



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**EFEECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO
ACUOSO DEL BULBO DE *Allium sativum* L. (AJO)
SOBRE CEPAS DE *Epidermophyton floccosum***

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

AUTORA

ALAYO MUÑOZ ELBA RUTH

ORCID: 0000-0003-2022-8419

ASESOR

SÁNCHEZ MORENO, HÉCTOR MELVIN

ORCID: 0000-0003-0970-6301

TRUJILLO – PERÚ

2019

EQUIPO DE TRABAJO

AUTORA

Alayo Muñoz, Elba Ruth

ORCID: 0000-0003-2022-8419

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Trujillo, Perú

ASESOR

Sánchez Moreno, Héctor Melvin

ORCID: 0000-0003-0970-6301

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 DE EVALUACIÓN DE TESIS



Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente



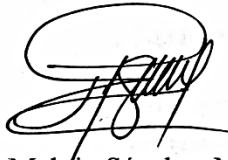
Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro



Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro



Héctor Melvín Sánchez Moreno

Asesor

AGRADECIMIENTO

A Dios todopoderoso:

Por permitirme llegar hasta esta instancia de mi vida profesional por darme la luz y guiar el camino que debo seguir.

A la Universidad ULADECH, por brindarme la oportunidad de estudiar en sus aulas para lograr ser profesional.

A mis maestros:

Quienes nunca desistieron al enseñarme, por su esfuerzo y dedicación.

A mis hermanos:

Por su amor, cariño y aliento permanente.

DEDICATORIA

A mis hijos

Quienes me apoyaron en toda mi carrera profesional de manera incondicional, brindándome su tiempo y amor.

A mi esposo

Quien me apoyó y alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir, siempre estuvo a mi lado en los buenos y en los malos momentos.

A mis padres:

Quienes con su apoyo incondicional en todo momento han permitido que pueda terminar con éxito mi carrera profesional.

RESUMEN

El presente estudio de diseño experimental, nivel explicativo, enfoque cuantitativo y de corte transversal; tuvo como objetivo determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto acuoso *Allium sativum* (ajo) sobre cepas de *Epidermophyton floccosum*. Se utilizó el extracto acuoso a diferentes concentraciones (18.86, 28.3, y 56.6%) para los grupos experimentales, como control estándar al fluconazol (25µg). se evaluó la sensibilidad utilizando el método de discos difusión. Kirby-Bauer para medir los halos de inhibición, obtenido a las 24 horas. Los resultados mostraron para el control estándar Fluconazol un halo de inhibición de (25.31±3.85mm); para el extracto 18,86% (20.3±0.47mm), 28,3%(25.1 ±0.97mm) 56,6%(31.05 ±31.05mm). Los resultados, fueron sometidos a la prueba ANOVA y a la prueba T-STUDENT, (P<0.05). se aprecia que existe una diferencia estadísticamente significativa en los tres tipos de concentraciones. Se concluyó que el extracto acuoso de *Allium sativum* (ajo) a dosis 28.3% y 56.6% tuvieron efecto similar al medicamento estándar fluconazol, frente a *Epidermophyton floccosum*.

Palabras claves: *Allium sativum*, Extracto, Antimicótico, *Epidermophyton floccosum*.

ABSTRACT

The present study of experimental design, explanatory level, quantitative approach and cross-sectional approach; The objective was to determine the in vitro antifungal effect of the aqueous extract *Allium sativum* (garlic) on strains of *Epidermophyton floccosum*. The aqueous extract was used at different concentrations (18.86, 28.3, and 56.6%) for the experimental groups, as standard control to fluconazole (25 µg). Sensitivity was evaluated using the diffusion disc method. Kirby-Bauer to measure the inhibition halos, obtained at 24 hours. The results showed for the standard control Fluconazole an inhibition halo of (25.31 ± 3.85mm); for the extract 18.86% (20.3 ± 0.47mm), 28.3% (25.1 ± 0.97mm) 56.6% (31.05 ± 31.05mm). The results were subjected to the ANOVA test and the T-STUDENT test, (P <0.05). It can be seen that there is a statistically significant difference in the three types of concentrations. It was concluded that the aqueous extract of *Allium sativum* (garlic) at doses 28.3% and 56.6% had a similar effect to the standard medicine fluconazole, compared to *Epidermophyton floccosum*.

Keywords: *Allium sativum*, Extract, Antifungal, *Epidermophyton floccosum*.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA 	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	5
2.1. Antecedentes.....	5
2.2. Bases teóricas	8
III. METODOLOGÍA.....	13
3.1. Tipo y diseño de la investigación	13
3.2. Población y Muestra	14
3.3. Definición y Operacionalización de Variables e indicadores	15
3.4. Técnicas e Instrumentos	16
3.5. Plan de Análisis	19
3.6. Matriz de Consistencia	20
3.7. Consideraciones éticas.....	21
IV. RESULTADOS	22
4.1. Resultados.....	22
4.2. Análisis de Resultados.....	24
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	26
5.1. Conclusiones.....	26
5.2. Recomendaciones	26
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
VII. ANEXOS	34

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1: Evaluación del efecto antimicótico in vitro del extracto de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) sobre cepas de *Epidermophyton floccosum* 22
- Tabla 2: Comparación del efecto antimicótico in vitro del extracto de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) sobre cepas de *Epidermophyton floccosum*.....23

INTRODUCCIÓN

El aprovechamiento de las plantas medicinales por el hombre se remonta a la antigüedad. el primer remedio para las diversas dolencias que presentaban al ser humano. El hombre las usó inicialmente de un modo instintivo, copiando el proceder de los animales. Más adelante, de un modo más empírico, a través del conocimiento que obtenía de los errores y aciertos. Finalmente, de un modo más racional a medida que, con el tiempo, iban conociendo sus propiedades terapéuticas ⁽¹⁾.

Cada día son más las personas interesadas en el abandono de los productos obtenidos a través de la manipulación química y buscan remedios únicamente naturales. Esta situación ha surgido en parte debido al mayor contacto que tiene la población con la naturaleza. Hoy en día en muchos países se ha incrementado las formas de curación tradicional por lo cual muchas personas en todo el mundo la usan como alternativa terapéutica, según la OMS existen 3 razones por la que se elige dicha alternativa, la limitación de la disponibilidad de los servicios de salud en países en vías de desarrollo, la influencia cultural de cada país y la utilización de medicina natural como terapia complementaria. La OMS destaca que, de los 119 fármacos derivados de las plantas identificadas, alrededor de 74% se usan en la medicina moderna ⁽²⁾.

La medicina natural es utilizada comúnmente por su confiabilidad relacionada con el empirismo, donde surgen consecuentemente los fitofármacos, que son empleados para mejorar la calidad de vida del paciente y a bajos costos en comparación con los medicamentos sintéticos, así como su toxicidad que *ejerce* sobre el cuerpo humano al administrarse, estos beneficios han captado la atención de grandes universidades y centros de investigación de todo el mundo ⁽³⁾.

Muchas enfermedades ocasionadas por microorganismos pueden atacar tanto a humanos como a animales, entre estas enfermedades podemos encontrar a la dermatosis causada por hongos, estos hongos también llamados dermatofitos tienen propiedades queratinolíticas y producen afecciones cutáneas llamadas tiñas, tanto hombre como animales padecen de estas, las dermatofitosis son infecciones con alta prevalencia a nivel mundial. Los dermatofitos se encuentran incluidos en tres generos según su taxonomía anamorfos, *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton* y uno teleomorfo, *Arthroderma*⁽⁴⁾.

Los aspectos clínicos distinguen diversas tiñas en el cuero cabelludo, distintas tiñas de piel glabra, correspondientes a lesiones en el cuerpo, cara, grandes pliegues, así como en palmas y plantas. Las uñas también son afectadas por dermatofitos. Según la zona afectada, los tratamientos antifúngicos se adaptan a la naturaleza y localización del hongo ⁽⁵⁾.

Durante el crecimiento de dermatofitos, con la queratina como única fuente de carbono, el pH extracelular cambia de ácido a alcalino. Esto crea un entorno en el que la mayoría de las proteasas queratinolíticas conocidas exhiben una actividad óptima. Estos eventos culminan en el establecimiento y mantenimiento de la infección, que puede ser crónica o aguda dependiendo de las especies dermatofitas^(6,7).

La resistencia microbiana es de gran importancia mundial. Aunque la mayoría de los medicamentos son todavía activos, la sombra ascendente de la resistencia significa que muchos de ellos pueden no serlo en poco tiempo. Los gérmenes patógenos despliegan la resistencia a los antimicrobianos por un proceso denominado clasificación natural. Cuando una población microbiana está expuesta a un antimicótico sucumbirán los

microorganismos más sensibles, dejando sólo aquellos que son sólidos al ataque de los antimicrobianos. Esos microorganismos pueden transferir sus genes de la resistencia a sus descendientes por replicación o a otras bacterias afines por «conjugación», proceso en el que los plásmidos que llevan los genes «saltan» de un microorganismo a otro. Este proceso es un fenómeno natural e imparabile, exacerbado por el abuso, el uso excesivo y el mal uso de los antimicrobianos en el tratamiento de las afecciones humanas. ^(8,9)

Teniendo en cuenta que nuestra población necesita medicamentos de costo reducido y alto beneficio, se ha realizado una investigación para encontrar nuevos componentes antimicrobianos que puedan emplearse en los casos de la resistencia microbiana a las nuevas generaciones de antibióticos. El alto costo y baja accesibilidad a los sistemas de salud, el aumento de la resistencia a antibióticos es lo que motiva a realizar esta investigación ya que se está orientando a la población para utilizar fuentes medicinales de origen herbolario ^(10, 11).

Existen muchas especies vegetales con propiedades medicinales, entre ellas tenemos a *Allium sativum* (ajo), que es una planta con propiedades terapéuticas conocidas desde la antigüedad posee propiedades antioxidantes, hipotensoras y propiedades antimicrobianas; se conoció la existencia de la alicina, el ajoeno, los tiosulfatos y una gama de compuestos organosulfurados como componentes esenciales de este bulbo y se comprobó, para muchos de ellos, una diversidad de efectos que abarcan desde propiedades antitrombóticas, antitumorales, antiparasitarias y antifúngicas. Sin embargo, el ajoeno, un producto de gran estabilidad, que se origina de la ruptura y la

reparación no enzimática de la alicina es el que presenta la mayor actividad cuantificada ⁽⁵⁻⁷⁾.

En esta investigación se planteó la siguiente pregunta de investigación.

¿Cuál es el efecto antimicótico in vitro del extracto acuoso del bulbo de *Allium sativum* (ajo) frente a cepas de *Epidermophyton floccosum*?

Los objetivos de la investigación fueron:

Objetivo general:

- Determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto acuoso de los bulbos *Allium sativum* (ajo) sobre cepas de *Epidermophyton floccosum*.

Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto antimicótico del extracto acuoso de los bulbos *Allium sativum* (ajo) a concentraciones de 18.86%, 28.3% y 56.6%.
- Comparar el efecto antimicótico del extracto acuoso de los bulbos *Allium sativum* (ajo) a diferentes concentraciones frente a un medicamento de referencia (Fluconazol).

II. REVISION DE LA LITERATURA

2.1 Antecedentes:

Según Juárez s, Díaz D, Méndez et al,2018 México ,en su investigación Efecto de extractos crudos de ajo (*Allium sativum*) sobre el desarrollo in vitro de *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus niger* demostraron *Aspergillus parasiticus* y *A. niger* son dos hongos productores de micotoxinas; aflatoxinas y ocratoxinas respectivamente su objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto *in vitro* de extractos crudos de ajo sobre el desarrollo de *Aspergillus parasiticus* y *A. niger* mediante diferentes ensayos. Evaluando su efecto sobre el desarrollo de los hongos, lo cual se cuantificó mediante halos de inhibición, n 1:2 (50 µL de extracto crudo) y 1:16 (6.25 µL de extracto crudo) dando como resultado actividad antifúngica del extracto de ajo frente a *A. parasiticus* y *A. niger*.^(12,13).

A nivel nacional en el estudio de Orbegoso et al., al desarrollarse en el 2018, relacionado al Efecto antimicótico in vitro del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* (Ajo) 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). Y se evaluó la sensibilidad utilizando el método de difusión, Kirby – Bauer para medir los diámetros de inhibición, obtenidos a las 24 horas en los diferentes grupos, Los resultados, mostraron 32,40mm 37.82mm, 25,31 mm respectivamente difiriendo significativamente entre ellos. Concluyéndose que el extracto acuoso de *allium sativum* presento efecto antimicótico frente a *candida albican*⁽¹⁴⁾.

Según Danladi et al., Nigeria. 2018, en la investigación publicada sobre Actividad antimicótica del extracto de ajo (*Allium sativum*) en algunos hongos seleccionados, Las muestras de ajo se compraron en el mercado central de Dutsinma, estado de Katsina. Las muestras se lavaron, separaron y pelaron para obtener la porción comestible. Los hongos se aislaron utilizando el método de cultivo y se identificaron según las características morfológicas. El extracto se preparó utilizando dos disolventes (acuoso y etanol) mediante el método de remojo. La actividad antifúngica del extracto de ajo acuoso y etanólico se determinó en algunos hongos seleccionados, a saber, *Fusarium* spp y *Rhizopus*.spp. ⁽¹⁵⁾.

De los resultados queda claro que, el extracto de etanol mostró más actividad en comparación con el extracto acuoso. El diámetro de las zonas de inhibición para el extracto etanólico osciló entre 4,1 y 14,3 mm, mientras que el del extracto acuoso osciló entre 2,4 y 10,4 mm. La concentración mínima inhibitoria (CMI) para el extracto etanólico fue de 2.5 mg / ml y 5.0 mg / ml para *Fusarium* spp y *Rhizopus* spp respectivamente. Mientras que para el extracto acuoso no hubo efecto en ambos organismos probados. De este estudio se puede concluir que el extracto de ajo mostró actividad antifúngica contra el organismo de prueba. Además, el extracto etanólico mostró actividad inhibitoria entre los hongos probados ⁽¹⁵⁾.

Fratiani et al., Italia.2017, centran sus investigaciones en la Caracterización bioquímica y actividad antimicrobiana y antifúngica de dos variedades endémicas de ajo (*Allium sativum* L.) de la región de Campania, sur de Italia. Analizaron extractos de los bulbos de las dos variedades endémicas "Rosato" y "Caposele" de *Allium*

sativum de la región de Campania, sur de Italia. Se determinó el contenido fenólico, el ácido ascórbico, el contenido de alicina y la actividad antimicrobiana y antifúngica *in vitro*. El extracto de polifenol exhibió actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y (solo por el extracto de Rosato) contra *Bacillus cereus*. El extracto de Caposele fue más efectivo para inhibir el crecimiento de *Aspergillus versicolor* y *Penicillium citrinum*. Por otro lado, el extracto de Rosato fue efectivo contra *Penicillium expansum*⁽¹⁶⁾.

según rodriguez et al, peru 2018 Efecto antifúngico del extracto de *allium sativum* en cepas de *trichophyton rubrum* atcc 1344, contrastado con ketoconazol, estudio *in vitro*. El estudio realizado fue experimental. Se trabajó con 10 placas Petri en diferentes concentraciones de extracto de ajo al 25%, 50%, 75% y 100%, además del ketoconazol como grupo estándar y solución fisiológica como control. Y se evaluó la sensibilidad utilizando el método de difusión, Kirby – Bauer para medir los diámetros de inhibición, encontrando como resultado 100 % (32.3 mm) y los diámetros más pequeños en concentraciones de 50 % y 25 % respectivamente (22.8 y 14.5 mm). como resultado se observó que a mayor concentración de *allium sativum* mejores son los resultados, evidenciándose que al 100% se encontró que ejerce efecto antimicótico.⁽¹⁷⁾

Según Robles et al., Perú. 2016, en el estudio sobre el efecto Antimicótico In Vitro de la solución de Ajo (*Allium Sativum*), la Avena Coloidal (Avena Sativa) y el Clotrimazol sobre Cultivos de *Candida Albicans* (ATCC 10231), . Este trabajo responde a un diseño experimental *in vitro*, de tipo aplicada, transversal, prospectivo, y de nivel descriptivo. Para la cual se usaron concentraciones diferentes del *Allium sativum* y Avena sativa, y se midieron los halos de inhibición formados alrededor de

los discos embebidos con cada una de las concentraciones sobre las cepas del *Candida albicans* (ATCC 10231).⁽¹⁸⁾.

Como resultado se obtuvo que las concentraciones mayores de 40% del *Allium sativum* mostraron efecto inhibitorio positivo en los cultivos de cepas de *Candida albicans* (ATCC 10231), mientras que la concentración de Avena sativa no tuvo efecto inhibitorio en los cultivos de cepas del *Candida albicans* (ATCC 10231). En conclusión, existe un efecto antimicótico de la solución de ajo (*Allium sativum*) inhibitorio positivo a las en cultivos de *Candida albicans* (ATCC 10231)⁽¹⁸⁾.

2.2. Bases teóricas de la investigación:

Fitoterapia:

La fitoterapia conlleva a recopilar datos históricos sobre los efectos curativos de diversas plantas y conducirlos a investigaciones científicas con el propósito de establecer seguridad de acuerdo con la tecnología para la búsqueda de nuevos principios activos, de acuerdo a ello se ha logrado seleccionar vegetales con específicas acciones curativas, descartando diversas plantas que llegarían a ser tóxicas, la cual muchas de ellas solo se han basado en creencias tanto en su efecto terapéutico como también en efectos no terapéuticos, debido a que se desconocen los componentes de cada especie vegetal como los procesos bioquímicos que se producen en organismo al consumirlos.⁽²⁾

Plantas medicinales:

Las plantas medicinales, son aquellos que en una o diferentes partes de la misma es compuestos activos llamados “principios activos”, componente que por procesos diversos presenta actividad farmacológica, y que mediante diferentes procesos se obtiene formas galénicas para ser administradas a la población ⁽³⁾.

Principio activo:

Es aquel componente o sustancia química, ya sea de origen natural o sintético, con propiedades para ejercer una actividad farmacológica. Pueden ser administrados según dosis, concentraciones para alguna patología específica ⁽¹⁶⁾.

Extracto vegetal:

Un extracto vegetal, es un concentrado de origen natural, adquiridos por tratamiento apropiados de una planta para asegurar la estabilidad de sus componentes de interés ⁽¹⁶⁾.

Allium sativum L.

Es una planta perpetua con hojas delgadas y aplanadas, mide hasta una altura de 30 cm de longitud. Sus raíces pueden alcanzar con facilidad profundidades de hasta 50 cm o más. El bulbo, suele ser de piel blanca, tienen forma de una cabeza separada en gajos que popularmente se conocen como dientes ⁽¹⁴⁾.

Cada cabeza puede contener de 6 a 12 dientes, cada uno de los cuales se encuentra envuelto en una delgada capa de color blanco o rojizo. Cada uno de los dientes puede dar origen a una nueva planta de ajo, ya que poseen en su base una yema terminal que es capaz de germinar incluso sin necesidad de plantarse previamente ⁽²⁰⁾

Taxonomía ⁽¹⁹⁾ .:

- ❖ Reino: Plantae
- ❖ División: Magnoliophyta
- ❖ Clase: Liliopsida
- ❖ Orden: Asparagales
- ❖ Familia: Amaryllidacea
- ❖ Subfamilia: Allioideae
- ❖ Tribu: Allieae
- ❖ Género: Allium
- ❖ Especie: Allium Sativum L.

Epidermophyton floccosum

El género *Epidermophyton* consta de dos especies conocidas solamente, siendo *E. floccosum* la única patógena para el hombre y constituyendo la especie tipo. Cuando se observa microscópicamente suele presentar abundancia de macroconidias, estas tienen forma de maza, con pared moderadamente gruesa y lisa, con los extremos redondeados y presenta de 1 a 9 septos. Macroscópicamente sus colonias suelen presentarse visibles a los 7 a 9 días de incubación, presentan aspecto plegadas, aterciopeladas, pulverulentas y color amarillo-verdoso. Las colonias suelen blanquearse rápidamente y se vuelven flocosas y estériles ⁽²¹⁾.

Micosis

Afecciones a la piel como las micosis son la causa de mayor frecuencia a la consulta dermatológica, estas mismas son originadas por dermatofitos y hongos levaduriformes⁽²²⁾. En estas micosis se afecta la capa cornea de la piel y la zona suprafolicular del pelo⁽²³⁾.

Las micosis cutáneas atacan capas profundas de la piel y sus anexos (pelo y uñas); estas afecciones son causadas por dermatofitos del género *Microsporum*, *Epidermophyton* y *Trichophyton* y se denominan tiñas o dermatofitosis y, causadas por levaduras del género *Cándida* denominadas candidiasis cutánea. La aparición y frecuencias de los agentes etiológicos de estas micosis depende de ciertos factores como son área geográfica, clima, sexo, edad y ubicación de la lesión y otros factores⁽²³⁾.

Las micosis endémicas son infecciones causadas por un grupo diverso de hongos que ocupan un nicho ecológico específico en el medio ambiente. Comparten la característica común del dimorfismo térmico: crecen como moldes saprofitos en el ambiente a temperaturas que oscilan entre los 25 y los 30 ° C. La mayoría de estos organismos son patógenos primarios que son capaces de causar enfermedades en individuos humanos sanos. Sin embargo, pueden causar infecciones graves y diseminadas en huéspedes inmunocomprometidos, tales como pacientes con infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH), trasplante de órganos o receptores de trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT) Y aquellos con trastornos autoinmunes que reciben inmunosupresores⁽²⁴⁾.

Composición química:

El ajo ha sido utilizado médicamente desde muy antiguo e, incluso, todavía hoy forma parte de la medicina popular en muchas culturas. Trabajos recientes señalan la existencia en el ajo de gran cantidad de sustancias, Cerca del 30% de su parte comestible está integrado por hidratos de carbono disponibles y aproximadamente un 6% por proteínas. Su contenido en algunos minerales y vitaminas es interesante muchas de ellas azufradas, con importantes aplicaciones en el campo de la salud. Aliína Ajoeno (ajocisteína) Alicina y Tiosulfinatos Alil mercaptano (Antibiótica, antifúngica, antiviral. Hipocolesterolemiantes, previene la aterosclerosis, antitumora, antidiabética, hipotensora) Sulfuro de dialilo y afines S-alil-cisteína y compuestos al - glutámico ⁽²⁵⁾

III. METODOLOGIA

3.1. Diseño de la investigación:

El trabajo de investigación fue de diseño Experimental de nivel Explicativo, Cuantitativo y Transversal.

Grupos de estudios:

Control Negativo:

Estuvo formado por 6 placas con agar Sabouraud dextrosa medicado con cloranfenicol (25 mg/100ml) sembrado con la cepa de *Epidermophyton floccosum* ATCC 10227, con 4 pocillos conteniendo Solución Salina Fisiológica (SSF) Incubado por 24 h. en una temperatura 25°C.

Control Estándar (Fármaco de Referencia):

Estuvo formado por 6 placas con agar Sabouraud dextrosa medicado con cloranfenicol (25 mg/100ml) sembrado con la cepa de *Epidermophyton floccosum* ATCC 10227, con 4 pocillos conteniendo Fluconazol (25ug) Incubado por 24 h. en una temperatura 25°C.

Grupos Experimentales:

Experimental N° 01

Estuvo formado por 6 placas con agar Sabouraud dextrosa medicado con cloranfenicol (25 mg/100ml) sembrado con la cepa de *Epidermophyton floccosum*

ATCC 10227, con 4 pocillos conteniendo extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) al 18.86% Incubado por 24 h. en una temperatura 25°C.

Experimental N° 02:

ATCC 10227, con 4 pocillos conteniendo extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) al 18.86% Incubado por 24 h. en una temperatura 25°C.

Experimental N° 02:

Estuvo formado por 6 placas con agar Sabouraud dextrosa medicado con cloranfenicol (25 mg/100ml) sembrado con la cepa de *Epidermophyton floccosum* ATCC 10227, con 4 pocillos conteniendo extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) al 28.3% Incubado por 24 h. en una temperatura 25°C.

Experimental N° 0 3

Estuvo formado por 6 placas con agar Sabouraud dextrosa medicado con cloranfenicol (25 mg/100ml) sembrado con la cepa de *Epidermophyton floccosum* ATCC 10227, con 4 pocillos conteniendo extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) al 56.6%. Incubado por 24 h. en una temperatura 25°C.

3.2. Población y muestra:

Población vegetal:

Estuvo formada por la planta *Allium sativum* (Ajo) cultivado en la provincia de Virú, departamento de La Libertad.

3.3. Definición y Operacionalización de Variables e Indicadores.

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Medición	Indicadores
Independiente: Extracto Acuoso del bulbo <i>Allium sativum</i> (Ajo)	Es el conjunto de compuestos químicos que le confiere el efecto a estudiar a la planta ⁽¹⁴⁾ .	Se obtiene por procesamiento de homogenización de los bulbos de ajo con solvente acuoso	% P/V: Grupo experimental 01(8.86%) Grupo experimental 02(28.3%) Grupo experimental 03(56.6%) Grupo control negativo 0mg/ml. Grupo control estándar Fluconazol (25µg/disco)	Variable cualitativa Nominal.
Dependiente: Efecto Antimicótico	Es el efecto logrado al inhibir el crecimiento de una determinada colonia del hongo por inhibición o por destrucción de las mismas ⁽⁸⁾ .	Se calcula a partir de la medida de los halos de inhibición del crecimiento micótico alrededor de los pocillos conteniendo el extracto ⁽⁹⁾	Mm (milímetros)	Variable Cuantitativa de razón

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Material vegetal y obtención del extracto:

El material vegetal utilizado fueron los bulbos de *Allium sativum* (ajo), los cuáles fueron recolectados separados por tamaño y color; para posteriormente ser lavados con agua corriente y agua destilada. Para la preparación del extracto de bulbos de ajo fresco, se desprendió la cubierta y fueron desechadas, luego se pesó 255g de la muestra vegetal, fueron lavados nuevamente y posteriormente picados para homogenizar el contenido con un procesador de alimentos Hamilton ® en 900ml de agua destilada por un tiempo de 3 minutos a velocidad media, seguidamente el homogenizado fue centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos. El material precipitado fue pesado antes de ser desechado, y el sobrenadante fue filtrado con papel filtro previamente esterilizado se secó en una estufa hasta obtener el extracto, de 71mg de ajo/ml con esta concentración se procedió a realizar y obtener los extractos al 18.86%; 28.3% y 56.6% (14 – 17).

Preparación del medio de cultivo:

Para el cultivo de hongos, el medio adecuado para su crecimiento es el agar Sabouraud Dextrosa medicado. La composición del medio de cultivo, es Agar 2.0 g de extracto de carne, 17.5 g de hidrolizado de caseína, 1.5 g de almidón, 17.0 g de agar disueltos en 1 litro de agua destilada con un pH ajustado a 7.3 ± 0.1 a 25°C. Se adicionó cloranfenicol para evitar el crecimiento de bacterias que contaminen el medio⁽²³⁾.

Preparación del inóculo para *Ephidermophyton floccosum*:

Primero se realizó el rejuvenecimiento de la cepa del hongo en un medio de cultivo de agar Tripticasa Soya (Agar TSA) por 24 horas, luego se transfirió a un medio específico para la cepa *Ephidermophyton floccosum*, Agar sabouraud + cloranfenicol. El tiempo de incubación es en 24h. A una temperatura de 37°C.

El inóculo fue preparado después de la incubación y observación del crecimiento de la cepa, tomando una parte de las colonias cultivadas a un tubo de ensayo que contendrá 500 µl de Solución salina fisiológica. Después de homogenizar las colonias de *E. floccosum* en la solución se comparó el grado de turbidez óptica equivalente al 0.5 del Nefelómetro de Mc Farland que representa una densidad celular de 1×10^6 UFC /ml ⁽¹⁹⁾.

Siembra de la muestra:

Utilizando un hisopo estéril, fue sumergido en la solución preparada (tubo conteniendo el inóculo) para tomar el hongo. Se colocó por encima del nivel del contenido del tubo y se gira por las paredes del mismo para remover el exceso del inóculo. En la superficie de la placa con el medio de cultivo, se sembró el inóculo de manera uniforme. La siembra se hace en 3 direcciones evitando el exceso. Se dejó la placa tapada entre 5 a 10 minutos para que la superficie del medio se seque. Después del sembrado del hongo en estudio, se realizó los pocillos con un sacabocados en el agar dentro de la placa, sobre el medio de cultivo para asegurar la adherencia al medio y el contacto sea uniforme. En la superficie de la placa se realizan 4 pocillos en la periferia, con una

medida de 2cm de distancia entre cada uno, para evitar que los halos de inhibición queden sobrepuestos ^(23,24).

Método de Difusión en Agar según Kirby – Bauer ⁽²¹⁾. Se separó las placas según el diseño de investigación y se colocó el extracto de *Allium sativum* en diferentes concentraciones (al 18.86%; 28.3% y 56.6%) para los grupos experimentales y una solución de Fluconazol para el grupo fármaco de referencia, En todos los casos el contenido colocado en los pocillos fue de 15ul colocados en campo estéril y con ayuda de una micropipeta regulable. ⁽²¹⁾.

Las placas fueron incubadas a 37°C por 24 horas y posteriormente se midieron los diámetros de los halos de inhibición en todas las placas utilizando un Vernier electrónico Akita®. Al medir el diámetro del área de inhibición alrededor del pocillo, este puede clasificarse en diferentes categorías de sensible o resistente (S o R)^(18,21).

Escala de Duraffourd:

Según esta escala utilizada se puede determinar de manera cualitativa la actividad antimicrobiana, basada en los diámetros del halo de inhibición

Duraffourd, que nos indica

- 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 (+++).

3.5. Plan de análisis:

Fueron realizados recolectando la información en una ficha de recolección de datos, para luego ser tabulados en MS Excel y ser procesados en el software estadístico SPSS v 17.2 para lo cual se contó con la ayuda de un profesional estadístico, por criterio de normalidad de los datos se utilizó la prueba ANOVA para la comparación inter e intragrupos y la prueba T student para la comparación entre grupos.

3.6. Matriz de Consistencia:

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	TIPO DE INVESTIGACIÓN Y DISEÑO	VARIABLES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES Y ESCALA DE MEDICIÓN	PLAN DE ANÁLISIS
Efecto antimicótico in vitro del extracto de los bulbo <i>allium sativum</i> l. (ajo) sobre cepas de <i>Epidermophyton floccosum</i> ?	¿Cuál es el efecto antimicótico in vitro de <i>Allium sativum</i> (ajo) sobre cepas de <i>Epidermophyton floccosum</i> ?	<p>Objetivo general</p> <p>Determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto <i>Allium sativum</i> (ajo) sobre cepas de <i>Epidermophyton floccosum</i>.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>Estimar el efecto antimicótico del extracto <i>Allium sativum</i> (ajo) a concentraciones de 18.86%, 28.3% y 56.6%.</p> <p>Comparar el efecto antimicótico del extracto <i>Allium sativum</i> (ajo) a diferentes concentraciones frente a un medicamento de referencia (Fluconazol).</p>	<p>Hipótesis alternativa (H₁)</p> <p>El extracto de <i>Allium sativum</i> L. (Ajo) si presenta efecto antimicótico in vitro sobre cepas de <i>Epidermophyton floccosum</i></p>	Experimental de nivel Explicativo, Cuantitativo y Transversal.	<p>Independiente: Extracto de <i>Allium sativum</i> (Ajo).</p> <p>Dependiente: Efecto Antimicótico.</p>	<p>Se obtiene por procesamiento y centrifugación de los bulbos de ajo con solvente acuoso</p> <p>Se calcula a partir de la medida de los halos de inhibición del crecimiento micótico alrededor de los pocillos conteniendo el extracto ⁽⁹⁾</p>	<p>Cualitativa nominal</p> <p>Cuantitativa de razón</p>	<p>Se utilizó la prueba estadística ANOVA</p> <p>y la prueba T STUDENT para la comparación entre grupos.</p>

3.7. Consideraciones éticas

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 ⁽¹⁹⁾.

Este estudio de investigación se fundamentó en el código de ética de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Además, al finalizar el estudio las placas Petri con cultivos utilizados fueron expuestas a 121° C Y 1 Bar de presión fueron inactivadas en autoclave a fin de desechar el material biológico contaminado aplicando las normas de manejo de desechos hospitalarios ^(26,27)

IV. RESULTADOS:

4.1 Resultados:

Tabla 01 Evaluación del efecto antimicótico in vitro del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) sobre cepas de *Epidermophyton floccosum*.

GRUPOS	Efecto antimicótico de los Halos de Inhibición en mm	Significancia
	X ± DS	
Control negativo.	0.0	
Control estándar	25.31 ±3.85	
Experimenta 01.	20.3 ±0.47	0.000*
Experimental 02.	25.1 ±0.97	
Experimental 03.	31.05 ± 3.1	

*ANOVA (P<0.05).

Leyenda:

Control estándar: fluconazol

Experimental. 01: Extracto acuoso de *A. sativum* 18.86%

Experimental. 02: Extracto acuoso de *A. sativum* 28.3%

Experimental 03: Extracto acuoso de *A. sativum* 56.6%

Tabla 02 Comparación del efecto antimicótico in vitro del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) sobre cepas de *Epidermophyton floccosum*.

GRUPOS:	Significancia
comparando en su efecto antimicótico	Valor p
n=30	
Experimental. 01 vs Experimental. 02	0.012
Experimental. 01 vs Experimental 03.	0.004
Experimental. 02 vs Experimental 03.	0.002
Fluconazol vs Experimental 01.	0.016
Fluconazol vs Experimental 02.	0.072
Fluconazol vs Experimental 03.	0.001

Prueba T – Student para comparación de medias (p<0.05)

Leyenda:

Control estándar: fluconazol

Experimental. 01: Extracto acuoso de *A. sativum* 18.86%

Experimental. 02: Extracto acuoso de *A. sativum* 28.3%

Experimental 03: Extracto acuoso de *A. sativum* 56.6%

4.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS

El efecto antimicótico del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* sobre cepas de *Epidermophyton floccosum* fue demostrado, de la siguiente manera:

En la tabla 01 puede observarse que en el grupo control negativo no se presentan los halos de inhibición es decir no presenta efecto antimicótico sobre la cepa de *Epidermophyton floccosum*. utilizada en la presente investigación.

En el grupo control estándar se muestra que el fármaco de referencia Fluconazol muestra un halo de inhibición de 25.31 ± 3.85 mm valor que se encuentra dentro del rango esperado como sensible para *Epidermophyton floccosum* el grupo experimental 01 a una concentración 18.86% se muestran un promedio de 20.3 ± 0.47 mm En el caso de los halos de inhibición reportados para los grupos experimentales 02 (extracto acuoso *A. sativum* 28.3%) y experimental 03 (extracto acuoso *A. sativum* 56.6%) los promedios de halos de inhibición son 25.1 ± 0.97 mm y 31.05 ± 3.1 mm *Allium sativum* en el halo de inhibición. . Al analizar los resultados respectivamente valores que se encuentran dentro del rango establecido como sensible en comparación con Fluconazol para esta cepa. La prueba paramétrica ANOVA en donde se compara los grupos nos muestra un nivel de significancia de 0.000, es decir el Valor P es menor que el alfa (0.05) es decir existe diferencia estadísticamente significativa en los resultados obtenidos entre los grupos de experimentación ⁽¹⁴⁾.

Por lo tanto, así como el fluconazol. Actúan alterando la permeabilidad de la membrana fúngica al inhibir la síntesis del ergosterol por inhibición del estero 14 α desmetilasa, un sistema dependiente del citocromo P450. Al deteriorar la síntesis del colesterol llevan a la acumulación de 14 α metilesteroles, alterándose la permeabilidad

de la membrana de las células fúngicas y afectando los factores de ciertos sistemas enzimáticos de membrana, que resultan en la inhibición del crecimiento micótico.¹⁵ Según Ismaiel et al. los metabolitos responsables de la actividad antimicótica sería el 3-vinil-1,2-ditiaciclohex-5-eno y 3-vinil-1,2-ditiaciclohex-4-eno. Además, los cambios observados en la permeabilidad de la membrana, la pérdida de proteínas producto de la actividad del Ajoeno, allína y alicina.⁽²⁵⁾

Muchos hongos, incluidos *Cándida*, *Torulopsis*, *Trichophyton*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Trichosporon* y *Rhodotorula*, se han mostrado ser sensibles a los compuestos del ajo. El extracto de esta planta se evidencio la disminución en el consumo de oxígeno, reduciendo el crecimiento del organismo e inhibiendo la síntesis de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, que produciendo daños a las membranas.⁽²⁵⁾

En la tabla 02 se muestra la comparación con la prueba T – Student; a las 24 horas se aprecia que el valor de $p < 0.05$ por lo que significa que los valores obtenidos en el grupo Experimental 03 (*A.sativum* 56.6%) muestran una diferencia estadísticamente significativa en comparación con grupo Experimental 02 (*A.sativum* 28.3%) y grupo experimental 01 (*A.sativum* 18.86%). Para el fármaco de referencia observamos que resultó más efectivo que el grupo Experimental 01 (*A.sativum* 18.86%),pero si se observó que entre los promedio de los halos de inhibición obtenidos entre la concentración (*A.sativum* 28.3%) ,(*A.sativum* 56.6%) mostro un efecto antimicótico mayor que el fármaco de referencia. Esto concuerda con lo reportado por Orbegoso quien encontró para el extracto efectos similares a esta investigación frente a una levadura donde se puede observar que a mayor concentración de *A. sativum* mayor es el halo de inhibición⁽¹⁴⁾.

V. CONCLUSIONES:

5.1. Conclusiones

- El extracto acuoso de los bulbos *Allium sativum* (ajo) presenta efecto antimicótico in vitro en cultivos de *Epidermophyton floccosum*.
- El efecto antimicótico del extracto acuoso de los bulbo *Allium sativum* (ajo) se obtuvo con todas las dosis desde 18.86% hasta la más alta 56%
- El extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) a dosis 28.3% y 56.6% tuvieron efecto similar al medicamento estándar fluconazol, sobre la cepa de *Epidermophyton floccosum*.

5.2. Recomendaciones:

- Se recomienda a futuros investigadores el uso de diferentes variedades de *A. sativum* para determinar cuál de ellos presenta la mayor cantidad de metabolitos como el Ajoeno, aliina y alicina a los que se les atribuye el efecto antimicótico.
- Es recomendable incentivar el uso de plantas medicinales como, *Allium sativum*, debido a sus propiedades terapéuticas.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salvador Ilana I, Slowing Barillas K. Plantas medicinales en España. uso, propiedades y precauciones en la actualidad [tesis]. España junio 2017 facultad de farmacia universidad complutense [Citado 01 de agosto 2019] Disponible En: <http://147.96.70.122/web/tfg/tfg/memoria/irene%20salvador%20llana.pdf>
2. OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014 -2 023. Organ Mund la Salud.[Internet].2013;72.Availablefrom: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>
3. Kloucek P, Polesny Z, Svobodova B, Vlkova E, Kokoska L. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Callería District. J Ethnopharmacol. 2005 ; 99 (2) : 309–12. [Citado 12 Diciembre 2018] Disponible en : Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants
4. Gavanji S, Larki B. Comparative effect of propolis of honey bee and some herbal extracts on Candida albicans. Chin J Integr Med. 2017;23(3):201–7.
5. Prakash G, Hosetti BB. Investigation of Antimicrobial Properties of Dioscorea Pentaphylla From Mid Western Ghats [Internet].India. 2010;8(8):91–6 [Citado 12 Diciembre 2018] <https://www.nepjol.info/index.php/SW/article/view/3857>

6. Ceballos LC, Hoyos FS, Estrada HG. Antibacterial activity of *Cordia dentata* Poir, *Heliotropium indicum* Linn and *Momordica charantia* Linn from the Northern Colombian Coast. *Rev Colomb Ciencias Químico-Farmacéuticas*. 2017;46(2):143–59.
7. Clerici MTPS, Carvalho-Silva LB. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. *Food Res Int* [Internet]. 2011;44(7):1658–70.[Citado.12.Diciembre.2018].Available.from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.020>
8. K. Klugmann, Instituto Sudafricano de Investigaciones Médicas numero doble – No 28 y 29 (2000) [Citado 12 Diciembre 2018] Available from:
<https://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s2250s/s2250s.pdf>
9. Mellado-García P, Maisanaba S, Puerto M, Prieto AI, Marcos R, Pichardo S, et al. In vitro toxicological assessment of an organosulfur compound from *Allium* extract: Cytotoxicity, mutagenicity and genotoxicity studies. *Food Chem Toxicol*. 2017;99:231–40.
10. Goncagul G, Ayaz E. Antimicrobial Effect of Garlic (*Allium sativum*). *Recent Pat Antiinfect Drug Discov* [Internet]. 2010 Jan 1 [cited 2018 Oct 4];5(1):91–3.Availablefrom:
<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1574-891X&volume=5&issue=1&spage=91>

11. Bayan L, Koulivand PH, Gorji A. Garlic: a review of potential therapeutic effects. *Avicenna J phytomedicine* [Internet]. 2014 Jan [cited 2018 Nov 24];4(1):1–14 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25050296>
12. Harris J, S. C, S. P, D. L. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Appl Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2001 Oct 1 [cited 2018 Oct 4];57(3):282–6 Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s002530100722>
13. Juárez s, Díaz D, Méndez Efecto de extractos crudos de ajo (*Allium sativum*) sobre el desarrollo in vitro de *Aspergillus* [Internet]. diciembre de 2018[cited 2019 Agosto 01]; *parasiticus* y *Aspergillus niger* demostraron *spergillus parasiticus* y *A. niger* .Disponible.en:http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-27682019000100099&script=sci_arttext
14. Orbegoso Paredes KE. Efecto antimicótico in vitro del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* (Ajo) frente a *Candida albicans*. Univ Católica Los Ángeles Chimbote [Internet]. 2018 Aug 11 [cited 2018 Nov 24]; Available from: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/5148>
15. Daniel Danladi, Aisha Haruna ABKM. Antifungal Activity of Garlic (*Allium sativum*) Extract on Some Selected Fungi. *J Med Herbs Ethnomedicine* [Internet]. 1970 Jan 1 [cited 2018 Nov 24];12–4. Available from: <http://updatepublishing.com/journal/index.php/jmhe/article/view/3383>

16. Nancy J, Ruiz-P, Myriam A Aspectos farmacocinéticos del fluconazol [Internet]. Rev Fratianni F, Riccardi R, Spigno P, Ombra MN, Cozzolino A, Tremonte P, et al. Biochemical Characterization and Antimicrobial and Antifungal Activity of Two Endemic Varieties of Garlic (*Allium sativum* L.) of the Campania Region, Southern Italy. J Med Food [Internet]. 2016 Jul 14 [cited 2018 Nov 24];19(7):686–91. Available from: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2016.0027>
17. Rodríguez J, Efecto antifúngico del extracto de *Allium sativum* en cepas de *Trichophyton rubrum* atcc 1344, contrastado con ketoconazol, estudio in vitro. [tesis]. universidad Cesar Vallejo facultad de ciencias médicas escuela académico profesional de medicina 2018 [Citado 01.de septiembre.2019 Disponible.en :http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/25750/rodriguez_vj.pdf?sequence=1&isAllowed=y
18. Robles G. Efecto antimicótico in vitro de la solución de ajo (*Allium sativum*), la avena coloidal (*Avena sativa*) y el Clotrimazol sobre cultivos de *Candida albicans* (ATCC 10231), Trujillo - 2016 (In vitro antimycotic effect of garlic solution (*Allium sativum*), colloidal oats (*Avena sativa*) and Clotrimazole on cultures of *Candida albicans* (ATCC 10231), Trujillo - 2016). Cienc Desarro [Internet]. 2017 Dec.22 [cited 2018.Nov 24];20(2):49 Available from: <http://revistas.uap.edu.pe/ojs/index.php/CYD/article/view/1488>

19. Brickell C, International Society for Horticultural Science. RE, International Commission for the Nomenclature of Cultivated Plants. MM, Galmarini CR. International code of nomenclature for cultivated plants : (I.C.N.C.P. or cultivated plant code) : incorporating the rules and recommendations for naming plants in cultivation [Internet]. Acta Horticulturae 1143 : 277-290. (2016). International Society for Horticultural Science; 2004.[cited.2018.Nov.24] 123.p Available.from: <http://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/2800>
20. Reiter J, Levina N, van der Linden M, Gruhlke M, Martin C, Slusarenko A, et al. Diallylthiosulfinate (Allicin), a Volatile Antimicrobial from Garlic (*Allium sativum*), Kills Human Lung Pathogenic Bacteria, Including MDR Strains, as a Vapor.Molecules [Internet] 2017 Oct.12 [cited.2018.Nov.24] 22(10) 1711 Available.from: <http://www.mdpi.com/1420-3049/22/10/1711>
21. Bernal R. M, Guzmán M. El Antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-bauer Biomédica.[Internet] 1984;4(3–4):112 Available.from: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1891>
22. Ghannoum M. Azole Resistance in Dermatophytes. J Am Podiatr Med Assoc [Internet].2016.Jan.19 [cited 2018 Nov 24];106(1):79–86 Available from: <http://www.japmaonline.org/doi/10.7547/14-109>

23. Fernández Torres B, Guarro Artigas J, Universitat Rovira i Virgili. Facultat de Medicina i Ciències de la Salut de Reus., Universitat Rovira i Virgili. Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques., Universitat Rovira i Virgili. Unitat de Microbiologia. Sensibilidad antifúngica de los dermatofitos tesi doctoral [Internet].TDX(Tesis.Doctoral sen Xarxa). [Universitat Rovira.i Virgili];2006 [cited 2018 Nov.24].Available from: <https://www.tdx.cat/handle/10803/8718;jsessionid=FB3A6477F8C99B94E0598027F478F4>
24. Espinoza y, “caracterización fisicoquímica del extracto espectorante de ajo (*allium sativum* l.), kión (*zingiber officinale* l.), eucalipto (*Eucaliptus globulus* L.) Y LINAZA (*Linum usitatissimum*.L.)” [Citado 01 de septiembre 2019]. Disponible <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1969/Yachachin%20Espinoza.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
25. Ismaiel AA, Rabie GH, Kenaway SEM, Abd EL-Aal MA. 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. *Brazilian J Microbiol.* 2012;43(4): 1355–64.
26. Fica A, Ruíz G, Yunes A. Normas de manejo de desechos hospitalarios REV. Medwave.[Internet] 2008 [citado 02 diciembre 2019];3(3)Disponible en: <tp://www.digesa.minsa.gob.pe/DEPA/residuos> / RUniversidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para La

27. Investigación. Versión 001. Aprobado por acuerdo del Consejo Universitario con Resolución N° 0973-2019-CU-Uladech católica, de fecha 15 de agosto de 2019. [Citado 02 diciembre 2019]. Disponible en:
<https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf>

ANEXOS

Figura 1. Lugar de donde se obtuvo la planta medicinal para el presente proyecto.



Figura 2: selección y Preparación de bulbos para la extracción por centrifugación



Figura 3: Preparación de materiales para realización de sembrados de cepas de

Epidermophyton floccosum



Figura 4: Incubación de las placas con el sembrado inmediatamente a una temperatura 35°C – 37°C

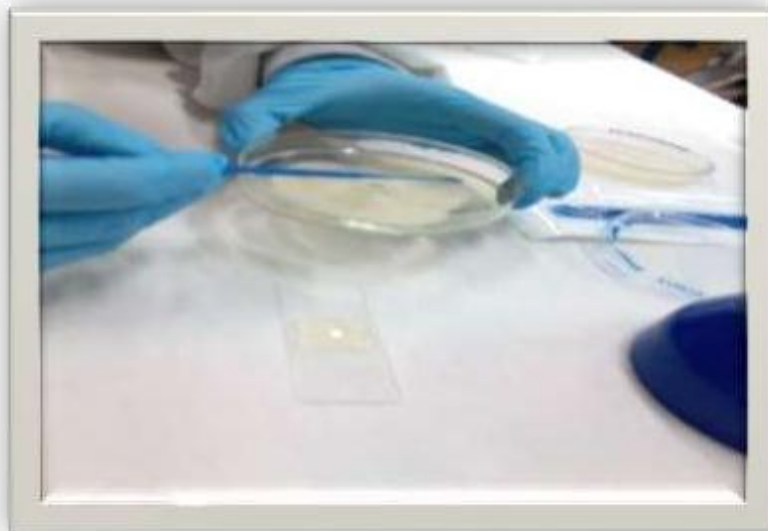


Figura 5: Determinación del material vegetal

