



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**EFEECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DEL BULBO DE *Allium sativum* (AJO) EN
CULTIVOS DE *Trichophyton rubrum***

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

AUTORA

MEDINA LÓPEZ, CLAUDINA

ORCID: 0000-0002-1567-7706

ASESOR

LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

ORCID: 0000-0003-4125-3381

TRUJILLO – PERÚ

2020

EQUIPO DE TRABAJO

AUTORA

Medina López, Claudina

ORCID: 0000-0002-1567-7706

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

ASESOR

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

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

JURADO

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID: 0000-0002-6374-8732

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Asesor

AGRADECIMIENTO

A DIOS:

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

A MIS DOCENTES:

Que, mediante sus enseñanzas y Orientación Contribuyen 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 mi madre Ofelia, quien es mi motor de vida,
Que mediante su esfuerzo y apoyo contribuye
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.*

*Así que, no os afanáis por el día de mañana porque
el día de mañana traerá su afán. Basta a cada día
su propio mal. Jesús de Nazaret. Mateo 6: 34*

RESUMEN

El presente estudio de investigación fue de tipo experimental, nivel explicativo, enfoque cuantitativo y corte transversal, el propósito fue determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del bulbo de *Allium sativum* (ajo) en cultivos de *Trichophyton rubrum* mediante el método de difusión de Kirby-Bauer para los hongos filamentosos. La muestra vegetal fue recolectada en la región de Otuzco, distrito de San Isidro, departamento de la Libertad e identificada taxonómicamente por el Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo y fue procesada en el laboratorio de Farmacognosia de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, mientras la muestra biológica se obtuvo de un paciente del Instituto Nacional de Salud e identificada y certificada por el laboratorio Tegumédica S.A de microbiología. Para ello se trabajó con 6 grupos de estudio: el grupo control con dimetilsulfóxido al 0.2%, grupo estándar con terbinafina 250mg y con 4 concentraciones de extracto etanólico de *Allium sativum* constituidos al 25%, 50%, 75% y 100%, llevándolos a incubar las placas Petri de 20 a 27 °C durante 15 días, luego medir los diámetros de los halos de inhibición obtenidos a las 24 horas de los diferentes grupos de experimentación.

Los resultados obtenidos para el grupo estándar se logró formar un diámetro de halo de inhibición de 54.03 ± 0.8 milímetros; para la concentración del extracto de *Allium sativum* al 25% fue de 17.88 ± 0.9 milímetros, la concentración al 50% un diámetro de halo de inhibición de 26.51 ± 0.9 milímetros, la concentración al 75% de 33.13 ± 0.9 milímetros y la concentración al 100% fue de 36.05 ± 1.0 milímetros.

Los resultados fueron sometidos a la prueba Anova y a la prueba T-student, donde se evidencia que existe diferencia estadísticamente significativa menor de $P < 0.05$ en los 4 tipos de concentraciones del extracto de *Allium sativum*. Se concluyó que el extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* presentó efecto antimicótico en los cultivos de *Trichophyton rubrum*.

PALABRAS CLAVES: *Allium sativum*, antimicótico, *Trichophyton rubrum*

ABSTRACT

The present research study was experimental, explanatory level, quantitative approach and cross section, the purpose was to determine the antifungal effect in vitro of the ethanolic extract of the bulb of *Allium sativum* (garlic) in cultures of *Trichophyton rubrum* by means of the diffusion method of Kirby-Bauer for filamentous fungi. The plant sample was collected in the Otuzco region, San Isidro district, department of La Libertad and taxonomically identified by the Herbarium Truxillense (HUT) of the National University of Trujillo and was processed in the Pharmacognosy laboratory of the Los Ángeles Catholic University de Chimbote, while the biological sample was obtained from a patient from the National Institute of Health and identified and certified by the Tegumédica SA microbiology laboratory. For this, we worked with 6 study groups: the control group with 0.2% dimethylsulfoxide, the standard group with 250mg terbinafine and with 4 concentrations of ethanolic extract of *Allium sativum* consisting of 25%, 50%, 75% and 100%, taking them to incubate the Petri dishes at 20 to 27 ° C for 15 days, then measure the diameters of the inhibition halos obtained at 24 hours from the different experimental groups.

The results obtained for the standard group were able to form an inhibition halo diameter of 54.03 ± 0.8 millimeters; for the concentration of the extract of *Allium sativum* at 25% was 17.88 ± 0.9 millimeters, the concentration at 50% had an inhibition halo diameter of 26.51 ± 0.9 millimeters, the concentration at 75% was 33.13 ± 0.9 millimeters and the concentration at 100 % was 36.05 ± 1.0 millimeters.

The results were subjected to the Anova test and the T-student test, where it is evidenced that there is a statistically significant difference of less than $P < 0.05$ in the 4 types of concentrations of the *Allium sativum* extract. It was concluded that the ethanolic extract of the bulbs of *Allium sativum* had an antifungal effect in the *Trichophyton rubrum* cultures.

KEY WORDS: *Allium sativum*, antifungal, *Trichophyton rubrum*

CONTENIDO

1. Título de la tesis	iv
2. Equipo de trabajo	ii
3. Jurado evaluador de tesis	iiii
4. Agradecimiento	iiiv
5. Dedicatoria	v
6. Resumen	vi
7. Abstract	vii
8. Contenido	viiiviii
9. Índice de tablas.....	ix
I. Introducción	1
II. Revisión de la literatura	7
III. Hipótesis	21
IV. Metodología.....	222
4.1. Diseño de la investigación	222
4.2. Población y muestra	25
4.3. Definición y operacionalización de las variables e indicadores.....	27
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	28
4.5. Plan de análisis.....	33
4.6. Matriz de consistencia.....	34
4.7. Principios éticos	35
V. Resultados.....	36
5.1. Resultados	36
5.2. Análisis de resultados.....	38
VI. Conclusiones.....	45
Aspectos complementarios.	46
Referencias bibliográficas.....	47
Anexos	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Evaluación del efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico de los bulbos de <i>Allium sativum</i> sobre cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> , en diferentes concentraciones.....	36
Tabla 2: Comparación de los diámetros de los halos de inhibición de los diferentes grupos del extracto etanólico de <i>Allium sativum</i> con el grupo estándar(terbinafina) frente a cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>	37

I. INTRODUCCIÓN

Antiguamente no existía las especialidades médicas, ni farmacéuticos sino los curanderos, chamanes que tenían ese don de poder diagnosticar y curar las enfermedades, ellos mismos preparaban remedios caseros a base de plantas medicinales como las infusiones, extractos, cataplasmas y así poder combatir las diversas patologías; a pesar del avance de la tecnología farmacéutica con la elaboración de drogas sintéticas éstas tradiciones se siguen manteniendo en los lugares andinos, pueblos indígenas, que se transmitían de generación en generación para poder evitar la pérdida del conocimiento ⁽¹⁾.

El uso de plantas medicinales fue utilizado desde la prehistoria, historia y de la cultura de muchos lugares indígenas, contienen principios activos que son los responsables del efecto terapéutico ⁽²⁾.

Las plantas medicinales proporcionan estructuras complejas novedosas con actividad biológica de gran interés terapéutico; constituyéndose en una fuente principal de medicamentos, las cuales han formado la base de los sistemas tradicionales de medicina y por ende han existido por cientos de años. Ésta práctica milenaria mantiene su vigencia e interés del mundo científico. En la actualidad se conoce que existe más de 35.000 y 70.000 especies de plantas medicinales en todo el mundo, según la Organización Mundial de Salud (OMS), determina que las plantas medicinales cubren las necesidades más del 80% de la población en general y son beneficiados los países de bajo desarrollo ^(3, 4).

En efecto, su utilidad constituye por sus principios activos que tienen eficacia para disminuir las enfermedades de manera natural, los problemas de salud es sin duda una difícil erradicación; es por ello que ha llevado al uso y manejo de plantas para la

contribución de la salud pública, Sin embargo, la medicina tradicional ha ido modificándose con el pasar de los tiempos, el cual forma parte del nacimiento a la medicina moderna, el interés por el estudio de las plantas medicinales juega un rol muy importante en el desarrollo e innovación para la elaboración de drogas sintéticas, es así, con el avance de las plantas ha vuelto tener un desarrollo notable y progresivo como medicina alternativa para el futuro que ofrece eficacia, seguridad y de bajo costo siempre y cuando sea usado de manera correcta y por personal capacitado y calificado^(5,6).

El Perú, es uno de los tres países más importantes por sus riquezas y mega diversidades de especies de plantas medicinales que son pilares de la etnobotánica, farmacológica y la medicina tradicional desde tiempos muy antiguos hasta la actualidad, es por ello es muy importante determinar la composición fitoquímica de los diferentes órganos de la planta, para saber que metabolitos activos tienen propiedad terapéutica. Son pocas las plantas medicinales validadas su uso tradicional, unas de ellas es el *Allium sativum*, era históricamente utilizado por casi todas las civilizaciones en el mundo para el tratamiento de dolores de oído, lepra, infecciones parasitarias, combatir las infecciones micóticas, se le atribuye además por sus propiedades farmacológicas como antiviral, antihelmíntica, e hipotensor, entre otras ^(7, 8).

Existen pocos estudios de especies de plantas medicinales usados tradicionalmente como biocidas, una de ellas el *Allium sativum*. Sin embargo, poco se ha explorado sobre su efecto antimicótico frente a hongos dermatofitos ⁽⁹⁾.

Allium sativum (ajo); es una planta herbácea que tiene origen en Asia central, que se difundió por toda Europa y llegar hasta América. Esta planta medicinal se preserva por que posee más de 33 principios activos muy importantes como fructanos (inulina),

aceite esencial, órganos azufrados como la alicina, ajoene, alilpropil disulfuro, S-alil cisteína, éstos le dan utilidad terapéutica con propiedades hipocolesterolémicas, bacterianas, antimicóticas, antivirales, anticancerígenas y antiparasitarias; sin dejar de lado el uso culinario como condimento y conservante ⁽⁸⁾.

La costa Peruana, con un elevado porcentaje de humedad y altas temperaturas, condicionan hábitos y lugareños a una prevalencia de infecciones cutáneas producidos por dermatofitos (epidermofitos, tricofitos, microsporidis) entre otras dermatomicosis (levaduras), sobre todo en poblaciones de alto riesgo debido al grado de hacinamiento, contaminación ambiental, contacto con los animales domésticos (zoonosis); constituyendo unas de las 10 causas importantes de consultas en Hospitales y Centros de Salud en toda la Región ⁽¹⁰⁾.

Las infecciones fúngicas constituyen un incremento de incidencia global, es de suma preocupación de la salud pública, debido a la morbilidad que ocasiona. Dentro de este contexto se encuentra a los dermatofitos, son un tipo de hongo filamentosos que afectan a la epidermis y anexos cutáneos. Estos tipos de hongos su principal característica es que afecta a las zonas queratinizadas de la piel, pelos y uñas ⁽¹¹⁾.

Las micosis superficiales producidas por hongos dermatofitos, son conocidos como dermatofitosis o tiñas, tienen la capacidad de invadir el tejido queratinizados de la piel, pelos y las uñas del hombre y de algunos animales, sus agentes causantes son del género *Epidermophytum*, *Microsporum* y *Trichophyton*. En el primer género se caracteriza por que parasitan en la piel lampiña o las uñas, el segundo porque parasitan piel sin pelo y el tercero que es de interés para mi estudio, se caracteriza por que afecta a la piel, uñas y pelo ^(12, 13).

Existen diversos factores que favorecen la proliferación de estas infecciones, como el clima, malos hábitos de higiene, usos de zapatos cerrados, medias sintéticas, etc. Otros factores que también predisponen son el calor, oclusión, diabetes, tratamientos con corticoides, prácticas deportivas, infecciones por HIV ⁽¹⁴⁾.

Las infecciones dadas por *Trichophyton rubrum*, son un tipo de dermatofitos antropofílicos, es el agente causal más frecuentes de tineas en cuerpo, ingle y de los pies, así como las onicomiosis. Este tipo de dermatofitos se reproduce en zonas húmedas, cálidos, tropicales y subtropicales, se transmite por contacto directo con personas sintomáticas o asintomáticas, en un periodo de incubación de 1-2 semanas que crece en zonas queratinizadas como las uñas, la parte externa de la piel, que se manifiesta por lo general en humanos una inflamación con prurito, eritema, descamación y pudiendo llegar hasta más graves como la formación de ampollas ^(15,16).

En el Perú, los microorganismos aislados con mayor frecuencia son *Trichophyton tonsurans* de 54 a 78% y *Microsporum canis* de 7 a 26%. Sin embargo, Cárdenas et, al en el 2011 en un estudio realizado en la ciudad de Trujillo, encontraron mayor frecuencia de *Microsporum canis* de 84, 7%, para *Trichophyton mentagrophytes* fue 9,1% y *Trichophyton rubrum* de 3,1% ⁽¹⁷⁾.

Debido al aumento de las infecciones micóticas, me ha llevado a la búsqueda de nuevas drogas de descendencia natural, como son las plantas medicinales que poseen una serie de principios activos con propiedades antimicóticas, que van a servir para inhibir el crecimiento o matar al hongo, convirtiéndose así como tratamientos alternativos para la elaboración de nuevos fármacos antimicóticos de origen vegetal con menos efectos secundarios, mayor espectro de acción y menor costo; comparados

con los disponibles actualmente usados para el tratamiento de las infecciones de los hongos ^(3,18).

Por otro lado, cabe mencionar que existen tratamientos farmacológicos que son muy costosos, producen efectos adversos muy severos y una alta resistencia de los antifúngicos que son utilizados por vía sistémica en la práctica clínica, es por ello para dar solución a este problema existen tratamientos alternativos con el uso de las plantas medicinales, que poseen una diversidad de propiedades terapéuticas como antibacterianos, antiparasitarios, antimicóticas, entre otras, que pueden ser utilizados para la elaboración de extractos, formulaciones, tinturas, etc ^(19,20).

De allí la relevancia y el interés por realizar investigaciones con actividad antimicótica que posee el *Allium sativum* (ajo) in vitro en *Trichophyton rubrum*, para lograr que la población disponga de fitofármacos rigurosamente estudiados, y así contar con una alternativa barata y alcance de toda la población peruana para tratar la micosis. Es por ello propuse el siguiente problema:

¿El extracto etanólico del bulbo de *Allium sativum* (ajo) in vitro presenta efecto antimicótico en cultivos de *Trichophyton rubrum*?

Los objetivos de la investigación son:

Objetivo general

- Determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del bulbo de *Allium sativum* (ajo) en cultivos de *Trichophyton rubrum*.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto antimicótico del extracto etanólico de *Allium sativum* (ajo) de las diferentes concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% en los cultivos de *Trichophyton rubrum*.
- Comparar los diámetros de los halos de inhibición de los diferentes grupos del extracto etanólico de *Allium sativum* con el grupo estándar (terbinafina 250mg) frente a cultivos de *Trichophyton rubrum*.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes

Según Danladi et al, en Nigeria en el 2018, en su investigación sobre actividad antimicótica del extracto del *Allium sativum* (ajo) en algunos hongos seleccionados, las muestras de ajo se compraron en el mercado central de Dutsinma, éstas 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, en *Fusarium spp* y *Rhizopus spp* ⁽²¹⁾.

De los resultados obtenidos, queda claro que el extracto etanol mostró más actividad en comparación con el extracto acuoso, sus diámetros de inhibición para el extracto etanólico osciló entre 4,1 y 14,3 mm, mientras el 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 para el 1^{er} extracto acuoso no hubo efecto en ambos organismos probados. Concluyeron que el extracto de ajo mostró actividad antifúngica contra el organismo de prueba. Además, el extracto etanólico mostro actividad inhibitoria entre los hongos probados ⁽²¹⁾.

Carrillo et al, en el año 2016 en Ecuador. En su estudio fue determinar el efecto antimicótico in vitro del vegetal de Amarun Waska y *Allium sativum* en 2 variedades de hongos como son el *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*, por tal

motivo realizaron 3 extractos, empleando el método de dilución por suspensión de esporas ⁽²²⁾.

Los resultados que obtuvieron tanto para *Trichophyton rubrum* y como para *Trichophyton mentagrophytes* para la concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 1,00mg/ml que pertenece a la C3 de la proporción 50:50 de solvente, ya que en ambas casos el porcentaje de crecimiento del hongo fue menor comparado con las demás concentraciones de extracto; sin embargo al obtener un valor mayor de 25% de crecimiento de hongo lo que significa que la inhibición es negativa comparado con el medicamento sintético de terbinafina, concluyen que el medicamento sintético mencionado anteriormente, sigue siendo una herramienta indispensable para el tratamiento para este tipo de enfermedades comparado con el uso del Amarun Waska y *Allium sativum* ⁽²²⁾.

Shivakumar et al, en India en el 2015, estudiaron la actividad antifúngica de 61 plantas, obteniendo 315 extractos acuosos de acetato de etilo y metanol, frente a cepas de *Trichophyton rubrum* (ATCC 1344), con un control estándar de ketoconazol. Los resultados obtenidos muestran que de 61 vegetales sólo 18 poseen actividad antifúngica alta, dentro de este grupo se encuentra *Allium sativum*, donde además se encontró que con 5 mg del extracto metanólico de *Allium sativum* posee un halo de inhibición de 05.66 ± 1.15 y 05.33 ± 0.57 mm para *Trichophyton rubrum*. Por lo tanto, concluyeron que los extractos acuosos de *Allium sativum* presentan efecto antimicótico frente a cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344 ⁽²³⁾.

Abdelbasit et al, en Sudán en el 2014, estudiaron la actividad antifúngica in vitro de *Allium sativum* sobre algunos hongos patógenos. Los extractos acuosos y orgánicos de ajo se obtuvieron por maceración y extractor Soxhlet. Los extractos de metanol y éter de petróleo se probaron contra *Candida albicans*, *Aspergillus*, *Curvularia* y *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, usando 12 métodos de difusión en copa y agar Sabouraud. Los resultados se obtuvieron una concentración mínima inhibitoria de 10 mg/ml para los dermatofitos, por consiguiente, concluyeron, que los extractos acuosos y orgánicos de *Allium sativum* presentaron actividad antifúngica en *Trichophyton rubrum* ⁽²⁴⁾.

Patankar et al, en India en el 2014, compararon la concentración fungicida mínima (MFC) de clotrimazol con miconazol, ketoconazol y terbinafina en dermatofitos cutáneos. El estudio demostró que clotrimazol tenía menor MFC en comparación con ketoconazole y miconazole contra *Trichophyton rubrum*. El clotrimazol demostró MFC más bajos (0,01- 0,03 mcg/ml) en comparación con terbinafina (0,06 mcg/ml) y miconazol (0,06-1,25 mcg) frente a *Trichophyton rubrum*, finalmente concluyeron que la terbinafina en comparación con el miconazol y ketoconazol presenta mejores resultados de la concentración mínima fungicida frente a dermatofitos ⁽²⁵⁾.

Lazo et al, en Ecuador en el 2014. El propósito de esta investigación fue evaluar la actividad antimicótica, realizando extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Cassia grandis* (Carao) y bulbos de *Allium sativum* (ajo) en cepas de *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum*. Los productos obtenidos le hicieron pruebas fitoquímicas, para determinar los principales metabolitos

secundarios, utilizando la técnica en cromatografía en capa fina, empleando el método Kirby Bauer modificado. Los resultados obtenidos fue que el principio activo de alicina es el responsable del efecto antimicótico del ajo. Finalmente concluyeron que estas dos plantas mencionadas anteriormente presentan actividad antimicótica frente a *Microsporium canis*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyllum floccosum* ⁽²⁶⁾.

Bhadauria et al, en la India en el 2011, realizaron trabajos sobre antidermofítica de tres plantas entre ellas el *Allium sativum* frente a cepas de *Trichophyton rubrum*, encontrando actividad antifúngica fuerte con el extracto con agua de *Allium sativum* en *Trichophyton rubrum*, con un halo de inhibición de 22 mm. (Índice de actividad = 0.48), y para *Trichophyton mentagrophytes* no se encontró actividad antifúngica con dicha preparación del extracto. Concluyeron que el *Allium sativum* presenta efecto frente a dermatofitos ⁽²⁷⁾.

Idrogo et al, en Cajamarca en el 2019. En la universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. Realizaron una investigación, que fue evaluar y determinar la concentración de alicina presente en el *Allium sativum* para la formulación y elaboración de una crema antimicótica, para ello se utilizó un extracto obtenido a partir de bulbos de ajo con buenas características organolépticas y en buen estado ⁽²⁸⁾.

Para el diseño experimental se realizó diluciones de piruvato de sodio 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 y 1 mL para luego graficar una curva de calibración, la que se utilizó para determinar la concentración de piruvato de sodio y luego la concentración de alicina mediante el método espectrofotométrico; asimismo se elaboró dos crema antimicóticas a base de ajo (una mediante el método en frío y la otra en

caliente); determinándose también de ellas la concentración de alicina; así como, las características organolépticas y la propiedad de extensibilidad ⁽²⁸⁾.

Los resultados mostraron 3,3376 μ moles/g de alicina para el extracto de ajo; 4,3152 μ moles/g para la crema de ajo en frío y para la crema de ajo en caliente 1,7726 μ moles/g de alicina; indicando diferencias significativas ($p < 0,05$) contrastados por la prueba de T-Student; además, en ambas cremas se evidenciaron buenas características organolépticas, con la diferencia que la crema preparada en frío mantuvo más estable la propiedad de extensibilidad en comparación con la crema que se preparó en caliente. Por lo que concluyeron, *que Allium sativum* (ajo) tiene considerable concentración de alicina, manteniéndose mucho más estable en la crema que se preparó en frío ⁽²⁸⁾.

Alayo, en Trujillo en el 2019, en la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, realizó un trabajo de investigación in vitro, con el propósito de demostrar el efecto antimicótico del extracto acuoso del bulbo de *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 (25 μ g). se evaluó la sensibilidad utilizando el método de discos difusión Kirby-Bauer para medir los halos de inhibición, obtenido a las 24 horas ⁽²⁹⁾.

Los resultados mostraron para el control estándar fluconazol un halo de inhibición de (25.31 \pm 3.85mm); para el extracto 18,86% (20.3 \pm 0.47mm), 28,3%(25.1 \pm 0.97mm) 56,6%(31.05 \pm 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* ⁽²⁹⁾.

Rodríguez, en Trujillo en el 2018, en su investigación de estudio fue demostrar el efecto antifúngico del extracto de *Allium sativum* en cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, usando como patrón al ketoconazol, 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 contrastado con ketoconazol grupo estándar y solución fisiológica como control. Se evaluó la prueba de sensibilidad utilizando el método de difusión, Kirby – Bauer para medir los halos diámetros de inhibición, obteniendo como resultado la concentración al 100% fue de (32,3mm) y los diámetros más pequeños fue 50% y 25% respectivamente (22,8 y 14,5 mm). Como resultado se observó que a mayor concentración de *Allium sativum* tuvo mayor halo de inhibición, concluyó que la concentración al 100% presenta mayor efecto antifúngico frente a *Trichophyton rubrum in vitro* ⁽³⁰⁾.

Riojas, en Trujillo en el 2016. Realizó un estudio en la Universidad César Vallejo, con el propósito de determinaron el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico de *Allium sativum* (ajo) al 1% sobre *Trichophyton spp*, la siembra de este hongo se hizo con agar Mycosel, dividiéndose en 5 campos de tratamiento. Obteniendo como resultados, no hubo efecto inhibitorio sobre *Trichophyton spp*. Finalmente se concluye que el extracto etanólico de *Allium sativum* “ajo” al 1%, cuyo solvente extractor fue el alcohol etílico al 96⁰, no tuvo efecto inhibitorio sobre *Trichophyton spp* ⁽³¹⁾.

Lora et al, en un estudio local en el 2010. Realizaron un estudio de investigación del efecto in vitro de diferentes concentraciones de *Allium sativum* (ajo) frente a dermatofitos y *Candida albicans*. Para ello trabajaron con 100g de ajo y cultivos de dermatofitos y *Candida albicans* aislados de pacientes con micosis en piel, uñas y cabellos ⁽³²⁾.

Según análisis estadísticos, los resultados indican que para el caso de dermatofitos por el método de difusión en Agar (MDA) se logra inhibición entre 300 a 400 ug de ajo liofilizado, una concentración mínima inhibitoria de 500 ug/ml y un efecto fungicida de 1000 ug /ml. En el caso de *C. albicans* por el MDA se obtuvo un mayor diámetro de inhibición entre 4000 a 5000 ug, una CMI de 2500ug/ml y un efecto fungicida de 5000ug/ml. Concluyendo que estos resultados serán utilizados para estudios in vivos que corroboren propiedades medicinales que se le atribuye al ajo ⁽³²⁾.

2.2.Bases teóricas

Fitoterapia

Es la ciencia que estudia a las plantas medicinales con utilidad terapéutica, es decir para prevenir, disminuir o curar un estado patológico ⁽³³⁾.

Planta medicinal

Es cualquier planta vegetal, que contiene en uno o más de sus órganos los principios activos que pueden ser usados con fines terapéuticos o profilácticos ⁽³⁴⁾.

Droga vegetal

Es cualquier parte de la planta medicinal que es utilizada en terapéutica ⁽³⁵⁾.

Principios activos

Son los constituyentes químicos de las plantas, que son responsables de la acción farmacológica ⁽⁸⁾.

Extracto vegetal

Son compuestos producidos de la obtención de las sustancias biológicamente activas que están presentes en los órganos de las plantas, que a su vez utilizan un disolvente como el alcohol, agua o mezcla de estos, para realizar un proceso de extracción adecuado de sus fitoconstituyentes ^(8,36).

Extracto etanólico

Son preparaciones líquidas concentradas (extractos fluidos o tinturas) o semisólida (extractos blandos o densos), obtenidos de la extracción de una planta medicinal o parte de ella, utilizando como solvente al alcohol ⁽³⁷⁾.

Allium sativum (ajo) ⁽³⁸⁾

Clasificación Taxonómica

Nombre científico: *Allium sativum*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Allioideae

Orden: Asparagales

Familia: Alliaceae

Género: *Allium*

Especie: *Sativum*

Nombre vulgar: Ajo

Descripción geográfica ⁽³⁸⁾

Es originario de Asia Central, esta Planta es cultivada en terrenos planos de poca pendiente, caracterizados por días largos y calurosos. Crece en huertos y cultivos que requieren de un terreno pesado, bien abonado, pero moderadamente húmedo.

Descripción botánica ⁽³³⁾

Es una Planta medicinal herbácea perenne resistente de pequeño tamaño de 20 a 40 centímetros de altura, que posee hojas lineales envolventes, de flores blancas o rojas, bulbos macizos que está formado por varios dientes o gajos, envueltos en una membrana suave y sedosa.

Parte utilizada

El bulbo subterráneo (cabeza de ajo).

Composición química

El ajo contiene numerosos componentes activos, como el aceite esencial, agua, carbohidratos (como la fructosa) y posee gran cantidad de compuestos azufrados, fibra y aminoácidos libres. También vitamina C y A. así mismo posee alto contenido de compuestos fenólicos, polifenólicos y fitoesteroles. Dentro de sus metabolitos azufrados que predomina en el *Allium sativum* es el aliina, alicina, alil metano tiosulfinato, aminoácidos como (alanina, arginina, histidina, metionina, fenilalanina, serina, treonina, prolina, triptófano y valina). Vitaminas del complejo B, Minerales como (calcio, germanio, potasio, cobre, hierro, magnesio, selenio y zinc) y azúcares como (inulina) ^(35,38).

Compuestos azufrados:

La aliina, alicina, garlicina, ajoeno, s-alil mercaptocisteina, adenosina, 2- vinil 4H- 1,2- ditiina, 5-alil cisteína, 1-propenil- alil- tiosulfinato y 1- glutamil- S-alquil- 1- cisteína.

Alicina (dialil tiosulfinato o disulfuro de dialilo):

La alicina no se encuentra en el *Allium sativum*, hasta que es sometido a la acción de la trituración o cortado, que entra en contacto con la aliinasa que actúa sobre la aliina convirtiéndola en alicina. La alicina se metaboliza más aun en ajoeno, este proceso de descomposición, se da en el transcurso en unas horas a temperatura de 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) que son responsables del olor característico y el sabor picante del *Allium sativum*, además de ser una sustancia con poca inestabilidad ^(3,40).

Propiedades terapéuticas del *Allium sativum*

Propiedades antifúngicas:

El compuesto azufrado como la alicina cumple un papel muy importante, como antimicrobiano; los hongos sensibles a los compuestos del *Allium sativum* son: *Trichophyton*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Cryptococcus*, *Tricosporon*. El ajo eno inhibe el crecimiento de hongos como *Trichophyton*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger* ⁽⁴¹⁾.

Otras propiedades de *Allium sativum*

Tiene diversas propiedades que son atribuidas al ajo, verificadas experimentalmente: actividad antibacteriana y antimicótica demostradas in vitro. Otras como expectorante, antisépticas, diurético, diaforético, antihipertensivo, antioxidante, antitrombótico, antiplaquetario, hipolipemiente, hipoglucémico, antitumoral, hasta que previene la aterosclerosis y alivia los dolores reumáticos ^(8,42).

Toxicidad del *Allium sativum*

No tiene una toxicidad específica solo se conoce que es muy escasa. salvo con el uso elevado en dosis, especialmente en crudos y en extractos, esta desaconsejada en casos de hemorragias, ya sea de causas traumáticas (heridas, accidentes, etc.) o menstrual (reglas abundantes) ⁽⁷⁾.

Mecanismo de acción del *Allium sativum* frente a *Trichophyton rubrum*:

La actividad antimicótica del *Allium sativum*, se basa a la acción de la alicina, debido a la disminución de la absorción de oxígeno, reduciendo el crecimiento del hongo e inhibe la síntesis de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, causando daño en las membranas de su pared ^(34,42).

Los dermatofitos.

son un tipo de hongo filamentosos que atacan a las capas superficiales de tejidos queratinizados (piel, pelo y uñas) de hombres y animales, excepto a tejidos más profundos. Se clasifican en 3 géneros: *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophytum*. Los dermatofitos tienen una amplia propagación mundial en su distribución, algunas especies tienen mayor frecuencia en distintas regiones que en otras, crecen mejor en ambientes cálidos y húmedos y son, por lo tanto, más predominantes en climas tropicales y subtropicales. Es decir, su distribución geográfica varía en función al tipo de microorganismo o género ^(43,44).

Trichophyton rubrum

Características:

Es un hongo dermatofito antropofílico que afecta al ser humano. *El Trichophyton rubrum* presenta hifas enrolladas que por lo general tiene macroconidios en forma de lágrimas a lado de las hifas y las colonias desarrollan un color rojo en el reverso ⁽⁴⁴⁾.

Etiología:

Es la causa más frecuente de enfermedades de la piel, es decir como el pie de atleta, tiñas de cuerpo, de la ingle, así como también de onicomicosis ⁽⁴⁴⁾.

Factores de virulencia:

Este dermatofito cuenta con un arsenal de atributos de virulentos que hacen factible su infección. Esta se caracteriza por tres etapas: Adhesión, invasión y crecimiento. En cuanto a la adhesión, este dermatofito se adhiere a su pared celular gracias a las glicoproteínas; luego ocurre la germinación dos a tres horas post- adhesión. Esto va seguido de la penetración de sus hifas para evitar que estas sean descamadas con el

epitelio. Una vez instalados, el dermatofito debe encontrar nutrientes para crecer y éste lo logra gracias a enzimas como permeasas y enzimas de la pared celular, así como también otras enzimas hidrolíticas como nucleasas, lipasas, proteasas no específicas y queratinasas ^(45,46).

Terbinafina

Es un antifúngico lipofílico y queratolítico que pertenece a las alilaminas, es utilizado para las infecciones fúngicas de la piel, cuero cabelludo y uñas, y que ha demostrado ser eficaz contra los dermatofitos, entre ellos se hace mención al *Trichophyton rubrum* que son causantes de las tiñas, onicomycosis (hongos en las uñas de las manos y de los pies) ⁽⁴⁷⁾.

Mecanismo de acción de la terbinafina

Inhibe de manera selectiva al escualeno epoxidasa, enzima indispensable para la síntesis del ergosterol, interfiriendo en la síntesis de la membrana celular del hongo ⁽⁴⁷⁾.

Sensibilidad a los antifúngicos (antifungigrama)

Es una prueba in vitro, que está orientada para determinar concentraciones mínimas inhibitorias de agentes antifúngicos. Sirven para emplear tratamientos específicos, disminuir o eliminar las enfermedades fúngicas y prevenir la resistencia de fármacos antimicóticos ⁽⁴⁸⁾.

Halos de inhibición

Es una zona en donde no se aprecia crecimiento de agentes patógenos alrededor de un disco de antibióticos en una prueba de antifungigrama ⁽⁴⁹⁾.

Valores de sensibilidad en el aromagrama según Duraffourd para antifúngicos

Según el Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI), realizado en el 1985, estudios microbiológicos realizados para el estudio de sensibilidad a los antifúngicos, es decir es para la interpretación de resultados en la evaluación de diámetros de inhibición de forma cuantitativa ^(51,52).

- Sensible (+++): $\geq 30\text{mm}$
- Sensibilidad límite o intermedia (++) : 21-29mm
- resistente (-): $\leq 20\text{mm}$

III. HIPÓTESIS

3.1.Hipótesis nula (H0)

- El extracto etanólico del bulbo de *Allium sativum* (ajo) no presenta efecto antimicótico in vitro en cultivos de *Trichophytum rubrum*.

3.2.Hipótesis alternativa (H1).

- El extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) presenta efecto antimicótico in vitro en cultivos de *Trichophytum rubrum*.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación

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

El estudio experimental estuvo formado por 60 placas Petri, contenido de Agar dextrosa Sabouraud (25mg/100ml) y el sembrado de los cultivos de *Trichophyton rubrum*, de las cuales se subdividieron en 6 grupos conformados por:

Grupos de estudios:

Control con dimetilsulfóxido al 0.2%.

Estuvo formado por 10 placas Petri, con Agar Sabouraud dextrosa (25mg / 100ml) de la marca (HIMEDIA M063), donde se sembró el cultivo de *Trichophyton rubrum* 1×10^8 UFC por ml el cual se realizó mediante el método de difusión de Kirby Bauer, se usó el tubo 0.5 de turbidez de Mc Farland, para medir la concentración del inóculo. Se realizaron cuatro pocillos en el agar por cada placa que contenía 30ul de solución de dimetilsulfóxido (DMSO) al 0.2%, se llevó a la incubadora a una temperatura 20-27°C por 15 días. Posteriormente se realizó la lectura de los halos de inhibición.

Grupo estándar con terbinafina 0.03ug/ml.

El grupo estuvo formado por 10 placas Petri, con Agar Sabouraud dextrosa (25mg / 100ml) de la marca (HIMEDIA M063), en donde se sembró el cultivo de *Trichophyton rubrum*, 1×10^8 UFC por ml, se realizó un pocillo al centro de la placa donde se colocó 30ul de la solución de terbinafina al 0.382ug/ml usando como disolvente al dimetilsulfóxido al 0.2%. Incubados a temperatura ambiente entre 20 a 27°C por 15 días, posteriormente se realizó la lectura de los halos de inhibición.

Concentración N^o 01 (extracto etanólico de *Allium sativum* al 25%)

Estuvo formado por 10 placas, con Agar dextrosa Sabouraud (25mg/100ml) de la marca (HIMEDIA M063), en donde se sembró el cultivo de *Trichophyton rubrum*, 1×10^8 UFC por ml el cual se realizó mediante el método de difusión de Kirby Bauer, se usó el tubo 0.5 de turbidez de Mc Farland, para medir la concentración del inóculo. Se realizaron cuatro pocillos en el agar por placa que contenía 30ul del extracto etanólico de *Allium sativum* al 25% disueltas en una solución de dimetilsulfóxido al 0.2%. El tiempo de incubación fue de 15 días, a una temperatura de 20- 27^oC. Posteriormente se realizó la lectura de los halos de inhibición.

Concentración N^o 02 (extracto etanólico de *Allium sativum* al 50%)

Estuvo formado por 10 placas, con Agar dextrosa Sabouraud (25mg/100ml) de la marca (HIMEDIA M063), en donde se sembró el cultivo de *Trichophyton rubrum*, 1×10^8 unidades formadoras de colonia (UFC) por ml, el cual se realizó mediante el método de difusión de Kirby Bauer, se usó el tubo 0.5 de turbidez de Mc Farland, para medir la concentración del inóculo. Se realizaron cuatro pocillos en el agar por placa que contenía 30ul del extracto etanólico de *Allium sativum* al 50% disueltas en una solución de dimetilsulfóxido al 0.2%. El tiempo de incubación fue de 15 días, a una temperatura de 20- 27^oC. Posteriormente se realizó la lectura de los halos de inhibición.

Concentración N^o 03 (extracto etanólico de *Allium sativum* al 75%)

Estuvo formado por 10 placas, con Agar dextrosa Sabouraud (25mg/100ml) de la marca (HIMEDIA M063), en donde se sembró el cultivo de *Trichophyton rubrum*, 1×10^8 UFC por ml el cual se realizó, mediante el método de difusión de Kirby Bauer, se usó el tubo 0.5 de turbidez de Mc Farland, para medir la concentración del inóculo.

Se realizaron cuatro pocillos en el agar por cada placa que contenía 30ul del extracto etanólico de *Allium sativum* al 75% disueltas en una solución de dimetilsulfóxido al 0.2%. El tiempo de incubación fue de 15 días, a una temperatura de 20- 27°C. Posteriormente se realizó la lectura de los halos de inhibición.

Concentración N° 04 (extracto etanólico de *Allium sativum* al 100%)

Estuvo formado por 10 placas, con Agar dextrosa Sabouraud (25mg/100ml) de la marca (HIMEDIA M063), en donde se sembró el cultivo de *Trichophyton rubrum*, 1×10^8 UFC por ml el cual se realizó, mediante el método de difusión de Kirby Bauer, se usó el tubo 0.5 de turbidez de Mc Farland, para medir la concentración del inóculo. Se realizaron cuatro pocillos en el agar por cada placa que contenía 30ul del extracto etanólico de *Allium sativum* al 100% disueltas en una solución de dimetilsulfóxido al 0.2%. El tiempo de incubación fue de 15 días, a una temperatura de 20- 27°C. Posteriormente se realizó la lectura de los halos de inhibición.

4.2.Población y muestra

Población vegetal:

Estuvo conformada por la planta (bulbos) de *Allium sativum*, crece en el distrito de San Isidro, Provincia de Otuzco, departamento la Libertad, que está situada a una latitud de 2641 msnm.

Muestra vegetal:

Se recolectó bulbos de *Allium sativum* (ajo) en buen estado, en el distrito de San Isidro, Provincia de Otuzco, departamento la Libertad, fueron seleccionados bajos los criterios de inclusión y exclusión. (ver anexo1).

Criterios de inclusión

Se utilizó bulbos de *Allium sativum* en buen estado, de tamaño homogéneo, libre de oxidación, con olor característico no putrefactos intactos cubiertos por su envoltura externa que protege de agentes contaminantes.

Criterios de exclusión

Se rechazó tajantemente aquellos bulbos demasiados jóvenes (pequeños) o envejecidas con mal olor, y también aquellas que hubieran estado expuestas a insecticidas u otros factores que podrían la composición química de la misma y así puedan afectar su poder antifúngico.

Población biológica:

Estuvo conformada por un conjunto de cultivos de *Trichophyton rubrum* del Instituto Nacional de Salud, ubicada en la ciudad de Lima.

Muestra biológica

La muestra biológica fue aislada de un paciente del Instituto Nacional de Salud, constituido por cultivos de *Trichophyton rubrum*, ubicada en la ciudad de Lima, e

identificada y certificada por el laboratorio de microbiología Tegumédica S.A, ubicada en la ciudad de Lima. (Ver anexo 2).

4.3. Definición y operacionalización de las variables e indicadores

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores (medidas)	Escala de medición
Independiente: Extracto etanólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> (ajo).	Es la cantidad en g de diversos metabolitos secundarios de <i>Allium sativum</i> , contenidos en un volumen de alcohol.	Es el producto que se obtuvo mediante la maceración de los bulbos de <i>Allium sativum</i> en disolvente de alcohol, se filtró y luego se pasó al rotavapor. Se utilizó 4 concentraciones de extracto etanólico.	Concentración del extracto etanólico de <i>Allium sativum</i> 25% p/v 50% p/v 75% p/v 100% p/v	cualitativa nominal
Dependiente: Efecto antimicótico del bulbo de <i>Allium sativum</i> en los cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> .	Es la capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento antifúngico de un medio de cultivo.	Es obtenido mediante la medición de los diámetros del halo de inhibición, considerando: Sensible: $\geq 30\text{mm}$; intermedia: 21-29mm resistente: $\leq 20\text{mm}$	Medida del halo de inhibición expresada en mm (milímetros)	cuantitativa de razón

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

4.4.1. Obtención de la muestra de *Allium sativum*.

Se recolectó 3Kg de bulbos de la planta de *Allium sativum* (ajo) distrito de San Isidro, provincia de Otuzco, departamento de la Libertad y la planta de *Allium sativum* fue identificada y certificada por el Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo (Ver anexo 3).

4.4.2. Preparación del extracto etanólico de *Allium sativum*.

La muestra recolectada fue llevado al laboratorio de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, donde se desechó las sustancias extrañas presente en el material vegetal, desprendimos la cubierta., se lavó con agua destilada para eliminar las impurezas. Así mismo se seleccionó los bulbos en buen estado, con la ayuda de una balanza marca (SBS-LW-7500 A) se pesó 2000g, posterior a ello se procedió a someter los bulbos del ajo en un frasco de vidrio color ámbar con capacidad de 4 litros, se agregó 3,5 litros de alcohol de 96⁰C, y dejó a macerar por 2 semanas. El contenido se filtró de dos formas: primero a través de gasas plegadas, varias veces para eliminar residuos más groseros y segundo fue con papel filtro Whatman N⁰ 41, éste último se filtró 3 veces, el extracto líquido se llevó a rotavapor a 40⁰C al vacío para extraer el etanol, obteniendo el extracto seco un total de 64g, restando 52g de la luna de reloj. Por consiguiente, solo se obtuvo 12 g de extracto seco. Después de este proceso se procedió a la dilución del extracto en diferentes concentraciones (ver anexo 4)⁵³.

4.4.3.Preparación de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Allium sativum* al 25%, 50%, 75% y 100%

Para la investigación se trabajó con 4 concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% de *Allium sativum*. El extracto seco obtenido (12g), se procedió a la dilución de la muestra madre, se cogió 1g de extracto seco de *Allium sativum* y aforar en 4ml de dimetilsulfóxido al 0.2% y se colocó en un vaso de precipitación marca PYREX, utilizando una varilla para homogenizar dicho extracto, posterior incorporación a un frasco microgotero de color ámbar, ésta concentración fue al 25%. La segunda concentración fue al 50%, utilizando 2g de extracto seco de *Allium sativum* en 4ml de Dimetilsulfóxido al 0.2%, colocados en un vaso de precipitación marca PYREX, para su homogenización se utilizó una varilla y se procedió la incorporación de dicho extracto a un frasco microgotero de color ámbar, en la tercera concentración fue al 75%, utilizando 3g de extracto seco de *Allium sativum* en 4ml de Dimetilsulfóxido al 0.2%, se colocó a un vaso de precipitación marca PYREX, se utilizó una varilla para la homogenización y posterior incorporación de dicho extracto a un frasco microgotero de color ámbar y la última concentración fue al 100%, utilizando 4g de extracto seco en 4ml de Dimetilsulfóxido al 0.2%, colocando en un vaso de precipitación marca PYREX, con la ayuda de una varilla se procedió a homogenizar dicho extracto, colocando el contenido a un frasco de microgotero color ámbar y luego se puso a refrigerar las 4 concentraciones del extracto etanólico de *Allium sativum* a 4-8°C hasta su utilización. Ver el siguiente procedimiento de la preparación de las diferentes concentraciones del extracto de *Allium sativum* (ver anexo 5 y 6) ⁵⁴.

4.4.4. Preparación del grupo estándar terbinafina 250mg.

El fármaco antimicótico de referencia utilizado fue terbinafina que sirve como control positivo de inhibición, por su actividad in vitro e in vivo contra *Trichophyton rubrum*, y se prepararon de la siguiente manera:

De 20 tabletas de terbinafina 250mg del laboratorio Genfar® fueron pesadas y se obtuvo el peso promedio de una tableta $X = 436$ mg. Luego fueron trituradas y homogenizadas, de esta mezcla se pesaron 52.32 mg y se disolvieron hasta un aforo de 100ml de dimetilsulfóxido al 0.2%, de esta solución madre se toma 1ml y se aforó a 100ml, para su posterior uso.

4.4.5. Preparación de las muestras biológicas en las placas Petri

4.4.5.1. Preparación del medio de cultivo para *Trichophyton rubrum*.

Se cultivó los cultivos de *Trichophyton rubrum* en tubos de ensayo con Agar Sabouraud dextrosa para activar al hongo. Se incubó a temperatura ambiente con el fin de obtener colonias jóvenes, caracterizadas macroscópicamente las colonias de *Trichophyton rubrum* por el color y aspecto del haz blanco algodonoso y el envés con el rojo vinoso. A partir de este cultivo reciente se realizaron los demás procedimientos⁽⁵⁵⁾.

4.4.5.2. Preparación del inóculo para *Trichophyton rubrum*.

Para la realización de las pruebas de susceptibilidad, se preparó un inóculo donde se produjeron los microconidios piriformes del hongo, los cuales se utilizaron para enfrentar a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Allium sativum*. Para lograr la esporulación del hongo se sembró el *Trichophyton rubrum* en Agar de harina de avena con 30g, 15g de Agar simple en 1000ml de agua destilada, dejándolos por 21 días. Una

vez terminada éste procedimiento, los cultivos de *Trichophyton rubrum* fueron sembrados en Agar dextrosa sabouraud e incubados por 15 días a una temperatura de 27⁰C.

Luego de observar un buen desarrollo, se agregó 10ml de agua destilada estéril hasta alcanzar una turbidez del tubo 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland, cuya concentración es equivalente a 6x 10⁸/mL y se levantó cuidadosamente con una varilla de vidrio todo el desarrollo del hongo, trasvasándolo a un tubo estéril para su posterior uso.

4.4.5.3.Siembra y prueba de susceptibilidad por el método de difusión de Kirby- Bauer, para determinar el efecto antimicótico.

Utilizando un hisopo estéril, se procedió la siembra de este inóculo en las placas Petri conteniendo el agar sabouraud por cepa de 6mm de grosor de manera uniforme en la superficie de las placas. Posterior se hicieron 04 excavaciones en el centro de la placa de 6mm de diámetro. En estos pocillos se colocaron 30ul de las diferentes concentraciones de *Allium sativum* (25%, 50%, 75% y 100%) consecutivamente embebidos en discos de papel filtro Whatman N^o3 (6mm de diámetro) con la ayuda de una micropipeta para los grupos experimentales; y en otra placa se colocó 30ul de terbinafina para cada pocillo del grupo control estándar y 30ul de dimetilsulfóxido al 0.2% como control respectivamente. Luego se incubaron a una temperatura de 20⁰C- 27⁰C por 15 días (Ver anexo N^o 7) ^(55,56).

Técnica.

Se utilizó la técnica de la observación directa de los cultivos de *Trichophyton rubrum* en las placas Petri.

Instrumento.

El instrumento que se utilizó fue la ficha de recolección de datos que consistía en observar las placas, los diámetros de los halos de inhibición de los diferentes grupos de experimentación formados a las 24 horas y algunas características que se encontró en el proceso del efecto antimicótico.

4.4.6. Medición y clasificación de los diámetros de los halos de inhibición

La lectura se realizó a los 15 días de incubación, cada una de las placas fueron examinadas visualmente y las zonas de crecimiento del hongo se hizo cerca a la excavación, midiendo su diámetro del halo de inhibición en milímetros (la distancia que existe entre el hoyo y el micelio del hongo) alrededor del disco, con la ayuda de un milímetro vernier, luego los valores de la inhibición fueron promediados y comparados con las medidas de halo de inhibición de los controles (estándar y control) con las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Allium sativum*.

El resultado final se clasificó de acuerdo Clinical Laboratory estándar Institute (CLSI) de la escala de Duraffourd, escala utilizada para la determinación cualitativa del efecto inhibitorio in vitro en diferentes categorías: sensible ($\geq 30\text{mm}$), sensibilidad intermedia (21-29mm) y resistente ($\leq 20\text{mm}$) Ver anexo N° 8 ^(51,52).

4.5. Plan de análisis

La recolección de información se utilizó una ficha de recolección de datos, para luego ser tabulados en el programa Excel 2013, y ser procesados a través del paquete estadístico SPSS-Versión 22.0, la cual se contó con un profesional estadístico, para el análisis, se sometieron los datos a la prueba SHAPIRO WILKS para determinar la normalidad de los grupos de estudio, seguidamente se utilizó las pruebas paramétricas de Anova para la comparación entre varios grupos ya sea inter e intragrupos (grado de confianza 95% - $\alpha \leq 0,5$) y la prueba T-student para la comparación entre las diferentes concentraciones del extracto de *Allium sativum* con el grupo estándar (la medición fue a las 24 horas).

4.6. Matriz de consistencia

Título de la investigación	Enunciado del problema	Objetivos	Hipótesis	Diseño de la investigación	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antimicótico In vitro de extracto etanólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> (ajo) en cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>	¿El extracto etanólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> (ajo) in vitro presenta efecto antimicótico en cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i> ?	<p>Objetivo general</p> <p>Determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> (ajo) en cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>-Evaluar el efecto antimicótico del extracto etanólico de <i>Allium sativum</i> (ajo) de las diferentes concentraciones al 25%,50%, 75% y 100% en los cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>.</p> <p>-Comparar los diámetros de los halos de inhibición de los diferentes grupos del extracto etanólico de <i>Allium sativum</i> (ajo) con el grupo estándar (terbinafina) frente a cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>.</p>	<p>H0: El extracto etanólico de <i>Allium sativum</i> no tiene efecto antimicótico in vitro en cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>.</p> <p>Ha: El extracto etanólico de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo) presenta efecto in vitro en cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>.</p>	Experimental de nivel explicativo, enfoque cuantitativo y corte transversal	<p>Independiente:</p> <p>Extracto etanólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> (ajo).</p> <p>Dependiente:</p> <p>efecto antimicótico del bulbo de <i>Allium sativum</i> en cultivos de <i>Trichophyton rubrum</i>.</p>	<p>Es el producto que se obtuvo mediante la homogenización de los bulbos de <i>Allium sativum</i> en disolvente de alcohol.</p> <p>Es obtenido mediante la medición de los diámetros del halo de inhibición.</p>	<p>Grupos: control estándar</p> <p>-E. etanólico del ajo al 25% p/v</p> <p>- E. etanólico del ajo al 50% p/ v</p> <p>- E. etanólico del ajo al 75% p/ v</p> <p>- E. etanólico del ajo al 100% p/ v</p> <p>cuantitativa</p> <p>Nominal</p> <p>Mm (milímetros)</p> <p>cuantitativa de razón</p>	Los resultados se utilizó la prueba estadística Anova y la prueba T-student para la comparación entre los grupos (la medición fue a las 24 horas).

4.7.Principios éticos

Para el desarrollo de la investigación tipo experimental, in vitro, se trabajó con medios de cultivo (hongos), respetando debidamente las normas de bioseguridad dentro y fuera del laboratorio; tomando en cuenta los cuidados para evitar la contaminación biológica del medio externo con el hongo, tanto el investigador como la zona donde se desarrolle el proyecto, descritas por Instituto Nacional de Salud. 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. Se consideró los principios éticos que rigen la actividad investigadora de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, los cuales consisten en:

4.7.1. Cuidado del medio ambiente y la biodiversidad.

Las investigaciones que involucran el medio ambiente, plantas y animales deben tomar medidas para evitar daños. Las investigaciones deben de respetar la dignidad de los animales y el cuidado del medio ambiente incluido las plantas, por encima de los fines científicos; para ello, deben tomar medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos y maximizar los beneficios⁽⁵⁷⁾.

V. RESULTADOS

5.1. Resultados

Tabla 1: Evaluación del efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* en los cultivos de *Trichophyton rubrum*, en diferentes concentraciones.

Grupos de estudio	Halos De		Significancia P(**)
	Inhibición (en milímetros)		
	X ±	DS	
Control (dimetilsulfóxido al 0.2%)	6.0 ±	0.0	
Estándar (terbinafina al 0.03ug/ml)	54.03 ±	0.8	
C. de <i>Allium sativum</i> al 25%	17.88 ±	0.9	0.000*
C. de <i>Allium sativum</i> al 50%	26.51 ±	0.9	
C. de <i>Allium sativum</i> al 75%	33.13 ±	0.9	
C. de <i>Allium sativum</i> al 100%	36.05 ±	1.0	

*ANOVA (P<0.05).

leyenda:

Control: (Dimetilsulfóxido + agar dextrosa sabouraud)

Estándar: (terbinafina al 0.03ug/ml + agar dextrosa sabouraud)

X: promedio

D.S.: desviación estándar

C: (concentración de *Allium sativum* + Agar dextrosa sabouraud)

Tabla 2: Comparación de los diámetros de los halos de inhibición de los diferentes grupos del extracto etanólico de *Allium sativum* con el grupo estándar(terbinafina) frente a *Trichophyton rubrum*

Grupos de estudio	Diámetros de los halos de inhibición			Significancia (Valor P)
	en milímetros de los 2 grupos comparados			
	X	±	DS	
Estándar vs concentración de <i>Allium sativum</i> al 25%	54.03±0.8		17.88 ± 0.9	0.000*
Estándar vs concentración de <i>Allium sativum</i> al 50%	54.03±0.8		26.51 ± 0.9	0.000*
Estándar vs concentración de <i>Allium sativum</i> al 75%	54.03±0.8		33.13 ± 0.9	0.000*
Estándar vs concentración de <i>Allium sativum</i> al 100%	54.03±0.8		36.05 ± 1.0	0.000*
C. de <i>Allium sativum</i> al 25% vs C. de <i>Allium sativum</i> al 50%	17.88±0.9		26.51 ± 0.9	0.004*
C. de <i>Allium sativum</i> al 25% vs C. de <i>Allium sativum</i> al 75%	17.88±0.9		33.13 ± 0.9	0.002*
C. de <i>Allium sativum</i> al 25% vs C. de <i>Allium sativum</i> al 100%	17.88±0.9		36.05 ± 1.0	0.001*
C. de <i>Allium sativum</i> al 50% vs C. de <i>Allium sativum</i> al 75%	26.51±0.9		33.13 ± 0.9	0.023*
C. de <i>Allium sativum</i> al 50% vs C. de <i>Allium sativum</i> al 100%	26.51±0.9		36.05 ± 1.0	0.001*
C. de <i>Allium sativum</i> al 75% vs C. de <i>Allium sativum</i> al 100%	33.13±0.9		36.05 ± 1.0	0.044*

Prueba T para comparación de medias (*p<0.05)

Leyenda:

X: promedio

D.S.: desviación estándar

C: concentración de *Allium sativum*

5.2. Análisis de resultados

En el estudio se buscó determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* a diferentes concentraciones sobre cultivos de *Trichophyton rubrum*.

El efecto analizado sobre el tamaño de los halos de inhibición en los cultivos de *Trichophyton rubrum* se muestra en la tabla 01, se observan los promedios y la desviación estándar por cada grupo de experimentación, también la significancia entre los grupos, para esto se probó la prueba estadística ANOVA el valor P fue de 0.000 (es decir menor a 0.05) demostrando que existe diferencia estadísticamente significativa entre las zonas de inhibición de los grupos de los extractos etanólicos del bulbo de *Allium sativum* al 25%,50%,75%,100% y el fármaco de referencia, esto confirma la hipótesis alternativa de la presente investigación.

Los resultados obtenidos tienen similitud con otros trabajos de investigación, donde utilizan los extractos elaborados por varios métodos de extracción como, destilación, hidroalcohólicos y percolación en los que se aprecia los diámetros de los halos de inhibición tal es el caso presentado por Bhadauria et al, en India en el 2011, donde realizó trabajos para combatir los hongos dermatofitos dando uso a las plantas, entre ellas el *Allium sativum* frente a cepas de *Trichophyton rubrum*, Mostrando el efecto antimicótico fuerte del extracto de *Allium sativum* contra *Trichophyton rubrum*, con un diámetro de 22 milímetros cifra muy cercana a la obtenida en nuestra investigación a una concentración del extracto de *A. sativum* al 50% fue de 26.51 milímetros, seguida de la concentración 75% y 100% respectivamente con diámetro de 33.13 milímetros y 36.05 mm, existiendo en éstas últimas de menor variabilidad (más homogéneo) de 0.9 y 1.0 mm como se evidencia en la tabla 1. Por otro lado, el diámetro de halo de

inhibición medio obtenido con la terbinafina fue de 54.03 milímetros y una variabilidad de 0.8milímetros.

Estadísticamente se observa que el aumento de los cultivos son dependientes a las disímiles concentraciones del extracto del ajo; es decir, al ser la concentración mayor, el diámetro de crecimiento del hongo es fungicida, se observó también, que el grupo estándar de terbinafina es más alta, manteniéndose nula el grupo control y la concentración al 25%, revelando que no prexiste otros componentes que estén afectando la experimentación.

Por otro lado, los resultados presentados por Rodríguez, en Perú en el 2018, quienes muestran zonas de inhibición para *T. rubrum* superiores a 15.5 milímetros valores que se obtuvieron en los extractos al 50%,75% y 100%, sin embargo, para el extracto al 25%, ellos obtuvieron valores por debajo de nuestro estudio, esta variación puede deberse al tipo de extracto, época de recolección de la muestra y las condiciones de laboratorio durante la experimentación ⁽³⁰⁾.

En el grupo control donde se utilizó solamente el solvente (dimetilsulfóxido al 0.2%), este disolvente fue usado por ser el que permite solubilizar el fármaco de inhibición del crecimiento del hongo, debido a esto los diámetros de los halos fueron de 6mm (correspondiente al diámetro del pocillo) este grupo sirvió como control de calidad microbiológico del agar, de los materiales y del solvente de dilución. Se utilizó Dimetilsulfóxido al 0.2% debido a que ésta pequeña molécula anfipática, actúa como tensoactivo, es altamente polar que permiten interactuar con moléculas azufradas, es el caso del componente del *A. sativum*, que permitió diluir el fármaco y el extracto obtenido ^(58,59).

Respecto al grupo estándar con el fármaco de referencia (terbinafina) en nuestra investigación tiene un efecto antimicótica con un diámetro ≥ 30 milímetros que en promedio resultó con un halo de 54.03 mm, y un grado de uniformidad, en su concentración mínima inhibitoria se consideró el más efectivo seguido de la concentración al 100% de *Allium sativum* que en promedio se obtuvo un diámetro de 36.05 milímetros, este efecto vino reduciéndose por las menores concentraciones de *Allium sativum* según los resultados obtenidos por las pruebas estadísticas de T-student; en consecuencia, este valor se encuentra dentro de lo esperado por reportes como el de Nweze y Mukherjee et al, quienes señalaron valores superiores a 47mm para cepas de *T. rubrum* sensibles a terbinafina ^(60,61).

La escualeno epoxidasa es una enzima prominente producida por *T. rubrum*, es responsable de la síntesis de ácidos grasos en dermatofitos y juega un papel clave en la biosíntesis de esteroides, además, se evidencia que la escualeno epoxidasa conduce a la síntesis de ergosterol siguiendo una cascada de vías de biosíntesis que son esenciales para mantener la integridad y la funcionalidad de las células fúngicas, debido a ésta propiedad, actúa como objetivo principal para los medicamentos que están diseñados para inhibir la dermatofitosis. El clorhidrato de terbinafina (N,6,6- trimetil- N-(naftalen-1-ilmetil) hept-2-en-yn-1-amina) es un aminoácido sintético de alilamina. Es de naturaleza altamente lipofílica antifúngico que inhibe la escualeno epoxidasa para prevenir la formación de ergosterol y causar una acumulación de escualeno, debilitando la pared celular de las células fúngicas. La terbinafina inhibe la enzima escualeno monooxigenasa (también llamada escualeno epoxidasa), evitando la conversión de escualeno a 2,3-oxidosqualeno, un paso en la síntesis de ergosterol, esta inhibición conduce a una disminución del ergosterol, que normalmente se

incorporaría a la pared celular, y a la acumulación de escualeno, la generación de una gran cantidad de vesículas que contienen escualeno en el citoplasma puede liberar otros lípidos de la pared celular y debilitarla aún más ⁽⁶²⁾.

En la tabla 02, se aprecia los valores comparados de los promedios y la significancia por cada comparación utilizando la prueba estadística T – Student donde los valores para todos los grupos muestran una significancia $P < 0.05$, es decir, existen diferencias estadísticamente significativas en todas las comparaciones realizadas. Comparando el estándar (terbinafina) con los extractos etanólicos de *Allium sativum* al 25%, 50%, 75% y 100% en todos los casos el medicamento mostró un efecto significativamente mayor, sin embargo, el extracto también mostró efecto antimicótico, ese efecto podría explicarse por la mezcla de diferentes componentes que forman el extracto de *Allium sativum*, estos pueden tener volatilidad, y diferentes concentraciones que haría variar la respuesta frente a *T. rubrum*.

Entre los metabolitos secundarios reportados en *Allium sativum* se han descrito a las saponinas, saponinas y flavonoides que poseen propiedades farmacológicas prometedoras. Además, estas plantas poseen compuestos de azufre únicos que también son responsables de su olor y son los principales responsables de las propiedades biológicas atribuidas al ajo. El análisis fitoquímico de los compuestos azufrados presentes en el ajo ha mostrado una potente actividad antimicótica en compuestos como la alicina, aliina y el ajoeno, aunque recientemente se han descrito nuevos metabolitos que presentan grupos funcionales como los ditiosulfinatos y disulfóxidos⁽⁶³⁾.

Dentro de sus metabolitos del *Allium sativum*, denota importancia el estudio con propiedades antifúngicas para *Trichophyton rubrum* es el ajoene, que actúa interfiriendo la integridad de la membrana plasmática del hongo, al inducir cambios en su composición lipídica, incrementando el contenido relativo de los esteroides e induciendo fuertes cambios en la composición fosfolipídica; por tal efecto, el ajoene, es un producto de gran estabilidad, que se origina por la ruptura y la reparación no enzimática de la alicina, y que se puede ser obtenido sintéticamente para las infecciones micóticas ⁽⁶⁴⁾.

Existen estudios acerca de una sustancia derivada del *A. sativum*, el ajoeno de su acción antimicótica contra los dermatofitos como es el *T. rubrum*, en la que logró inhibir el crecimiento mínimo inhibitoria (CMI) de 60ug/mL y con la concentración mínima fungicida (CMF) de 75 ug/ML, según (Borlinghaus et al, 2014), es por ello el ajoeno es útil para el tratamiento de la tinea pedis, cruris, corporis y la onicomicosis, con similares resultados a la terbinafina ⁽⁶⁵⁾.

El extracto de *Allium sativum* al 100% mostró una zona de inhibición de 36.05±1.0 mm este valor fue mayor que el de las otras tres concentraciones con 17.88±0.9 mm, 26.51± 0.9 mm y 33.13± 0.9 mm (25%,50% y 75% respectivamente), estos valores se relacionan a la respuesta ante hongos dermatofitos como *T. rubrum* ejercida por los bulbos de *A. sativum* debido a su composición con cientos de fitoquímicos, incluidos los compuestos que contienen azufre, como los ajoenos (*E-ajoeno*, *Z-ajoeno*), tiosulfatos (alicina), vinilditiinas (2-vinil-(4H)-1,3-ditiina,3-vinil- (4H)-1,2-ditiina), sulfuros (disulfuro de dialilo (DADS), trisulfuro de dialilo (DATS) y otros que representaron el 82% del contenido total de azufre en ajo. Aliina, el principal sulfóxido de cisteína se transforma en alicina por la enzima aliinasa después de cortar el ajo y

romper el parénquima, S-propil-cisteína-sulfóxido (PCSO), alicina y S-metilcisteína-sulfóxido (MCSO) son las principales moléculas azufradas, éstas además pueden producir más de cincuenta metabolitos que dependen del contenido de agua y la temperatura, así como de la enzima alinasa que puede actuar sobre las mezclas para producir otras moléculas, como alil metanos tiosulfatos, metil metanos, tio sulfatos y otros tiosulfatos correspondientes (RSSR'), por el cual R y R' son grupos alilo, propilo y metil. La actividad antimicrobiana de la alicina se debe a su interacción química con enzimas que contienen tiol, por ejemplo, tiorredoxina reductasa, ARN polimerasa y alcohol deshidrogenasa al oxidar la proteína cisteína o los residuos de glutatión en condiciones fisiológicas. La alicina es una biosida relacionado con la dosis que puede influir en el metabolismo esencial de la cisteína proteínasa y, por lo tanto, matar todas las células eucariotas debido a la presencia de grupos en todas las células vivas ^(66,67).

Los resultados obtenidos en esta investigación concuerdan con los presentados por Carrillo et al, 2016 en Ecuador, quienes también encontraron actividad antimicótica de *Allium sativum* utilizando el método de microdiluciones, a una concentración de extracto al 50% y con una CMI de 1,00ug/ml, este valor fue mayor al de nuestro estudio probablemente porque el cultivo de *Trichophyton rubrum* utilizado sea un cultivo obtenido de una muestra biológica y no una cepa sensible ⁽²²⁾.

Sin embargo, Lora et al, en Perú en el 2010, evaluaron la actividad antifúngica del *A. sativum* en cepas de dermatofitos y candida albicans, donde se estimó que para *T. rubrum* en las diferentes concentraciones, 500 ug/ ml es la concentración mínima inhibitoria; así también, el efecto fungicida de *Allium sativum* es 1000 ug/ ml estas cifras refuerzan según lo obtenido en la presente investigación pues de acuerdo a la

escala del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI), cabe resaltar que en nuestra investigación que tuvo efecto antifúngico fueron a las concentraciones al 100% de *A. sativum* y 75% (fueron sensibles), la concentración al 50% fue intermedio, donde reportan inhibición frente a *Trichophyton rubrum*, y en cambio, la concentración al 25% no tuvo efecto inhibitorio⁽³²⁾.

Al elucidar el probable mecanismo de acción se considera que el extracto de ajo actuaría como un antimicótico al afectar la pared fúngica y causar cambios ultraestructurales irreversibles en las células fúngicas, lo que conduce a la pérdida de integridad estructural y a la capacidad de germinación. Estos cambios en el contenido citoplasmático llevan a daños en los núcleos y orgánulos celulares que finalmente conducen a la muerte celular. Además, la alicina y el aceite de ajo mostraron potentes efectos antifúngicos ya que actúa penetrando la membrana celular y las membranas de los orgánulos como las mitocondrias y provocando la destrucción de los orgánulos y la muerte celular⁽⁶⁸⁾.

VI. CONCLUSIONES Y ASPECTOS COMPLEMENTARIOS.

6.1. Conclusiones

- Se evaluó que los extractos etanólicos del bulbo de *Allium sativum* al 50%, 75% y 100% presentan efecto antimicótico, mientras que la concentración al 25% no presentó efecto antimicótico en los cultivos de *Trichophyton rubrum*, según la escala de Duraffourd del instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI).
- Al comparar los diámetros de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del extracto etanólico del bulbo de *Allium sativum* al 25%, 50%, 75% y 100% con el grupo estándar sobre los cultivos de *Trichophyton rubrum*, se observa que si existe diferencia estadísticamente significativa menor de $P < 0.05$. En efecto, las únicas que presentan mejores resultados de efecto antifúngico es la concentración al 100% y el fármaco de referencia (terbinafina), ya que muestran un diámetro de halo inhibitorio superior a los 30 milímetros de diámetro establecidos por el CLSI.

6.2.Aspectos complementarios.

- Se sugiere continuar con las investigaciones a diferentes concentraciones y con diferentes procesos de extracción de los principios activos con el fin de determinar mejores resultados.
- Es necesario determinar otros metabolitos activos presentes en el *Allium sativum* para demostrar otros efectos terapéuticos en otras patologías.
- Se sugiere realizar una marcha fitoquímica del *Allium sativum*, cual es el componente activo que tiene efecto antimicótico para otros posibles estudios que desean continuar con esta planta medicinal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo. Rev And Fac Med [internet], 2016 [citado el 29 oct 2019]; 77(4): 327-342. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a02v77n4.pdf>
2. Debus G. El hombre y la naturaleza en el Renacimiento. Distrito Federal: FCE - Fondo de Cultura Económica; 1990.[citado el 28 oct 2019]. Disponible en:
<https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=4870629&query=variedades+de+plantas+medicinaes+existe++#>
3. CEP, editor. Manual plantas medicinales: formación para el empleo. Madrid: Editorial CEP, S.L;2010 [citado el 3 nov 2019]. Disponible en:
<https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=3207194&query=plantas+medicinales+en+antiguo+mundo+#>
4. CYTED. Métodos Farmacológicos para Validación de Plantas Medicinales. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. [internet], 2012 [citado el 14 nov 2020]. Disponible en:
http://www.cytel.org/?q=es/detalle_proyecto&un=111
5. Del Vitto A, Petenatti M, Petenatti E. Recursos herbolarios de San Luis (República Argentina): primera parte: plantas nativas. Buenos Aires: Red Multequina; 2009. [citado el 3 nov 2019]. Disponible en:
<https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=3177025&query=plantas+medicinales+en+antiguo+mundo+#>

6. Villagrán C, Romo M, Castro V. Etnobotánica del sur de los Andes de la primera región de Chile: un enlace entre las culturas altiplánicas y las de Quebradas Altas del Loa Superior. Santiago de Chile: Red Chungara Revista de Antropología Chilena; 2005. [citado el 2 nov 2019]. Disponible en:
<https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=3163333&query=plantas+medicinales+utilizados+antiguamente#>
7. Alonso J, Desmarchelier J. Plantas medicinales autóctonas de la Argentina: bases científicas para su aplicación en atención primaria de la salud. Buenos Aires: Corpus Editorial; 2015. [citado el 2 nov 2019]. Disponible en:
<https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=3227191&query=plantas+medicinales+utilizados+antiguamente#>
8. Alessandrini M. Buenas prácticas con las plantas medicinales en comunidades de la Amazonía ecuatoriana: una experiencia en la fusión del conocimiento ancestral y el conocimiento científico. La Habana: Editorial Universitaria; 2011. [citado el 3 nov 2019]. Disponible en:
<https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=3220398&query=plantas+medicinales+en+antiguo+mundo+#>
9. Rodríguez E, Vásquez R, Rojas R, Calatayud G, León B, Campos J. Nuevas adiciones de angiospermas a la flora del Perú. Rev. Perú. Biol [internet], 2006 oct [citado el 14 nov 2020]; 13 (1): 129-138. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v13n1/a13v13n01.pdf>

10. Valverde J, Tincopa O, Games G. Valor predictivo de signos y síntomas en el diagnóstico de tiña capitis en niños. Rev.Dermatol. Perú [internet], enero 2016 [citado el 14 nov 2020]; 16(1): 46-56. Disponible en:
https://sisbib.unmsm.edu.pe/Bvrevistas/dermatologia/v16_n1/pdf/a06.pdf
11. García L, Jacinto F. Revisión: Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). ALAN [Internet]. 2000 Sep [citado 2019 Dic 03]; 50(3): 219-229. Disponible en:
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S00006222000000300002&lnges
12. Moya A, Manuel J, Araoz Francisco, Salas M Hans. Estudio clínico-epidemiológico de las micosis superficiales en conejos de bioterio convencional. INHRR [Internet]. 2006 Dic [citado 2019 Dic 03]; 37(2):27-34. Disponible en:
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S079804772006000200005&lnges
13. Moya M. Importancia del diagnóstico de las dermatofitosis en animales de bioterios. Rev. Med. Institute Nacional. [internet]. 2013 Mar [citado el 4 nov 2019]; 34(2): 693-702.Disponible en:
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772003000200005
14. Gubelin W, Parra R, Giesen L. Micosis Superficial. Rev. Med. Clin. Condes. [revista en internet].2011 noviembre [citado el 27 octubre 2018]; 22(6): 804-812. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S071686401170493X>.

15. Gross T, Ureña M, Chaves O. Sensibilidad al fluconazol de aislamientos de *Trichophyton rubrum*. Acta méd. costarric [Internet]. 2014 mar [consultado el 04 de diciembre del 2019];56(1):23-26. Disponible en:
http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000160022014000100005&lng=en
16. Larrondo R, González R, Hernández García Luis Manuel. Micosis superficiales: Dermatofitosis. Rev cubana Med Gen Integr [Internet]. 2001 Dic [citado 2019 Dic 04];17(6):559-564. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086421252001000600009&lng
17. . Rodríguez J. Dermatofitosis: Algunos aspectos epidemiológicos del Hospital Regional Docente de Trujillo de 1994 a 1998. Trujillo, 2000. [Tesis para obtener el grado de Bachiller en Medicina], Facultad de Ciencias Médicas: Universidad Nacional de La Libertad.
18. Ruiz S, Guijarro E, Cardona A, Hernández M, Muniain P, Martín M et al. Epidemia de tiña por *Trichophyton tonsurans* en una escuela. Rev Pediatr Aten Primaria [Internet]. 2016 Dic [citado 2019 Dic 04];18(72): 325-331. Disponible en:
<http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sciarttext&pidS113976322016000400009&lnges>
19. Meza J, Bueno L, Betancur G. propiedades con actividad antimicótica. Rev Esp Quimioter [internet]. 2004 diciembre [citado el 27 de octubre 2018]; 7(2): 325-331. Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/Liliana_Betancur/publication/8036890_Natural_products_with_antimycotic_activity/links/0deec5236764169adc000000df

20. Martin S, Benedí J. Antimicóticos dermatológicos. Rev. Farm. Professional. [Internet]. 2004 Julio. [citado el 27 octubre 2018]; 18(7): 5-72. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-antimicoticos-dermatologicos-13064579>
21. Danladi D, Aisha Haruna ABKM. Antifungal Activity of Garlic (*Allium sativum*) Extract on Some Selected Fungi. J Med Herbs Ethnomedicine [Internet]. 2014 Jan 1 [cited 2018 Nov 24]; 12–4. Available from: <http://updatepublishing.com/journal/index.php/jmhe/article/view/3383>
22. Carrillo V. “Evaluación de la actividad antimicótica in-vitro de Aristolochia pilosa Kunth (Amarun Waska) y *Allium sativum* en 2 variedades de hongos *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*. [Tesis pre grado]. Ecuador: Universidad Nacional de Ecuador; 2016. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15000/1/T-UCE-0008-QF044-2018.pdf>
23. Shivakumar P, Vidyasagar G. Antifungal screening of 61 folkloric medicinal plant extracts against dermatophytic fungi *Trichophyton rubrum*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. Rev Fac y Bio [internet], 2015 jun [citado el 2020 oct 9];5(5): 38-44 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/281832014_Antifungal_screening_of_61_folkloric_medicinal_plant_extracts_against_dermatophytic_fungi_Trichophyton_rubrum.

24. Abdelbasit E, Ballal W. In vitro Activity of Garlic (*Allium sativum*) on Some Pathogenic Fungi. European Journal of Medicinal Plants [internet], 2014 Jul [citado el 2020 Oct 10]; 4 (10):1240-1250. Disponible en:
<https://journalejmp.com/index.php/EJMP/article/view/14491>
25. Patankar M, Ahluwalia A, Bhargava A. Comparison of the Minimum Fungicidal Concentration of Clotrimazole, Ketoconazole, Miconazole and Terbinafine against Clinical Isolates of Dermatophytes. Indian Medical Gazette [internet], 2014 Feb [citado el 2020 Oct 10]; 148 (2): 65-68. Disponible en:
<https://imsear.searo.who.int/handle/123456789/157587>
26. Lazo S, Rivas V. Estudio de las propiedades antifúngicas de los extractos de hojas de *Cassia grandis* (Carao) y bulbos de *Allium sativum* (ajo) en *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum*. [Tesis para optar el grado de Licenciatura en Química y Farmacia]. Salvador: Universidad de el Salvador; 2004. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/5622/1/10128676.pdf>
27. Bhadauria S. Kumar P. In Vitro Antimycotic Activity of Some Medicinal Plants against Human Pathogenic Dermatophytes. Journal of Fundamental and Applied Life [internet], 2011[citado el 2020 Oct 10]; 1(1):1-10.Disponible en:
<https://www.semanticscholar.org/paper/In-Vitro-Antimycotic-Activity-of-Some-Medicinal-Bhadauria-Kumar/68699aa2b5a3e225d8c6049c12e26feaf89d0cd8#related-papers>
28. Idrogo L, Vallejos J. Evaluación de la concentración de alicina presente en *Allium sativum* “ajo” para la formulación y elaboración de una crema antimicótica. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Cajamarca: Universidad Privada Antonio Urrelo; 2019. Disponible en:

<http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/1067/FYB-027-2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

29. Alayo E. Efecto 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]. Trujillo: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote; 2019. Disponible en:

http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/14685/extracto_allium_alayo_munoz_elba_ruth.pdf?sequence=1&isallowed=y

30. Rodríguez J. Efecto antifúngico del extracto de *Allium sativum* en cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, contrastado con ketoconazol, estudio in vitro.

[Tesis], Trujillo: Universidad Cesar Vallejo; 2018. Disponible en: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/25750/rodriguez_vj.pdf?sequence=1&isAllowed=y

31. Riojas M. Efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico de ajo (*Allium sativum*) sobre *Trichophyton* spp. [Tesis para optar el título de Médico Veterinario]. Lima: Universidad Alas Peruanas; 2016. Disponible en:

http://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/uap/29/2/RIOJAS_Castro-Resumen.pdf

32. Lora C, Lujan M, Robles H, Saravia V, Cabeza J. Efecto in vitro de diferentes concentraciones de *Allium sativum* “ajo” frente a dermatofitos y *Candida albicans*. Rev. Med. Scientia [internet]; 2012 Jul [citado el 4 dic 2019]; 2(2): 23-33. Disponible en:

https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/37971235/c._albicans_y_de_rmatofitosallium_sativum.pdf?responsecontentdisposition=inline%3b%20filename%3dc._albicans_y_dermatofitos-allium_sa.pdf&x-amz-algorithm=aws4-

hmac-sha256&x amzcredential=akiaiwowyygz2y53ul3a%2f20191204%2fus-east-1%2fs3%2faws4_request&x-amz-date=20191204t062953z&x-amz-expires=3600&x-amz-signedheaders=host&x-amz-signature=d8cf4f6614bdd3143603ac1df20624a5f8179d3955babdcf75697898be303ea3

- 33.** OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014 -2 023. Organ Mundial de la Salud. [Internet].2013;72. Available from:
<http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>
- 34.** 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 el 2020 oct 10]. Disponible en: Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants.
- 35.** Nancy J, Ruiz-P. Aspectos generales del ajo y Biochemical Characterization, Antimicrobial, and Antifungal Activity of Two Endemic Varieties of Garlic (*Allium sativum L.*) of the Campania Region. *Rev Fratianni* [Internet]; 2016 Jul [cited 2020 Oct 10]; 19(7):686–91. Available from:
<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2016.0027>
- 36.** Luis A, Aller R. Ajo y riesgo cardiovascular. *An. Med. Interna (Madrid)* [Internet]. 2008 mayo [citado 2019 Dic 03];25(5):237-240. Disponible en:
[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S021271992008000500010&lng=es.](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S021271992008000500010&lng=es)

37. Guillamón E. Efecto de compuestos fitoquímicos del género *Allium* sobre el sistema inmune y la respuesta inflamatoria. *Ars Pharm* [Internet]. 2018 Sep [citado 2019 Dic 03];59(3):185-196. Disponible en:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2340-98942018000300185&lng=es. <http://dx.doi.org/10.30827/ars.v59i3.747931>
38. Editorial CEP, ed. Manual plantas medicinales: formación para el empleo [Internet]. Madrid: CEP, S.L.; 2010. [citado el 27 octubre 2018]. Disponible en:<https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=3207194#>.
39. Astorga K, Zúñiga C, Rivera W. Aislamiento e identificación de patógenos de la estirpe silvestre del ajo (*Allium sativum* L). *Tecnol en Marc* [internet]. 2014 mar [citado el 27 octubre 2018]; 27(1): 77-84. Disponible en:
<http://www.scielo.sa.cr/pdf/tem/v27n1/a08v27n1.pdf>.
40. Hidalgo D, Ricardi M, Gaviria C, editors. Contribución a la etnofarmacología de los páramos venezolanos. *Revista Científicas y Humanísticas Vol.7 (1)*, 1999. Zulia: Red Universidad del Zulia; 1999.
41. Juárez G, Díaz E, Méndez D, Pina S, Pérez. D, Sánchez A. Efecto de extractos crudos de ajo (*Allium sativum*) sobre el desarrollo in vitro de *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus Níger*. *Polibotánica* [revista en la Internet]. 2019 Jun [citado 2019 Dic 04];(47):99-111. Disponible en:
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682019000100099&lng=es. <http://dx.doi.org/10.18387/polibotanica.47.8>

42. Callisaya J, Conde D, Choque H. Frecuencia de Gérmenes causantes de Micosis superficiales. BIOFARBO [revista en Internet]. 2007 Dic [citado 2018 Oct21];15(1):21-28. Disponible en:
http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1813-53632007000100004&lng=es.
43. Rubio C, Rezusta A, Gil Perspectiva micológica de los Dermatofitos en el ser humano. Rev.Iberoam. Micol. [revista en internet].1999. [citado 2018 oct 27];16(1):16-22. Disponible en:
<http://www.reviberoammicol.com/1999-16/016022.pdf>
44. Arenas R, Vásquez E, Moreno G et al. Micos superficial en pacientes con VIH/ SIDA. Dermatología. Rev. Mex. [internet].2010. [citado el 27 octubre 2018]; 54(5):259-266. Disponible en:
<http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2010/rmd105b.pdf>
45. Hernández A, Carbajal Fernández R et al. Dermatofitos por *Trichophyton rubrum*. Rev. Iberoam Micol.2007;24(1):122-124.Disponible en:
<http://www.reviberoammicol.com/2007-24/122124.pdf>
46. Rodríguez N, Vélez C, Cardona N. Factores de virulencia para la infección de tejidos queratinizados por *Candida albicans* y hongos dermatofitos. Rev. Med. Clinical [internet]; 2012 May [citado el 4 dic 2019]; 26(1): 43-55. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v26n1/v26n1a05.pdf>
47. Terbinafina 1 %. Rev cubana Farm [Internet]. 2012 Dic [citado 2020 Oct 08]; 46(4): 470-474. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003475152012000400011&lng=es

- 48.** Andrade E. Eficacia y seguridad de la terbinafina oral en pauta intermitente o pulsátil versus pauta continua para el tratamiento de la onicomycosis en mayores de 18 años. *Rev Fac Med* [internet]. 2016 jun [citado 2020 oct 08]; 64(1): 59-66. Disponible en : <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmun/v64n1/v64n1a09.pdf>
- 49.** Juárez G. sensibilidad antifúngicos. *Rev. Medic. Polibotánica* [internet]; 2019 nov [citado el 4 dic 2019]; 47(2): 99-111. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/polib/n47/1405-2768-polib-47-99.pdf>
- 50.** Cona E. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. *Rev. chil. infectol.* [Internet]. 2002 [citado 2019 Dic 04]; 19(Suppl2):77-81. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182002019200001&lng=es.<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182002019200001>.
- 51.** Tapia V. Actualización en pruebas de susceptibilidad antifúngica. *Rev. chil. Infectol* [Internet]. 2009 Abr [citado 2019 Dic 04]; 26(2): 144-150. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182009000200005&lng=es.<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182009000200005>.
- 52.** Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100S. 19087 USA,2016. [citado: 2020 oct 08]. Disponible en: <http://ljzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>

- 53.** Pimentel E, Martín D. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. *Rev. Estomatol Herediana* [internet], 2015 oct [citado el 4 dic 2019]; 25(3): 268- 277. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v25n4/a04v25n4.pdf>
- 54.** Resusta A, Sánchez A, Gil T. Fundamentos básicos para el diagnóstico micológico. *Rev Iberoamericana de Micology - Rev Española de Micología* [internet]. 2007 jun [citado el 8 mayo 2020];15(2): 978-1010. Disponible en:
<http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo3.pdf>
- 55.** Bernal M, Guzmán M. El antibiograma de discos- Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. *Rev.Biomedic* [internet].2016 dic [citado el 8 mayo 2020];4(3): 112-121. Disponible en:
<https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1891/1917>
- 56.** Pimentel E, Castillo D, Quintana M et al. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad buccal. *Rev Estomatol Herediana* [internet]. 2015 oct [citado el 8 mayo 2020];25(3): 77-268. Disponible en:
<file:///E:/TESIS%20IV/a04v25n4%20extracto%20etanolico.pdf>
- 57.** Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para La Investigación. Versión 002. Aprobado por acuerdo del Consejo Universitario con Resolución N° 0973-2019-CU- ULADECH católica, de fecha 16 de agosto del 2019. [Citado el 2020 oct 10]. Disponible en:
<https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo deeticaparalainvestigacionv002.pdf>

- 58.** Ménorval M, Fernández M, Reigada R. Effects of dimethyl sulfoxide in cholesterol-containing lipid membranes: a comparative study of experiments in silico and with cells. *PLoS One*. 2012;7(7). [citado el 28 Abril 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3404987/>
- 59.** Garlord Chemical Company. Dimetilsulfóxido datos de la solubilidad. [internet], 2014 jun [citado el 8 nov 2020]. Disponible en: <https://www.gaylordchemical.com/wp-content/uploads/2015/08/GC-Literature-102-B-ESP-Low.pdf>
- 60.** Nweze E, Mukherjee M, Ghannoum A. "Agar-based disk diffusion assay for susceptibility testing of dermatophytes." *Journal of clinical microbiology* [internet], 2010 jun [citado el 19 may 2020]; 48(2):3750-3752. Disponible en: <https://jcm.asm.org/content/48/10/3750.short>
- 61.** Mukherjee P, Leidich S, Isham N, Ryder N, Ghannoum A. *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*. Rev Clinical [internet], 2003 april [citado el 19 may 2020];47(1):82-86. Disponible en: <https://aac.asm.org/content/47/1/82.short>
- 62.** Karumuri S, Puneet K, Pratyosh S. "In silico analog design for terbinafine against *Trichophyton rubrum*: a preliminary study." *Indian journal of microbiology*. Rev microbiology [internet], 2015 mar [citado el 20 may 2020]; 55(3): 333-340. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12088-015-0524-x>
- 63.** Falco B, Bonanomi G, Lanzotti V. Dithiosulfinates and Sulfoxides with Antifungal Activity from Bulbs of *Allium sativum* L. var. *Voghiera*. *Natural Product Communications*. Rev med [internet], 2018 may [citado el 19 may 2020]; 13(9):193-578. Disponible en:

<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1934578X1801300916>

- 64.** Ledezma E, Castro R. Del folklore al mecanismo molecular: El ajoene [internet]; 2015 jul [citado el 2020 oct 10], 23(4): 227-231. Disponible en:
https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/34258216/ledezma.pdf?1405965201=&response-content-disposition=inline%3b+filename%3d-del_folklore_al_mecanismo_molecular_el_e.pdf&expires=1601972306&signature=tq~zstw7683srbijaluckuytfvjzbiupzfk37kkwtl55py9wwcphydhiz45g9oyzzk0jzhvg44iwnxocgstzckz7hvsym6q1rugdfspf5sbml4tjk3roum9q0dyvfnpsw~9o316icdhhwqwf7zf0xtcd6lxuhiqe1rc8b2ee9prly5gwralswm3lm6iql4t8m0u3wzt1amvqlsxm3uhiw7nfkpiygspzdvn7qv4ctej650amx3l7iz8lgvrkwpiosyguqiu34uh5xec3p80ve-u5ubx-xsmb5mwe89~zjwf~fsbliz91jwobmtaxqoxq84l~rebdzjh-6cgpq__&key-pair-id=apkajlohf5ggsrbrv4za
- 65.** Moctezuma M, Pedraza M, Cárdenas J, Martínez V, Acosta J. Efecto del Ajo (*Allium Sativum*) Sobre el Crecimiento de Algunas Especies De Hongos. [Tesis]. Bolivia: Universidad Autónoma de San Luis de Potosí; 2016. Disponible en:
<https://www.eumed.net/rev/tlatemoani/22/ajo.html>
- 66.** Robles M, González J, Pérez V, Montejano C, Pérez E, Patiño R. Potenciación de la actividad antimicótica del extracto de *Allium sativum* y nanopartículas de plata contra *Trichophyton rubrum*. Química y biodiversidad. Rev Medic [internet], 2019 jun [citado el 19 may 2020];16(4):180-225. Disponible en:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.201800525>

- 67.** Batiha G, Magdy A, Wasef L, Elewa Y, Sagan A, Prasad H. Chemical Constituents and Pharmacological Activities of Garlic (*Allium sativum* L.): A Review. *Nutrients. Rev Medic* [internet], 2020 enero [citado el 19 may 2020];12(3):872-1100.Disponible en:
<https://www.mdpi.com/2072-6643/12/3/872>
- 68.** Ramírez H, Castro L, Martínez E. Efectos Terapéuticos del Ajo (*Allium Sativum*) [internet], 2016. Agost [citado el 2020 oct 10]; 3(8): Disponible en:
<http://www.unsis.edu.mx/SaludyAdministracion/08/A4%20-%20Efectos%20Terapeuticos%20Ajo.pdf>

ANEXOS

ANEXO N° 1: Ubicación y extracción de los bulbos de *Allium sativum* “ajo”



Figura 1: Extracción de los bulbos de *Allium sativum* (ajo)



Figura 2: Ubicación geográfica del *Allium sativum* (ajo)

ANEXO N° 2: Certificación del cultivo de *Trichophyton rubrum*

TAGUMEDICA

INFORME DE ENSAYO N° 201-19

EMPRESA/CLIENTE: Medina López Claudina DNI: N° 46614470

N° de Ficha: 201-19

DATOS DE LA MUESTRA:

Identificación de la muestra	Código	Descripción	Cantidad de la muestra.
<i>Trichophyton rubrum</i> (presuntivo)	405-19	Tubo de ensayo conteniendo cepa presuntiva	1 tubo de ensayo.

TIPO DE ENSAYO: Pruebas de identificación de microparasitos LSP-vegetal «51» «52» «1113»

FECHA DE RECEPCION: 12/07/19

FECHA DE ANALISIS: 15/07/19

FECHA DE EMISION: 22/07/19 Especificaciones:

ENSAYO MICROBIOLÓGICO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN/LÍMITE
Catador, cultivo, identificación y tipificación de cepas microbianas	Conforme / No conforme

Nota: Especificaciones según ISO 9001:2015 y L. 27112

CONCLUSIÓN:

Figura 3: Informe de ensayo del cultivo

RESULTADOS.

1. Identificación.

1.1. En medio de cultivo: Agar glucosado Sabouraud Dextrosa.

Criterios de evaluación	Especificación	Resultado
Desarrollo de colonia	Hifas laterales color blanco	Conforme
Forma de colonia	Claviforme o Fusiforme	Conforme
Degradación de glucosa	Coloración roja	Conforme
Superficie de colonia	Vellosidades finas	Conforme

1.2. Microscópica.



Aspectos	Especificación	Resultado
Formación de microconidias	Identificación de racimos	Conforme
Tamaño de microconidias	2-3 μ m	Conforme
Forma de microconidias	Esférica con bordes fusiformes	Conforme

Figura 4: Resultados del informe de ensayo del cultivo

CONCLUSION.

Según la muestra los resultados son conformes para la identificación de:

Trychophytum rubrum

Nota:

1. El informe de ensayo solo es utilizado para los ítems ensayados y la cantidad recibida.
2. Prohibida la reproducción total o parcial del documento sin autorización de TAGUMEDICA SAC.
3. El resultado de ensayo no debe ser usado como certificación de Conformidad o como certificado de Sistema de Calidad de quien lo produce.
4. Toda muestra biológica será eliminada posterior a su procesamiento.
5. Estos resultados son de uso exclusivo del cliente y no pueden ser utilizados para controversias de tipo legal con terceros.

TAGUMEDICA S.A.

Q.F. JAZME CAMPOS NARANJO
JEFE DE CONTROL DE CALIDAD
CALLE 11144

TAGUMEDICA S.A.

Q.F. GORINA CANALES TORRES
DIRECTORA TECNICA
CALLE 11448

Figura 5: Conclusiones del informe de ensayo del cultivo

ANEXO N°3: Certificación del *Allium sativum* (ajo)

 **Herbarium Truxillense (HUT)**
Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú 

Constancia N° 109 – 2018- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

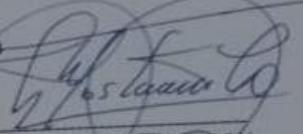
Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Liliales
- Orden: Asparagales
- Familia: Amaryllidaceae
- Género: **Allium**
- Especie: **A. sativum L.**
- Nombre común: "ajo"

Muestra alcanzada a este despacho por CLAUDINA MEDINA LÓPEZ, identificado con DNI: 45514470, con domicilio legal en Pachacutéc # 714, Urb. Santa María Trujillo- La Libertad. Estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de investigación: "Formulación de talco antimicótico del bulbo fresco liofilizado de *Allium sativum* "ajo" para administración tópica".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 06 de Noviembre del 2018


D. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT



E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

Figura 6: Certificación del *Allium sativum* (ajo)

ANEXO N° 4: Preparación del extracto etanólico de *Allium sativum* (ajo)

Selección del *Allium sativum* (ajo)



Selección de los bulbos para su lavado



Lavado de los bulbos del *Allium sativum* (ajo)



Retirada de la cubierta de los bulbos



Limpieza de las sustancias extrañas en los bulbos



Reposición de los bulbos limpios en el papel Kraft



Agregar alcohol de 96° en la probeta



Agregando el alcohol al frasco con los bulbos limpios



Llenar de alcohol hasta el tope del frasco y cerrar



Cubrir con una bolsa negra el fresco para su maceración



Pasadas dos semanas, filtrar el macerado



Colocar papel filtro en el equipo de vapor al vacío



Filtrar el macerado en el equipo de vapor al vacío



Completado el extracto etanólico para pasar al rotavapor



ANEXO N° 5: Preparación de las diferentes concentraciones de extracto de *Allium sativum* (ajo)

Pesaje del extracto seco y la luna de reloj	1g de extracto etanólico + 4ml de dimetilsulfóxido	2g de extracto etanólico + 4ml de dimetilsulfóxido
		

3g de extracto etanólico + 4ml de dimetilsulfóxido	4g de extracto etanólico + 4ml de dimetilsulfóxido	Extractos etanólicos de <i>Allium sativum</i> al (25, 50, 75 y 100) %
		

ANEXO N° 6. Esquema de las concentraciones del extracto etanólico de *Allium sativum* (ajo)

❖ 25g-----100ml

X-----4ml

X= 1g al 25%

❖ 50g-----100ml

X-----4ml

X= 2g al 50%

❖ 75g-----100ml

X-----4ml

X= 3g al 75%

❖ 100g-----100ml

X-----4ml

X= 4g al 100%

ANEXO N° 7: Sembrado de los cultivos de *Trichophyton rubrum* y las concentraciones en las placas Petri y las pruebas de susceptibilidad



Figura 7: Concentración de extracto al 25%, 50%, 75% y 100%



Figura 8: Sembrado del inoculo en las placas Petri

ANEXO N° 8: Medición de los diámetros de los halos de inhibición y clasificación

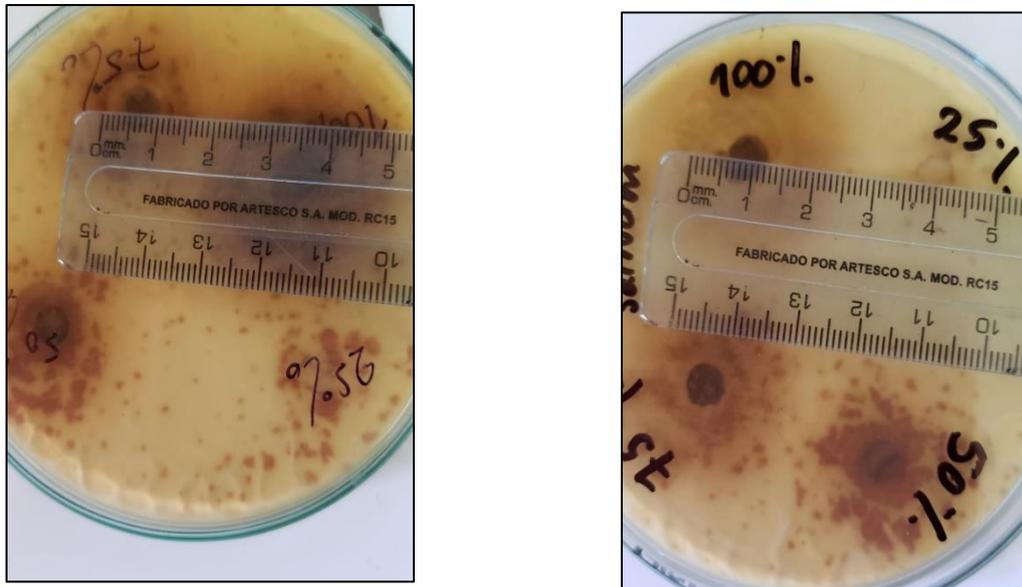


Figura 9: Lectura de los halos al 25%, 50%, 75% y 100%



Figura 10: Halos formados para su lectura

ANEXO N° 9: Datos estadísticos para analizar los datos obtenidos

Tabla 3: Prueba estadística de Normalidad

GRUPO	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
25%	.147	10	.200(*)	.905	10	.250
50%	.187	10	.200(*)	.960	10	.780
H24 75%	.167	10	.200(*)	.968	10	.868
100%	.272	10	.034	.802	10	.150
STAND AR	.115	10	.200(*)	.965	10	.838

* Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors.

b. H24 es una constante cuando GRUPO = BLANCO y se ha desestimado.

Cumple con el supuesto de normalidad.

Tabla 4: Prueba estadística Anova

H24	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	13515.024	5	2703.005	3866.960	.000
Intra-grupos	37.746	54	.699		
Total	13552.770	59			

*La varianza entre grupos es estadísticamente significativa, se acepta H1.

Tabla 5: Prueba T de estadísticos de grupo 25% vs 50%

	GRUPO	N	Media	Desviación tít.	Error tít. de la media
H24	25%	10	17.9200	.90652	.28667
	50%	10	26.5300	.92981	.29403

Tabla 6: Prueba de muestras independientes 25% vs 50%

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error tít. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
		Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior
H24	Se han asumido varianzas iguales	.000	1.000	-20.967	18	.004	-8.61000	.41065	-9.47274	7.74726
	No se han asumido varianzas iguales			-20.967	17.988	.004	-8.61000	.41065	-9.47278	7.74722

Existe diferencia significativa entre ambos grupos (Muestran diferente efecto).

Tabla 7: Prueba T de estadísticos de grupo 25% vs 75%

	GRUPO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
H24	25%	10	17.9200	.90652	.28667
	75%	10	33.1600	.94892	.30007

Tabla 8: Prueba de muestras independientes 25% vs 75%

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias							
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia		
								Superior	Inferior	
H24	Se han asumido varianzas iguales	.038	.848	-36.723	18	.002	-15.24000	.41500	- 16.1118 8	- 14.3681 2
	No se han asumido varianzas iguales			-36.723	17.963	.002	-15.24000	.41500	- 16.1120 1	- 14.3679 9

Existe diferencia significativa entre ambos grupos (Muestran diferente efecto).

Tabla 9: Prueba T de estadísticos de grupo 25% vs 100%

	GRUPO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
H24	25%	10	17.9200	.90652	.28667
	100%	10	36.0600	.98680	.31205

Tabla 10: Prueba de muestras independientes 25% vs 100%

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias							
	F		t		Sig. (bilateral)		Error típ. de la diferencia		95% Intervalo de confianza para la diferencia	
	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior
H24	Se han asumido varianzas iguales	.403	.533	-42.809	18	.001	-18.14000	.42374	-	-
	No se han asumido varianzas iguales			-42.809	17.872	.001	-18.14000	.42374	19.03024	17.24976

Existe diferencia significativa entre ambos grupos (Muestran diferente efecto).

Tabla 11: Prueba T de estadísticos de grupo 50% vs 75%

	GRUPO	N	Media	Desviación tıp.	Error tıp. de la media
H24	50%	10	26.5300	.92981	.29403
	75%	10	33.1600	.94892	.30007

Tabla 12: Prueba de muestras independientes 50% vs 75%

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error tıp. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
		Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior
H24	Se han asumido varianzas iguales	.035	.853	-15.781	18	.023	-6.63000	.42012	-7.51264	5.74736
	No se han asumido varianzas iguales			-15.781	17.993	.023	-6.63000	.42012	-7.51266	5.74734

Existe diferencia significativa entre ambos grupos (Muestran diferente efecto)

Tabla 13: Prueba T de estadísticos de grupo 50% vs 100%

	GRUPO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
H24	50%	10	26.5300	.92981	.29403
	100%	10	36.0600	.98680	.31205

Tabla 14: Prueba de muestras independientes 50% vs 100%

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias							
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia		
								Superior	Inferior	
H24	Se han asumido varianzas iguales	.372	.549	-22.227	18	.001	-9.53000	.42876	-10.43079	-8.62921
	No se han asumido varianzas iguales			-22.227	17.937	.001	-9.53000	.42876	-10.43101	-8.62899

Existe diferencia significativa entre ambos grupos (Muestran diferente efecto)

Tabla 15: Prueba T de estadísticos de grupo 75% vs 100%

	GRUPO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
H24	75%	10	33.1600	.94892	.30007
	100%	10	36.0600	.98680	.31205

Tabla 16: Prueba de muestras independientes 75% vs 100%

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias							
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia		
								Superior	Inferior	
H24	Se han asumido varianzas iguales	.178	.678	-6.699	18	.044	-2.90000	.43292	-3.80954	-1.99046
	No se han asumido varianzas iguales			-6.699	17.972	.044	-2.90000	.43292	-3.80964	-1.99036

Existe diferencia significativa entre ambos grupos (Muestran diferente efecto)

Tabla 17: Prueba T de estadísticos de grupo Terbinafina vs 25%

	GRUPO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
H24	STANDAR	10	54.0300	.79589	.25168
	25%	10	17.9200	.90652	.28667

Tabla 18: Prueba de muestras independientes Terbinafina vs 25%

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias					95% Intervalo de confianza para la diferencia	
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	Superior	Inferior
H24	Se han asumido varianzas iguales	.105	.750	94.659	18	.000	36.11000	.38147	35.3085 5	36.9114 5
	No se han asumido varianzas iguales			94.659	17.703	.000	36.11000	.38147	35.3075 9	36.9124 1

Existe diferencia significativa entre ambos grupos (Muestran diferente efecto)

Tabla 19: Prueba T de estadísticos de grupo Terbinafina vs 50%

	GRUPO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
H24	STANDAR	10	54.0300	.79589	.25168
	50%	10	26.5300	.92981	.29403

Tabla 20: Prueba de muestras independientes Terbinafina vs 50%

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas				Prueba T para la igualdad de medias				
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
		Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior
H24	Se han asumido varianzas iguales	.097	.759	71.052	18	.000	27.50000	.38704	26.6868 6	28.3131 4
	No se han asumido varianzas iguales			71.052	17.582	.000	27.50000	.38704	26.6854 7	28.3145 3

Existe diferencia significativa entre ambos grupos (Muestran diferente efecto)

Tabla 21: Prueba T de estadísticos de grupo Terbinafina vs 75%

	GRUPO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
H24	STANDAR	10	54.0300	.79589	.25168
	75%	10	33.1600	.94892	.30007

Tabla 22: Prueba de muestras independientes Terbinafina vs 75%

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Superior	Inferior	
H24	Se han asumido varianzas iguales	.283	.601	53.288	18	.000	20.87000	.39165	20.0471 8	21.6928 2
	No se han asumido varianzas iguales			53.288	17.471	.000	20.87000	.39165	20.0453 9	21.6946 1

Existe diferencia significativa entre ambos grupos (Muestran diferente efecto)

Tabla 23: Prueba T de estadísticos de grupo Terbinafina vs 100%

	GRUPO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
H24	STANDAR	10	54.0300	.79589	.25168
	100%	10	36.0600	.98680	.31205

Tabla 24: Prueba de muestras independientes Terbinafina vs 100%

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas				Prueba T para la igualdad de medias				
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
		Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior
H24	Se han asumido varianzas iguales	1.100	.308	44.824	18	.000	17.97000	.40090	17.12774	18.81226
	No se han asumido varianzas iguales			44.824	17.228	.000	17.97000	.40090	17.12502	18.81498

Existe diferencia significativa entre ambos grupos (Muestran diferente efecto)

ANEXO 10: PROCOTOCOLO DE INVESTIGACION

INVESTIGACION RELACIONADOS CON MICROORGANISMOS

(Ciencias Médicas y de la Salud)

Título de la Investigación: EFECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL BULBO DE *Allium sativum* (ajo) en CULTIVOS DE *TRICHOPHYTON rubrum*.

Investigador Responsable: Medina Lopez Claudina

Yo, como investigador principal, acepto la responsabilidad de conducir este estudio y de cumplir con los principios de ética relacionados con el microorganismo siguiente.

Describa brevemente los procedimientos a los que serán expuestos los microorganismos durante su estudio:

- Se cultivó los cultivos de *Trichophyton rubrum* en tubos de ensayo con Agar Sabouraud dextrosa para activar al hongo. Se incubó a temperatura ambiente con el fin de obtener colonias jóvenes, caracterizadas macroscópicamente las colonias de *Trichophyton rubrum* por el color y aspecto del Haz blanco algodonoso y el envés con el rojo vinoso. A partir de este cultivo reciente se realizaron los demás procedimientos.
- Para la realización de las pruebas de susceptibilidad, se preparó un inóculo donde se produjeron los microconidios piriformes del hongo, los cuales se utilizaron para enfrentar a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Allium sativum* (ajo). Para lograr la esporulación del hongo se sembró el *Trichophyton rubrum* en Agar de harina de avena con 30g, 15g de Agar simple en 1000ml de agua destilada, dejándolos por 21 días. Una vez terminada éste procedimiento, los cultivos de

Trichophyton rubrum fueron sembrados en Agar sabouraud e incubados por 15 días a una temperatura de 27⁰C.

- Luego de observar un buen desarrollo, se agregó 10ml de agua destilada estéril hasta alcanzar una turbidez del tubo 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland, cuya concentración es equivalente a 6×10^8 /mL y se levantó cuidadosamente con una varilla de vidrio todo el desarrollo del hongo, trasvasándolo a un tubo estéril para su posterior uso.
- Utilizando un hisopo estéril, se procedió la siembra de este inóculo en las placas Petri conteniendo el agar sabouraud por cepa (de 6mm de grosor) de manera uniforme en la superficie de las placas. Posterior se hicieron 04 excavaciones en el centro de la placa de 6mm de diámetro. En estos pocillos se colocaron 30ul de las diferentes concentraciones de *Allium sativum* (25%, 50%, 75% y 100%) consecutivamente embebidos en discos de papel filtro Whatman N^o3 (6mm de diámetro) con la ayuda de una micropipeta para los grupos experimentales; y en otra placa se colocó 30ul de Terbinafina (equivalente a 0.03ug/ml) para cada pocillo del grupo control farmacológico y 30ul de dimetilsulfóxido (DMSO) al 0.2% como control respectivamente. Luego se incubaron a una temperatura de 20⁰C- 27⁰C por 15 días.
- La lectura se realizó a los 15 días de incubación, cada una de las placas fueron examinadas visualmente y las zonas de crecimiento del hongo se hizo cerca a la excavación, midiendo su diámetro de inhibición en mm (la distancia que existe entre el hoyo y el micelio del hongo) alrededor del disco, con la ayuda de un milímetro vernier. Luego los valores de la inhibición fueron promediados y comparados con las

medidas de halo de inhibición de los controles (positivo y negativo). El resultado final se clasificó de acuerdo Clinical Laboratory estándar Institute (CLSI) de la escala de Duraffourd.

INFORMACIÓN ACERCA DE LOS MICROORGANISMOS:

ESPECIE

Nombre científico: *Trichophyton rubrum*.

Número a utilizar: cultivos de *Trichophyton rubrum*

Justifique el número de microorganismo a utilizar:

Se utilizarán cultivos de *Trichophyton rubrum* jóvenes que fueron certificadas por el laboratorio Tegumédica en la ciudad de Lima.

Que estuvo compuesto por 6 grupos de estudio:

- Grupo control (DMSO al 0.2%).
- Grupo control estándar (terbinafina 250mg).
- Extracto etanólico de *Allium sativum* al 25%
- Extracto etanólico de *Allium sativum* al 50%
- Extracto etanólico de *Allium sativum* al 75%
- Extracto etanólico de *Allium sativum* al 100%

PROCEDIMIENTOS:

Descripción de la Obtención de material biológico (método a utilizar, muestra a tomar, manejo de la muestra de ser el caso): los cultivos de *Trichophyton rubrum* se aisló de un paciente del Instituto Nacional de Salud y fue identifica y certifica por el laboratorio Tegumédica, ubicada en la ciudad de Lima.

Bioseguridad (procedimientos para evitar impactos negativos en el ambiente, en casos de trabajos de campo de ser el caso):

- Colocar nuestros equipos de protección personal, usando adecuadamente para evitar riesgos de contaminación con las muestras bilógicas.
- Realizar debidamente la asepsia del área de trabajo a utilizar.
- Esterilizar los materiales a utilizar.
- Realizar un correcto lavado de las placas Petri.

Manejo de desechos (indicar si las muestras están contaminadas con tóxicos o microorganismos, o no.):

- Se hizo un lavado adecuado de las placas Petri en donde estuvieron colocadas los hongos.
- Se procedió a secar las placas con papel toalla.

Firma del investigador Principal

Fecha: 26/09/2020

