bolmicol/article/download/875/852)
32. Gubelin W, De la Parra R, Giesen L. Micosis superficiales. Revista Médica Clínica Las Condes. Volume 22, Issue 6, November 2011, Pages 804-812.

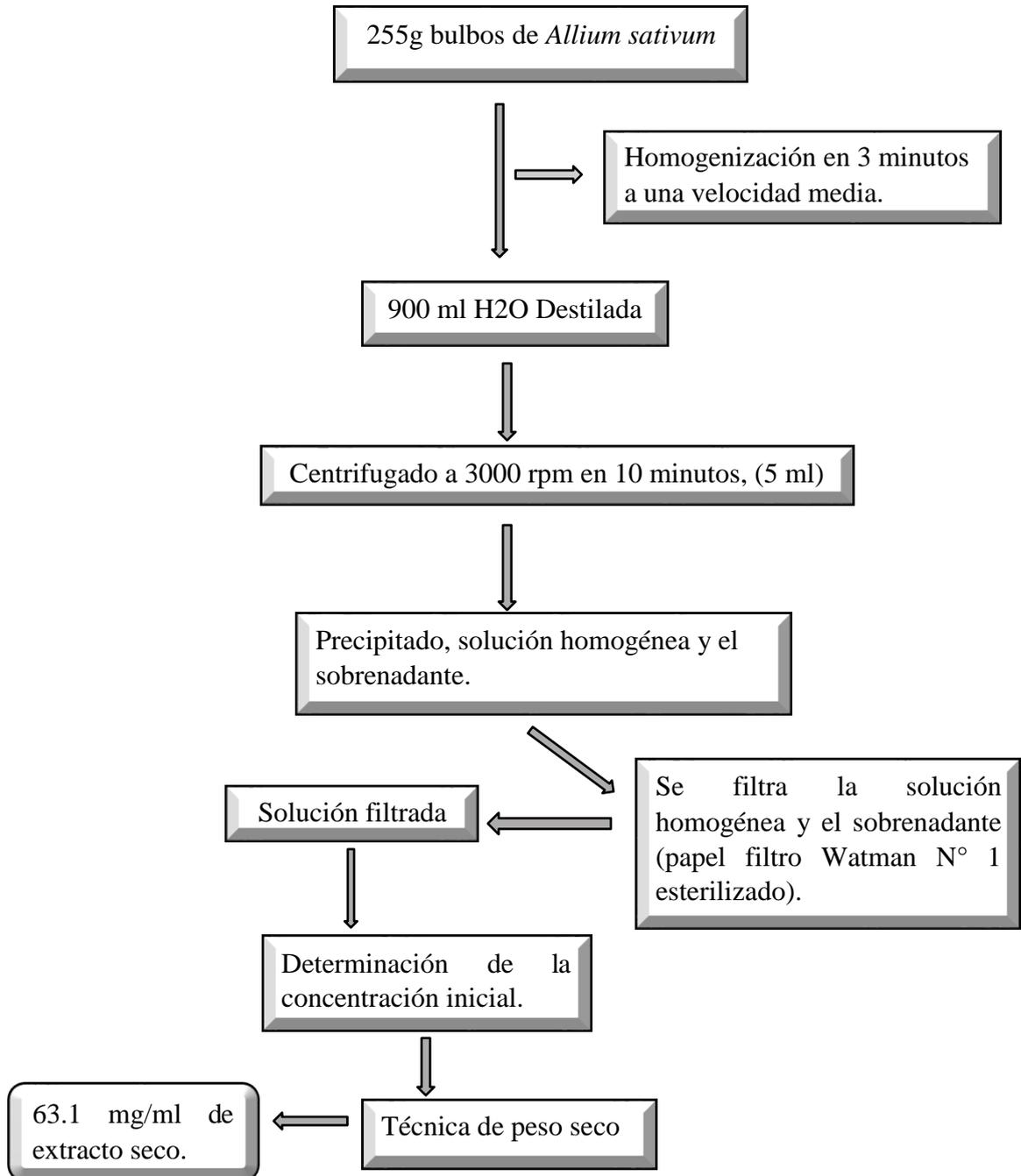
- [Citado 01 Julio 2018]. Disponible en: [https://ac.els-cdn.com/S071686401170493X/1-s2.0-S071686401170493X-main.pdf?\\_tid=aaa4bf0e-49e2-4ca6-bfef-d4474a893182&acdnat=1530745483\\_22eb42c53f3a171f6b6dd06a8cfb0527](https://ac.els-cdn.com/S071686401170493X/1-s2.0-S071686401170493X-main.pdf?_tid=aaa4bf0e-49e2-4ca6-bfef-d4474a893182&acdnat=1530745483_22eb42c53f3a171f6b6dd06a8cfb0527)
33. Otálora S, Herrero J, Hernández A, Moral E, Gómez J, Segovia M. Micosis sistémicas en pacientes no inmunocomprometidos. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* Volume 12, Issue 57, May 2018, Pages 3349-3356. [Citado 01 Julio 2018]. Disponible en: <https://www.science-direct.com/science/article/pii/S030454121830132X>
34. Puga D. Actividad anti fúngica: estudio microbiológico comparativo entre ajoeno y el aceite esencial de hierba luisa al 100% sobre cepas de *Candida albicans*. [Tesis]. Universidad Central del Ecuador Facultad de Odontología. Ecuador, 2015. [Citado 06 Julio 2018]. Disponible en: <http://www.dspace.uc e.edu.ec/bitstream/25000/5330/1/T-UCE-0015-197.pdf>
35. Ismaiel A et al. Efficacy of aqueous garlic extract on growth, aflatoxin B1 production, and cyto-morphological aberrations of *Aspergillus flavus*, causing human ophthalmic infection: topical treatment of A. flavus keratitis. *Braz J Microbiol.* 2012 Oct; 43 (4):1355-64. PMID: 24031964 PMCID: PMC3769018 [Citado 07 Julio 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Efficacy+of+aqueous+garlic+extract+on+growth%2C+aflatoxin+b1+production%2C+and+cytomorphological+aberrations+of+aspergillus+flavus>
36. 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 07 Julio 2018]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8640/tesis598.pdf>; jsessionid = D 18 26 742 2138 5530 C38C0A 49 4EA81 FA3? Sequence = 1
37. Eucast. Estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Versión 2.1 Febrero de 2012. [Internet]. [Citado 08 Julio 2018]. Disponible en: <http://coesant-seimc.org/documents/Descripci%C3%B3n%20del%20m%C3%A9todo%20de%20disco.pdf>
38. 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.
39. 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>
40. Cantón E, Martín E, Espinel A. Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). Revista Iberoamericana de Micología - ISBN: 978-84-611-8776-8. 2007. [Internet]. [Citado 09 Mayo 2017]. Disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>
41. Zapata F, Cardona N. Lo que debemos saber sobre los métodos de sensibilidad a los antifúngicos. Rev CES Med 2012; 26 (1): 71-83. [Citado 10 Julio 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v26n1/v26n1a07.pdf>

42. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para La Investigación. Versión 001. Aprobado por acuerdo del Consejo Universitario con Resolución N° 0108-2016-CU-Uladech Católica, de fecha 25 de enero de 2016. [Citado 10 Julio 2018]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>

**ANEXOS:**

**Anexo 01:** Obtención del extracto de los bulbos de *Allium sativum*:



**Anexo 02** Prueba de CHAPIRO – WILKS para determinar la normalidad de los grupos de estudio del efecto antimicótico *in vitro* del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* frente a *Candida albicans*.

GRUPO	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Estadístic	gl	Sig.	Estadístic	gl	Sig.
		o			o	
<b>24 Horas</b> Estándar	.180	5	.200(*)	.935	5	.633
Experimental 01	.203	5	.200(*)	.967	5	.854
Experimental 02	.242	5	.200(*)	.891	5	.361

**Fuente:** Paquete estadístico SPSS 22.0 sobre los datos obtenidos en la investigación.

**Interpretación:** Al realizar el análisis de los datos obtenidos en este trabajo de investigación, Según el anexo 02, se determinó los grupos de estudio mediante la prueba de CHAPIRO – WILKS, teniendo en cuenta el número de muestra utilizadas en la investigación, menores de 30 datos. En la tabla se observa la significancia el valor  $P > 0.05$  es decir se acepta la hipótesis nula por lo que los datos provienen de una distribución normal, en la cual se hace uso de pruebas paramétricas como ANOVA y T-STUDENTS dentro de la investigación.

**Anexo 03** Datos válidos según criterio de normalidad del efecto antimicótico *in vitro* del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* frente a *Candida albicans*.

GRUPO	Casos					
	Válidos		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Negativo	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
Estándar	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
<b>24 Horas</b> Experimental 01	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
Experimental 02	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

**Fuente:** Paquete estadístico SPSS 22.0 sobre los datos obtenidos en la investigación.

**Interpretación:** Según el anexo 03, se observa que el 100% de los datos que se obtuvieron en la investigación, si cumple el supuesto de la normalidad, donde todos los datos son válidos y no se observan datos perdidos.

## FIGURAS

**Figura 01:** *Allium sativum*



**Figura 02:** Cultivo Madre - *Candida albicans*.



**Figura 03:** Rejuvenecimiento y sembrado de *Candida albicans*.





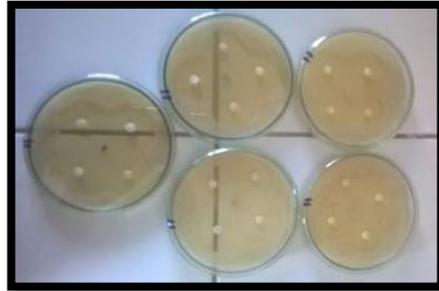
**Figura 04:** Grupo Estándar- Fluconazol ,25 $\mu$ g por disco en cada placa.



**Figura 05:** Control Negativo - *Candida albicans*, expuesto a Solución Salina Fisiológica por 24 horas.



**Figura 06:** Grupo experimental 01, *Candida albicans* expuesto a una concentración de 22 mg/ml del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* en 24 horas.



**Figura 07:** Grupo experimental 02, *Candida albicans* expuesto a una concentración de 44 mg/ml del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* en 24 horas.



**Figura 08:** Incubación de las placas sembradas a 35°C.

