



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

EFFECTO ANTIMICÓTICO *IN VITRO* DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Allium cepa* (CEBOLLA) SOBRE
CULTIVOS DE *Candida albicans*

TETIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR

ALDUI MONTALVO, JHON GUSTAVO

ORCID: 0000-0002-9534-8311

ASESOR

LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

ORCID: 0000-0003-4125-3381

TRUJILLO – PERÚ

2021

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Aldui Montalvo, Jhon Gustavo

ORCID: 0000-0002-9534-8311

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

Ramírez Romero, Teodoro Walter

ORCID: 0000-0002-2809-709X

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Matos Inga, Matilde Anais

ORCID: 0000-0002-3999-8491

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Mgtr. Teodoro Walter Ramírez Romero

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Matilde Anais Matos Inga

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Asesor

AGRADECIMIENTO

A Dios:

Por bendecir mi vida, por guiarme y acompañarme a lo largo de mi existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad, por brindarme paciencia y sabiduría para culminar con éxito mis metas propuestas.

A mis padres:

Por ser los principales promotores de mis sueños y haberme apoyado incondicionalmente, pese a las adversidades e inconvenientes que se presentaron, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado.

A mis docentes:

Por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi profesión y que me han visto crecer como persona, y gracias a sus enseñanzas hoy puedo sentirme dichoso y contento.

DEDICATORIA

A mi madre:

Por haberme dado la vida, por su amor y por permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional, por ser la inspiradora y darme la fuerza necesaria para continuar con este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A mi padre:

Por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias por haberme permitido llegar hasta aquí y convertirme en la persona que hoy soy.

A la universidad ULADECH:

Dedico este trabajo de investigación a la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Farmacia y Bioquímica, a todos los profesores por ayudarme en mi formación académica.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental, enfoque cuantitativo observacional. Se realizó con el objetivo de evaluar el efecto antimicótico *in vitro* del aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) a concentraciones de 25, 50 y 75 % sobre cultivos de *Candida albicans*. Para ello se utilizaron 20 placas petri que contenían agar Sabouraud, cada placa fue inoculada con *Candida albicans* a una concentración equivalente al tubo 0,5 del Nefelómetro de MacFarland; cada placa contenía 5 discos de sensibilidad. Se dividieron las placas en cuatro grupos de estudio. A los discos del grupo blanco se le agregaron 20 μ L de agua destilada, a los grupos experimentales 1, 2 y 3 se les agregó 20 μ L de aceite esencial de *Allium cepa* a concentraciones de 25, 50 y 75 % respectivamente. Se determinó el efecto antimicótico con la medición de los halos de inhibición después de 24 horas de incubación del cultivo de *Candida albicans* a 37 °C. El promedio de la medición de los halos de inhibición del grupo blanco fue de 6 ± 0.1 mm, los grupos que contenían aceite esencial al 25, 50 y 75 % obtuvieron un promedio inhibición de $9,8 \pm 0,7$ mm; $12,84 \pm 0,8$ mm y $17,08 \pm 0,8$ mm respectivamente. La prueba ANOVA y el test de Tukey determinaron la diferencia significativa entre los grupos. Se concluye que el aceite esencial de *Allium cepa* tiene efecto antimicótico sobre *Candida albicans*, encontrándose el mayor efecto a una concentración de 75 %.

Palabras claves: Aceite esencial, *Allium cepa*, *Candida albicans*.

ABSTRACT

The present research work was experimental, quantitative observational approach. It was performed with the objective of evaluating the in vitro antifungal effect of the essential oil of *Allium cepa* (onion) at concentrations of 25, 50 and 75% on *Candida albicans* cultures. For this, 20 petri dishes containing Sabouraud agar were used, each plate was inoculated with *Candida albicans* at a concentration equivalent to tube 0.5 of the MacFarland Nephelometer; each plate contained 5 sensitivity discs. Plates were divided into four study groups. To the disks of the white group, 20 μL of distilled water was added, to the experimental groups 1, 2 and 3, 20 μL of essential oil of *Allium cepa* were added at concentrations of 25, 50 and 75% respectively. The antifungal effect was determined by measuring the inhibition halos after 24 hours of incubation of the *Candida albicans* culture at 37 ° C. The average of the measurement of the inhibition halos of the white group was 6 ± 0.1 mm, the groups that contained essential oil at 25, 50 and 75% obtained an average inhibition of 9.8 ± 0.7 mm; 12.84 ± 0.8 mm and 17.08 ± 0.8 mm respectively. The ANOVA test and the Tukey test determined the significant difference between the groups. It is concluded that the essential oil of *Allium cepa* has an antifungal effect on *Candida albicans*, the greatest effect being found at a concentration of 75%.

Key words: Essential oil, *Allium cepa*, *Candida albicans*

CONTENIDO

Equipo de trabajo.....	ii
Hoja de firma del jurado y asesor.....	iii
Agradecimiento.....	iv
Dedicatoria.....	v
Resumen.....	vi
Abstract.....	vii
Contenido.....	viii
Índice de tablas.....	ix
I. Introducción.....	1
II. Revisión de la literatura.....	4
III. Hipótesis.....	11
IV. Metodología.....	12
4.1. Diseño de la investigación.....	12
4.2. Población y muestra.....	14
4.3. Definición y operacionalización de las variables e indicadores.....	15
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	16
4.5. Plan de análisis.....	18
4.6. Matriz de consistencia.....	19
4.7. Principios éticos.....	20
V. Resultados.....	21
5.1. Resultados.....	21
5.2. Análisis de resultados.....	23
VI. Conclusiones.....	25
Aspectos complementarios.....	26
Referencias bibliográficas.....	27
Anexos.....	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Determinar a qué concentración el aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) presenta mayor efecto antimicótico sobre cultivos de *Candida albicans* a través de la medida de los halos de inhibición utilizando el método de difusión de discos.....21

Tabla 2. Determinar si existe diferencia significativa entre los tamaños de los halos de inhibición del aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) a concentraciones de 25, 50 y 75 % sobre los cultivos de *Candida albicans*.....22

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones micóticas conllevan un serio problema de salud; estas son producidas por hongos que atacan peculiarmente a nivel sistémico o de mucosas, acarreando un serio problema sanitario, sobre todo en aquellos países en proceso de desarrollo que cuentan con climas tropicales o subtropicales⁽¹⁾.

Entre las infecciones producidas por hongos, la *Candida albicans* está comúnmente relacionadas con altas tasas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, en Estados Unidos es la cuarta causa de ingresos hospitalarios y la causante más común de infecciones intrahospitalarias; en América latina es la quinta causa de infección del torrente sanguíneo⁽²⁾.

En el Perú, *Candida albicans* es responsable del 39 % de las infecciones en pacientes hospitalizados y tiene una alta frecuencia de cultivos positivos en catéteres venosos o catéter para nutrición parenteral colocados en las Unidades de Cuidados Intensivos. Sin embargo, dada la alta mortalidad de la candidemia, se le considera una enfermedad que plantea retos en su manejo clínico, y cuya incidencia se encuentra en aumento en las últimas décadas^(3,4).

El tratamiento de estas infecciones se basa en tres pilares; tres grupos de fármacos usados de manera estratégica: los azoles como el fluconazol considerado como el fármaco de primera elección, los polienos como la anfotericina B y el grupo de las equinocandinas. Lamentablemente el uso repetitivo y prolongado de estos fármacos, así como su consumo indiscriminado y sin justificación está generando un gran problema debido al desarrollo de resistencia a los antifúngicos⁽⁵⁾.

Una alternativa para reducir la resistencia a los antifúngicos es la búsqueda de principios activos provenientes de plantas medicinales que puedan generar una alternativa de tratamiento; desde la antigüedad el hombre se ha beneficiado de este valioso recurso y su conocimiento ha trascendido de generación en generación. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el 80% de la población mundial utiliza recurrentemente la medicina tradicional para calmar sus molestias, estos tratamientos incluyen la preparación de extractos, tinturas, aceites entre otros, con la finalidad de obtener los principios activos terapéuticos ⁽⁶⁾.

En la búsqueda de principios activos procedentes de recursos naturales, el Perú está considerado entre los 12 países con mayor biodiversidad de flora del mundo, habiéndose registrado una gran cantidad de plantas medicinales en la zona andina y amazónica del país, las cuales son utilizadas por los pobladores de esas zonas como tratamientos de distintas enfermedades ⁽⁷⁾.

Una especie de gran interés para su estudio como posible tratamiento de infecciones producidas por *Candida albicans* es *Allium cepa* (cebolla), esta hortaliza es un recurso dietético muy importante, es un monocotiledóneo perteneciente a la familia de las liliáceas que se cultiva en todo el mundo. Los compuestos propios de la cebolla han demostrado poseer efectos antiinflamatorios y antihistamínicos in vitro y en modelos animales, así mismo se ha demostrado que la cebolla posee actividad antibacteriana, antiparasitaria y antifúngica ⁽⁸⁾.

Diversos estudios han demostrado la actividad antimicrobiana del aceite de *Allium cepa* (cebolla), a pesar de eso existen muy pocos informes sobre el efecto del aceite de cebolla contra hongos como el de *Candida albicans*. Por ello la presente investigación pretende contribuir a conocer la importancia del efecto antimicótico del aceite esencial

de *Allium cepa* (cebolla), con el fin de ser utilizado como un medicamento alternativo o coadyuvante a los fármacos comúnmente establecidos para disminuir los problemas de micosis producidos por *Candida albicans*^(8,9).

¿El aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) posee efecto antimicótico sobre cultivos de *Candida albicans*?

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antimicótico *in vitro* del aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) a concentraciones de 25, 50 y 75 % sobre cultivos de *Candida albicans*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a qué concentración el aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) presenta mayor efecto antimicótico sobre cultivos de *Candida albicans* a través de la medida de los halos de inhibición utilizando el método de difusión de discos.

Determinar si existe diferencia significativa entre los tamaños de los halos de inhibición del aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) a concentraciones de 25, 50 y 75 % sobre los cultivos de *Candida albicans*.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

Antecedentes

Camacho, en el 2016, en Chimbote realizó una investigación sobre la Actividad antibacteriana de *Allium cepa* - cebolla, sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* y *Pseudomona aeruginosa*, en la cual prepararon extractos acuosos a partir de los bulbos de cebolla en concentraciones de 25 %, 50 % y 100 %; estos se enfrentaron contra cultivos puros de *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella sp.* y *P. aeruginosa*, previamente tipificadas, obtenidas en laboratorios referenciales de la región o a nivel nacional; se utilizó el método de Difusión en Agar y tomando como controles los discos de sensibilidad de Cefalexina y Ciprofloxacino. La investigación concluye acotando que todos los extractos preparados presentaron inhibición del crecimiento bacteriano, siendo esta inhibición mayor en los extractos al 100 %. Además, *E. coli* presentó los mayores halos de inhibición de crecimiento, tanto a concentraciones de 25 %, 50 % y 100 %⁽¹⁰⁾.

Ramos, en el 2018, en Chiclayo realizó un estudio sobre el efecto in-vitro del extracto acuoso de *Allium cepa* – “cebolla” sobre cultivos de *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), en donde la población estuvo conformada por cepas proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología de la Universidad San Martín de Porres las cuales fueron enfrentadas al extracto acuoso de cebolla morada (*Allium cepa*) a concentraciones al 25 %, 50 %, 75 % y 100 %; la determinación del efecto *in vitro*, se encontró mediante el promedio del diámetro máximo medible de los halos de inhibición por cada patógeno en estudio.

El estudio concluye que el extracto acuoso de *A. cepa* presentó actividad inhibitoria sobre cultivos de *E. coli* BLEE, siendo dicha actividad dependiente de la concentración utilizada⁽¹¹⁾.

Arroyo et al., en el 2015 en México realizaron su estudio de la actividad inhibitoria de *Allium cepa* y *Allium sativum* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*, tuvo como objetivo estudiar el efecto inhibitorio de los extractos de *Allium cepa* (cebolla) y *Allium sativum* (ajo) sobre bacterias asociadas a trastornos entéricos en muchos animales. El estudio concluye en que se requieren al menos 12,5 mg/ml de ajo para inhibir el crecimiento de dichas bacterias, además evidencia que el extracto de cebolla debe estar en concentraciones superiores de 10% para eliminar estas bacterias⁽¹²⁾.

Figueroa, en el 2019, en Trujillo realizó una investigación sobre el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Allium cepa*, sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* comparado con ciprofloxacino *in vitro*. En el cual utilizo un diseño experimental de estímulo creciente para enfrentar el extracto alcohólico a concentraciones de 50 %, 75 % y 100 %, obtenido por maceración con etanol de 70 °G.L. El efecto antibacteriano se determinó mediante el método de difusión de discos de Kirby y Bauer. Los resultados de su investigación mostraron que ambas cepas son sensibles a los extractos alcohólicos, evidenciándose mayor sensibilidad a la concentración de 100 % (18,00 mm y 23,8 mm) para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente. Así mismo el mayor efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Allium cepa*, es sobre *Staphylococcus aureus* a la concentración de 100 % con un halo de inhibición de 23,08 mm⁽¹³⁾.

Bakht et al., en el 2016, en Pakistán realizaron una investigación intitulada *In Vitro* antimicrobial activity of *Allium cepa* (dry bulbs) against Gram positive and Gram negative bacteria and fungi. En la que se utilizó bulbos de cebolla seca que se recolectaron en el mercado local de Peshawar, Pakistán; los bulbos fueron secados en sombra para luego ser molidos y tamizados hasta obtener un polvo fino, se realizó la extracción de compuestos con diferentes solventes (Etanol, Éter de petróleo, Cloroformo, Acetato de etilo y N-butanol). Los extractos se enfrentaron a diferentes cepas bacterianas y fúngicas. El análisis de los datos reveló que todos los extractos mostraron diferentes rangos de inhibición. Las fracciones de acetato de etilo mostraron actividades inhibitorias contra los ocho microbios probados, incluidas las bacterias y un hongo, mientras que las fracciones de cloroformo inhibieron todos los microbios, excepto *Pseudomonas aeruginosa*. Las fracciones de butanol mostraron la segunda actividad más alta a concentraciones más bajas y más altas. Las fracciones de etanol y agua se encontraron menos efectivas o ineficaces. Entre los microbios Gram positivos, *Staphylococcus aureus* fue la bacteria más susceptible y las bacterias Gram negativas más resistentes fueron *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhi*⁽¹⁴⁾.

BASES TEÓRICAS

Aceites esenciales

Definición

El aceite esencial es un producto volátil con una naturaleza compleja, se encuentra en algunos vegetales a los cuales este les confiere un aroma agradable. Estos aceites se pueden obtener por arrastre con corriente de vapor de agua o por expresión del pericarpio de ciertos frutos⁽¹⁵⁾.

Comúnmente se les llama esencias, pero esta denominación es mucho más amplia y engloba aceites esenciales y a otras sustancias obtenidas por métodos extractivos bastante diversos. Los aceites esenciales son generalmente líquidos a temperatura ambiente, aunque algunos solidifican a baja temperatura como, por ejemplo, la esencia de anís. Algunos aceites esenciales son inflamables. Poseen índices de refracción elevados y presentan actividad óptica (desvían el plano de la luz polarizada, tienen poder rotatorio)^(15,16).

Los aceites esenciales naturalmente son aleaciones complejas de hasta más de 100 elementos que pueden ser: agregados alifáticos de baja masa molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), Monoterpenos, Sesquiterpenos y Fenilpropanos^(15,16).

Técnica de extracción de aceite esencial

El sistema de extracción depende del tipo de material que se va a procesar ya sea raíz, corteza, hojas, pétalos, entre otros. Es fundamental conocer el sitio donde se sitúa la sustancia aromática dentro de la contextura celular de la planta. Por lo cual es crucial el material vegetal a emplearse para su extracción⁽¹⁶⁾.

Destilación por arrastre de vapor

Es el método más conocido y utilizado para la extracción de aceites esenciales, se basa en la asociación de las moléculas de agua con las de aceite; en la destilación por arrastre con vapor de agua, el espécimen vegetal es dividido en pedazos pequeños y luego se encierra en una cámara inactiva con agua que llegará a ebullición y generará una corriente de vapor, la esencia es arrastrada y después condensada, recaudada y apartada de la fracción acuosa. Este método es muy utilizado para esencias fluídas. Se emplea a nivel industrial debido a su alta productividad, la pureza del aceite extraído y porque no requiere tecnología refinada ^(16,17).

***Allium cepa* (cebolla)**

Es una planta procedente de Asia, es una monocotiledónea bianual de hojas carnosas, cilíndricas y huecas, posee un bulbo sustancioso con envolturas fibrosas, llamadas catáfilos, estando compuestas por delgadas telitas cristalinas que es la porción comible, en su inicial periodo de desarrollo, y los esquejes o brotes florales en el segundo periodo.

La dimensión, matiz, aspecto y sapidez establecen las cualidades apetecibles de calidad de la cebolla; de esta forma, consideramos que la cebolla posee cuatro manifestaciones primordiales, la cebolla roja, la amarilla, la blanca y los cebollinos ^(18,19).

Composición química

El bulbo de la cebolla posee un aceite esencial rico en su composición de azufrados (bisulfuro de alilpropilo y alicina), fructosanos (10-40 %), flavonoides (quercetina, kampferol), aminoácidos, saponinas (aliofurósido A, aliospirósido A), azúcar, glucósidos cardiotónicos, taninos, ácido glicólico y difenilamina ^(20,21).

Propiedades Terapéuticas

Algunas investigaciones antibacterianas argumentan que la esencia acuosa y etanólica es inerte contra bacterias de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*; el zumo posee acción bacteriostática y algunos componentes aislados son bactericidas.

Las investigaciones sobre los efectos farmacológicos demuestran que los extractos crudos de la cebolla tienen actividad hipoglucémica en ratas y conejos; estudios con patrón de animales se evidencia que incrementa la presión sistólica y el flujo coronario, incita el músculo uterino e intestinal. La esencia alcohólica es diurética en ratas más no es hipotensor en ratas hipertensas. En indagaciones clínicas encontramos evidencias que manifiestan sus sensibilidades para curar enfermedades respiratorias (gripe, tuberculosis, pulmonías y cáncer). La administración por vía oral de preparados de alicina reduce la elevación de la glucosa en sujetos diabéticos ^(22,23).

Candida albicans

Es un tipo de hongo oportunista que se encuentra en los tracto gastroentérico y urogenital alrededor del 80 % de las personas, este hongo comprende el 90 % de las levaduras encontradas en la vagina y todas las mujeres padecen de infección por *Candida* por lo menos una vez en su vida. La patogenicidad de *C. albicans* depende del sistema inmune del portador, así como de la virulencia de este patógeno. Entre los factores que aumentan la patogenicidad de *C. albicans* se encuentra la productividad de adhesinas e invasinas, desencadenan la segregación de enzimas hidrolíticas, la transformación de levadura a hifa, exploración de conexión y tigmotropismo, creación de biopelícula, variación fenotípica y adecuación metabólica ⁽²⁴⁾.

C. albicans se halla como levadura, pseudohifas e hifas, las cuales en su totalidad son fundamentales para la virulencia. Las células de las levaduras son indispensables para la disgregación, entre tanto que las estructuras de hifas tienden a ser muy necesarias para invadir las cavidades de la mucosa. En los Estados Unidos el fácil acceso a medicamentos ha generado que un elevado número de mujeres se automediquen reiteradamente, originando elevado riesgo de resistencia antimicótica, principalmente a los azoles. Totalmente esto se ha transformado en un problema grave ya que genera un consumo de un billón de dólares anuales en tratamiento ^(24,25).

III. HIPÓTESIS

HIPÓTESIS NULA (H₀):

El aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) a diferentes concentraciones no presenta efecto antimicótico *in vitro* sobre cultivos de *Candida albicans*.

HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H_a):

El aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) a diferentes concentraciones presenta efecto antimicótico *in vitro* sobre cultivos de *Candida albicans*.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación.

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental y de enfoque cuantitativo observacional. Los grupos de tratamiento que se trabajaron fueron divididos en grupos de la siguiente manera:

Grupo blanco.

Estuvo formado por 05 placas Petri, que contenían como medio de cultivo Agar Sabouraud Medicado (SDA), posteriormente se realizó la inoculación de *Candida albicans* aislada en un laboratorio de apoyo; el cual se realizó a una concentración igual al tubo 0,5 de la turbidez de Mc Farland. Posteriormente se colocaron 05 discos conteniendo 20 µL de agua destilada, utilizando la técnica de Kirby – Bauer. Se incubó por 24 h. a una temperatura de 37 °C, luego se realizó la medida del halo de inhibición⁽²⁶⁾.

Grupo experimental 1.

Estuvo formado por 05 placas Petri, que contenían como medio de cultivo Agar Sabouraud Medicado (SDA), posteriormente se realizó la inoculación de *Candida albicans* aislada en un laboratorio de apoyo; el cual se realizó a una concentración igual al tubo 0,5 de la turbidez de Mc Farland. Posteriormente se colocaron 05 discos conteniendo 20 µL de aceite esencial de *Allium cepa* al 25 %, utilizando la técnica de Kirby – Bauer. Se incubó por 24 h. a una temperatura de 37 °C, luego se realizó la medida del halo de inhibición⁽²⁶⁾.

Grupo experimental 2.

Estuvo formado por 05 placas Petri, que contenían como medio de cultivo Agar Sabouraud Medicado (SDA), posteriormente se realizó la inoculación de *Candida albicans* aislada en un laboratorio de apoyo; el cual se realizó a una concentración igual al tubo 0,5 de la turbidez de Mc Farland. Posteriormente se colocaron 05 discos conteniendo 20 µL de aceite esencial de *Allium cepa* al 50 %, utilizando la técnica de Kirby – Bauer. Se incubó por 24 h. a una temperatura de 37 °C, luego se realizó la medida del halo de inhibición ⁽²⁶⁾.

Grupo experimental 3.

Estuvo formado por 05 placas Petri, que contenían como medio de cultivo Agar Sabouraud Medicado (SDA), posteriormente se realizó la inoculación de *Candida albicans* aislada en un laboratorio de apoyo; el cual se realizó a una concentración igual al tubo 0,5 de la turbidez de Mc Farland. Posteriormente se colocaron 05 discos conteniendo 20 µL de aceite esencial de *Allium cepa* al 75 %, utilizando la técnica de Kirby – Bauer. Se incubó por 24 h. a una temperatura de 37 °C, luego se realizó la medida del halo de inhibición ⁽²⁶⁾.

4.2. Población y muestra.

Población.

Estuvo formada por el bulbo de la cebolla *Allium cepa*, que se recolectó en el Distrito de Chongoyape Provincia de Chiclayo Departamento de Lambayeque.

Muestra vegetal.

Se utilizó frutos maduros y en buen estado de *Allium cepa* (cebolla).

Criterios de inclusión.

Se utilizó frutos de *Allium cepa* (cebolla) que tengan buen aspecto y color, frutos maduros de buen tamaño con un olor característico no putrefactos intactos cubiertos por su envoltura externa que protege de agentes contaminantes.

Criterios de exclusión.

Se rechazó tajantemente aquellos frutos demasiado jóvenes (pequeñas) o envejecidas con mal olor, asimismo aquellas que han estado expuestas a pesticidas u otros factores que podrían alterar la composición química de la misma y así puedan afectar su poder antimicótico.

Material biológico.

Cepas de cultivos de *Candida albicans*, que se obtuvo en un laboratorio microbiológico de apoyo.

4.3. Definición y operacionalización de las variables e indicadores

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escalas de medición
<p>Independiente</p> <p>Concentración del aceite esencial de <i>Allium cepa</i> (cebolla).</p>	<p>Los aceites esenciales son mensajeros químicos que las plantas aromáticas utilizan para interactuar con su entorno.</p>	<p>Se obtiene por extracción de arrastre de vapor del bulbo de <i>Allium cepa</i> (cebolla).</p>	<p>Concentración del aceite esencial expresado en: 25 % v/v 50 % v/v 75 % v/v</p>	<p>Variable Cuantitativa Nominal</p>
<p>Dependiente:</p> <p>Efecto Antimicótico en cultivos de <i>Candida albicans</i></p>	<p>Es el efecto logrado al inhibir el crecimiento de una determinada colonia del hongo por inhibición o por destrucción de las mismas.</p>	<p>Se calcula a partir de la medida de los halos de inhibición del crecimiento micótico alrededor de los discos conteniendo el aceite esencial.</p>	<p>Medición de los halos de inhibición en (mm)</p>	<p>Variable Cuantitativa de razón</p>

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Material vegetal.

Se obtuvo 10 Kg de bulbos de *Allium cepa* (cebolla) en el mercado zonal del Distrito de Chongoyape Provincia de Chiclayo Departamento Lambayeque. Certificados en el *Herbarium Truxillense* de la universidad nacional de Trujillo para su identificación y certificación. Estas fueron lavadas, secadas y almacenadas en un recipiente hasta su posterior uso.

Extracción de aceite esencial.

La extracción del aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) se realizó mediante la técnica de arrastre de vapor utilizando el equipo clevenger. Se utilizaron 10 Kg del bulbo de *Allium cepa* (cebolla), para lo cual se agregó al balón del equipo 100 g de bulbo de cebolla en trozos y se añadió un litro de agua destilada. Posteriormente se montó el equipo y se llevó a ebullición durante 4 horas, el vapor fue ascendiendo, y el aceite quedó atrapado en la bureta colectora, se recolecto un total de 2 mL de aceite esencial de *Allium cepa*, el cual se almacenó en un frasco ámbar pequeño y puesto en refrigeración hasta su posterior uso. Luego de la obtención del aceite esencial se prepararon 500 μ L a concentraciones de 25, 50 y 75 %, para ello se utilizó la relación v/v ^(27,28).

Las concentraciones del aceite esencial de *Allium cepa* al 25, 50 y 75 % se realizaron agregando 125, 250 y 375 μ L de aceite con una cantidad suficiente de Tween 80 hasta completar los 500 μ L.

Preparación del medio de cultivo.

Para el cultivo de hongos, se utilizó el medio de cultivo, Agar Sabouraud Dextrosa (Dextrosa 40 g, Peptona 10 g y Agar 15 g); Agua destilada 1000 ml y se ajusta a un

pH 5,6. Se emplea Cloranfenicol como inhibidor antibacteriano (10 ml de una solución de 500 mg de Cloranfenicol base en 100 ml de etanol) ⁽²⁶⁾.

Preparación del inóculo para *Candida albicans*:

Se preparó usando un asa bacteriológica, luego se transfirió estas colonias, en el cultivo se tocaron 4-5 colonias $\geq 1\text{mm}$ con un tiempo de incubación de 24 horas, no se utilizaron cultivos de más de 24 horas. Para el crecimiento del hongo se realizó un medio de cultivo de Agar Saboraund (SDA) en una placa.

Se incubó el cultivo a 35 °C- 37°C, se diluyó el cultivo en un tubo de solución salina estéril o caldo estéril , luego se obtuvo una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de Mc Farland. Se agitó y ajustó a una densidad óptica de 0,5 Mac Farland, añadiendo la cantidad necesaria de la solución salina; en la cual esta solución tuvo una concentración de $(1 \times 10^8 - 5 \times 10^8 \text{ UFC/mL})$ ⁽²⁷⁻²⁹⁾.

Siembra de la muestra.

Se utilizó un hisopo estéril, el cual se embebe en el tubo de cultivo preparado, para trasladar el inóculo de *Candida albicans*, y se procedió a sembrar en la superficie de la placa Petri que contenía agar Sabouraud. La siembra se hizo en 3 direcciones evitando el exceso; se esperó que la placa se secase y se procedió a colocar los discos en la superficie del agar utilizando pinzas estériles, se presionaron los discos suavemente sobre el medio de cultivo para asegurar la adherencia al medio y que el contacto sea uniforme. Luego se incubaron las placas con el sembrado inmediatamente a una temperatura de 35 °C – 37 °C; se realizó la lectura de los halos de inhibición a las 24 horas ⁽²⁹⁾.

Método de difusión de discos.

La evaluación de la actividad antimicrobiana se realizó mediante el ensayo Kirby – Bauer. Los discos empleados fueron impregnados de aceite esencial de *Allium cepa* en diferentes concentraciones luego se colocaron con una aguja estéril 5 discos por placa a una distancia establecida. Posteriormente se llevaron a incubación a 37 °C por 24 horas para *Candida albicans* ⁽²⁹⁾.

ESCALA DE DURAFFOURD

Escala utilizada para determinar el efecto inhibitorio in vitro, según diámetro de inhibición.

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

4.5. PLAN DE ANÁLISIS.

Para el análisis y tabulación de datos recolectados se utilizó el programa Excel[®] 2013 los cuales fueron procesados a través del paquete estadístico IBM-SPSS-versión 22.0 Microsoft Excel[®]. Donde se encuentran las pruebas estadísticas Tukey para dos grupos y el análisis de varianza Anova para la comparación de varios grupos (grado de confianza 95%- $\alpha \leq 0.5$). Los resultados que se obtuvieron de los grupos de estudios están presentados en tablas.

4.3.MATRÍZ DE CONSISTENCIA.

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo y Diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antimicótico <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Allium cepa</i> (cebolla) sobre cultivos de <i>Candida albicans</i>	¿El aceite esencial de <i>Allium cepa</i> (cebolla) posee efecto antimicótico sobre cultivos de <i>Candida albicans</i> ?	<p>Objetivo general</p> <p>Evaluar el efecto antimicótico <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Allium cepa</i> (cebolla) a concentraciones de 25, 50 y 75 % sobre cultivos de <i>Candida albicans</i>.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>Determinar a qué concentración el aceite esencial de <i>Allium cepa</i> (cebolla) presenta mayor efecto antimicótico sobre cultivos de <i>Candida albicans</i> a través de la medida de los halos de inhibición utilizando el método de difusión de discos.</p> <p>Determinar si existe diferencia significativa entre los tamaños de los halos de inhibición del aceite esencial de <i>Allium cepa</i> (cebolla) a concentraciones de 25, 50 y 75 % sobre los cultivos de <i>Candida albicans</i>.</p>	<p>Hipótesis alternativa (h₁)</p> <p>El aceite esencial de <i>Allium cepa</i> (cebolla) a diferentes concentraciones presenta efecto antimicótico <i>in vitro</i> sobre cultivos de <i>Candida albicans</i>.</p> <p>Hipótesis nula (h₀)</p> <p>El aceite esencial de <i>Allium cepa</i> (cebolla) a diferentes concentraciones no presenta efecto antimicótico <i>in vitro</i> sobre cultivos de <i>Candida albicans</i>.</p>	El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental y de enfoque cuantitativo observacional	<p>Dependiente</p> <p>Efecto Antimicótico</p> <p>Independiente</p> <p>Concentración del aceite esencial de <i>Allium cepa</i> (cebolla)</p>	<p>Se obtiene por extracción de arrastre de vapor del bulbo de <i>Allium cepa</i> (cebolla).</p> <p>Se calcula a partir de la medida de los halos de inhibición del crecimiento micótico alrededor de los discos conteniendo el aceite esencial.</p>	<p>Concentración del aceite esencial expresado en:</p> <p>25 % v/v</p> <p>50 % v/v</p> <p>75 % v/v</p> <p>Medición de los halos de inhibición en (mm)</p>	Pruebas paramétricas de ANOVA y Tukey para el análisis de resultados.

4.6. PRINCIPIOS ÉTICOS

El desarrollo del trabajo de esta investigación está basado en los principios éticos descritos en el código de ética para la investigación, versión 004 de la ULADECH ⁽³⁰⁾.

El cuidado del medio ambiente y el respeto a la biodiversidad es un principio en el cual toda investigación debe respetar la dignidad de los animales, el cuidado del medio ambiente y las plantas, por encima de los fines científicos; y se deben tomar medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos⁽³⁰⁾.

La integridad científica es un principio en el cual el investigador tiene que evitar el engaño en todos los aspectos de la investigación; evaluar y declarar los daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación.

Asimismo, el investigador debe proceder con rigor científico, asegurando la validez de sus métodos, fuentes y datos. Además, debe garantizar la veracidad en todo el proceso de investigación, desde la formulación, desarrollo, análisis y comunicación de los resultados ⁽³⁰⁾.

V. RESULTADOS

5.1. Resultados.

Tabla 1. Determinar a qué concentración el aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) presenta mayor efecto antimicótico sobre cultivos de *Candida albicans* a través de la medida de los halos de inhibición utilizando el método de difusión de discos.

Grupo de tratamiento	Promedio (mm)	Desviación Estándar	Escala de Duraffourd
Grupo control (Blanco)	6	0,07	Nula (-)
Aceite Esencial de <i>Allium cepa</i> al 25 %	9,8	0,7	Sensible (+)
Aceite Esencial de <i>Allium cepa</i> al 50 %	12,84	0,8	Sensible (+)
Aceite Esencial de <i>Allium cepa</i> al 75 %	17,08	0,8	Muy Sensible (++)

FUENTE: Paquete Estadístico SPSS 22.0, datos en la investigación.

Tabla 2. Determinar si existe diferencia significativa entre los tamaños de los halos de inhibición del aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) a concentración de 25, 50 y 75 % sobre los cultivos de *Candida albicans*.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre grupos	1651	3	550	1223,1926	0,0000
Dentro de los grupos	43	96	0,4500		
Total	1695	99			

TEST DE TUKEY

Treatments pair	Tukey HSD	Tukey HSD (p-value)	Tukey HSD significancia
Control (blanco) vs Aceite de <i>Allium cepa</i> al 25%	28,3235	0,0010053	** p<0,01
Control (blanco) vs Aceite de <i>Allium cepa</i> al 50%	50,9823	0,0010053	** p<0,01
Control (blanco) vs Aceite de <i>Allium cepa</i> al 75%	82,5854	0,0010053	** p<0,01
Aceite de <i>Allium cepa</i> al 25% vs Aceite de <i>Allium cepa</i> al 50%	22,6588	0,0010053	** p<0,01
Aceite de <i>Allium cepa</i> al 25% vs Aceite de <i>Allium cepa</i> al 75%	54,2619	0,0010053	** p<0,01
Aceite de <i>Allium cepa</i> al 50% vs Aceite de <i>Allium cepa</i> al 75%	31,6031	0,0010053	** p<0,01

FUENTE: Paquete Estadístico SPSS 22.0, datos en la investigación.

5.2. Análisis de resultados.

La actividad contra algunos microorganismos de diversos productos derivados de plantas medicinales tiene fundamento en la inhibición de diversos sistemas enzimáticos, como los encargados de la generación de energía, construcción de la pared celular y metabolismo; la acción en estos sitios produce la inactivación de la célula microbiana⁽¹⁶⁾.

En la tabla 1 observamos la tendencia de promedios de los halos de inhibición del aceite esencial de *Allium cepa* a concentraciones de 25, 50 y 75 % sobre *Candida albicans*; se aprecia una correlación lineal de aumento de inhibición conforme se aumenta la concentración del aceite esencial; para la concentración a 25 % de aceite esencial de cebolla se obtuvo un promedio de inhibición de $9,8 \pm 0,7$ mm, la concentración al 50 % de aceite esencial obtuvo un promedio de inhibición de $12,84 \pm 0,8$ mm, al 75 % de concentración el aceite esencial obtuvo un promedio de $17,08 \pm 0,8$ mm; todos los valores obtenidos de las distintas concentraciones del aceite esencial de *Allium cepa* son mayores que las obtenidas por el grupo control en el cual obtuvo un promedio de inhibición de 6 ± 0.1 mm de diámetro.

Al analizar los resultados según la escala de Duraffour encontramos que todas las concentraciones del aceite esencial de *Allium cepa* se clasificaron como sensibles, de las cuales la mejor actividad antimicótica la obtuvo el aceite esencial a concentración de 75 % con una clasificación de sensibilidad de (++) .

Esta tendencia es similar a la reportada por Ramos K. en su estudio con extracto acuoso de *Allium cepa* en la cual concluye que la actividad inhibitoria sobre cultivos de *E.coli* BLEE es dependiente de la concentración⁽¹¹⁾.

En la tabla 2, observamos el análisis estadístico de varianza de los promedios de los halos de inhibición en el cual encontramos una probabilidad menor a 0,05 por lo cual se aplicó el test de Tukey para determinar si existe diferencia significativa entre las distintas concentraciones de aceite esencial de *Allium cepa*; encontrado que si existe diferencias significativas ($p < 0,01$) entre todos los promedios de los halos de inhibición de los grupos experimentales.

Los datos obtenidos de las diferentes concentraciones son menores al valor del halo del fluconazol 150 μg reportado por Horna-Reategui T, et al., en el cual obtuvo un promedio de inhibición de 40 mm de diámetro; esto se debe a que la calidad del aceite esencial de cebolla puede ser afectado por diversos factores de conservación después de su extracción.

Allium cepa es una especie muy utilizada en el ámbito culinario en todo el mundo, tanto por sus propiedades medicinales como por su sabor; los compuestos activos presentes en esta especie actúan de manera sinérgica para producir diferentes efectos dependiendo de su preparación y extracción. Los efectos de *Allium cepa* se deben principalmente a la alicina, un tiosulfonato que puede inhibir los sistemas enzimáticos que presentan estructuras de naturaleza sulfhídrica de una gran variedad de microorganismos. Esto incluye a enzimas muy importantes para el desarrollo y funcionamiento de los agentes infecciosos, tales como: ureasa, colina esterase, hexocinasa, triosafotodeshidrogenasa, carboxilasas, adenosin trifosfatasa y β -amilasa⁽²¹⁾.

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó que el aceite esencial de *Allium cepa* posee efecto antimicótico *in vitro* sobre los cultivos de *Candida albicans* a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %.
- Se determinó la medida de los halos de inhibición del aceite esencial de *Allium cepa* a una concentración del 25 % sobre el cultivo de *Candida albicans*, obteniéndose un promedio de $9,8 \pm 0,7$ mm; a una concentración del 50 % se obtuvo un promedio de $12,84 \pm 0,8$ mm y a la concentración del 75 % del aceite esencial se obtuvo un promedio de $17,08 \pm 0,8$ mm de diámetro, siendo este el mayor valor encontrado y presentando una sensibilidad (++) según la escala de Duraffourd.
- Se determinó la diferencia significativa entre los grupos de estudio mediante la prueba ANOVA y el test de TUKEY con un $p < 0,01$.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- Se recomienda emplear concentraciones con porcentajes de 80%, y 100% de *Allium cepa* ya que mientras más elevado es el porcentaje de concentración, mayor será el efecto antimicótico.
- Se recomienda utilizar otros medios de extracción para evaluar el efecto del bulbo de *Allium cepa* sobre las cepas de *Candida albicans*.
- Se recomienda realizar estudios in vivo con la finalidad de valorar la efectividad y toxicidad que podrían producir los componentes activos del bulbo de *Allium cepa*.
- Se recomienda trabajar con otro tipo de hongos para determinar el efecto de la planta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Doi A, Campos A, Edmond M, Rodrigues A, Aranha L, Siqueira R, *et al.* Epidemiology and Microbiologic Characterization of Nosocomial Candidemia from a Brazilian National Surveillance Program. PLoS One. 2016; 11(1). [citado el 25 de Nov 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4726651/>
2. Lazo V, Hernández G, Méndez R. Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. Horiz. Med. [Internet]. 2018 Ene [citado 2021 Dic 11]; 18(1):75-85. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727558X2018000100011&lng=es.<http://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2018.v18n1.11>.
3. Bustamante B, Denning D, Campos P. Serious fungal infections in Peru. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017; 36(6):943-948. [citado el 13 de Dic 2019]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28188491/>
4. Moreno M, Moreno O. Características clínicas y epidemiológicas de la candidemia en pacientes de un hospital de tercer nivel del sur del Perú, 2011-2014. Acta méd. Perú [Internet]. 2017 Oct [citado 2020 May 11]; 34(4): 289-293. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172017000400006&lng=es.
5. Zurita S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. Rev. Perú. Med. Exp. Salud pública [Internet]. 2018 Ene [citado 2020 Feb 11]; 35(1): 126-131. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342018000100019&lng=es.<http://dx.doi.org/10.17843/rpmpesp.2018.351.3563>.

6. Gheno Y. La etnobotánica y la agrobiodiversidad como herramientas para la conservación y el manejo de recursos naturales [Tesis de título profesional] [México]: Universidad Autónoma del Estado de México; 2017. 63 p. [citado el 18 de Ene 2020]. Disponible en: <https://cdigital.uv.mx/handle/123456789/29736>
7. Solís P, Tapia L. Prácticas relacionadas con el uso de plantas medicinales en el trabajo de parto y puerperio puesto de salud Miramar Región la Libertad [Tesis de título profesional] [Trujillo]: Universidad Privada Antenor Orrego; 2015. 71 p. [citado el 20 de Ene 2020]. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-914078>
8. Arroyo A, Landín L, Alonso A, Sánchez M, Suárez G. Actividad inhibitoria de *Allium cepa* y *Allium sativum* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*. Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan. 2015; 3(5): 1045-1052. [citado el 22 Dic 2019]. Disponible en: <chromeextension://efaidnbmninnibpcjpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fwww.uv.mx%2Fvera-cruz%2Fvca366-agronegocios-sustentables%2Ffiles%2F2013%2F12%2FAjo-enterobacterias.pdf&clen=177045>
9. Nieto L, Gonzales W. Evaluación de la concentración mínima inhibitoria y letal de los extractos de cebolla roja (*Allium cepa* L) para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* [Tesis de Grado] [Colombia]: Universidad de Cartagena; 2010. 93 p. [citado 23 de Dic 2019]. Disponible en: <https://repositorio.unicartagena.edu.co/handle/11227/2751>

10. Camacho J. Actividad antibacteriana de *Allium cepa* (cebolla), sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* Y *Pseudomona aeruginosa* [Tesis de título profesional] [Chimbote]: Universidad San Pedro; 2016. 85 p. [citado el 8 de Ene 2020]. Disponible en: <http://repositorio.usanpedro.edu.pe/handle/USANPEDRO/771>
11. Ramos K. Efecto in-vitro del extracto acuoso de *Allium cepa* – “cebolla” sobre cultivos de *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) [Tesis de título profesional] [Chiclayo]: Universidad de San Martín de Porres. 2018; 26 p. [citado 16 Ene 2020]. Disponible en: http://chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Frepositorio.usmp.edu.pe%2Fbitstream%2Fhandle%2F20.500.12727%2F3211%2Framos_ckm.pdf%3Fsequence%3D3%26isAllowed%3Dy&clen=1122089
12. Arroyo A, Landín L, Alonso A, Sánchez M, Suárez G. Actividad inhibitoria de *Allium cepa* y *Allium sativum* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*. Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan. 2015; 3(5): 1045-1052. [citado el 22 Dic 2019]. Disponible en: <chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fwww.uv.mx%2Fveracruz%2Fvca366-agronegocios-sustentables%2Ffiles%2F2013%2F12%2FAjo-enterobacterias.pdf&clen=177045>

13. Figueroa J. Efecto Antibacteriano del extracto alcohólico de *Allium cepa*, sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* comparado con ciprofloxacino in vitro [Tesis de título profesional] [Trujillo]: Universidad Cesar Vallejo. 2019; 45 p. [citado el 22 Dic 2019]. Disponible en: <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/40286>
14. Bakht J, Khan S, Shafi M. In Vitro antimicrobial activity of *Allium cepa* (dry bulbs) against Gram positive and Gram negative bacteria and fungi. Pak. J. Pharm. Sci. 2016; 27(1):139-145. [citado el 22 Dic 2019]. Disponible en: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24374441/>
15. Zohril A, Abdel K, Saber S. Antibacterial, antidermatophytic and antitoxigenic activities of onion (*Allium cepa* L.) oil. Microbiol. Res. 1995; 150:167 -172. [Nigeria]. Delta State University. 2018. [citado el 10 de Ene 2020]. Disponible en: <http://www.tjps.pharm.chula.ac.th/ojs/index.php/tjps/article/download/809/207>
16. Ye L, Dai H, Hu L. Actividades antimicrobianas y antioxidantes del aceite esencial de cebolla (*Allium cepa* L.). Food control. 2013; 30(1):48–53. [citado el 14 Ene 2020]. Disponible en: <http://chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=http%3A%2F%2Frev.aetox.es%2Fwp%2Fwp-content%2Fuploads%2Fhemeroteca%2Fvol30-2%2F526-2063-2-PB.pdf&clen=1549977&chunk=true>
17. Vega M. Etnobotánica De La Amazonía Peruana. 1° Edición; Ecuador: Abya-Yala; 2001, pp. 80-83 [citado 12 de Oct 2018]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=qj6Do2Ci_0C&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false.

18. Quispe R. Evaluación del tiempo de conservación de variedades de cebolla (*Allium cepa* L.) en almacén con fines de exportación [Tesis de doctorado]. [La Paz]: Universidad Mayor de San Andres; 2010. 87 p. [citado el 20 de Oct 2019]. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/9826>
19. Vásquez E, Carruitero M. Efecto antifúngico in vitro del látex de *Croton lechleri* (sangre de grado) frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Pueblo Cont. Universidad Central del Ecuador; 2016; 27(1):89-94. [citado el 05 de Feb 2020]. Disponible en: <http://chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=http%3A%2F%2Fwww.dspace.uce.edu.ec%2Fbitstream%2F25000%2F16619%2F1%2FT-UCE-0015-ODO-042.pdf&cflen=4812555>
20. Ramos K. Efecto *in-vitro* del extracto acuoso de *Allium cepa* “cebolla” sobre cultivos de *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (blee) [Tesis de título profesional]. [Chiclayo]: Universidad de San Martín de Porres; 2018. 26 p. [citado el 25 de Oct 2019]. Disponible en: http://chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Frepositorio.usmp.edu.pe%2Fbitstream%2Fhandle%2F20.500.12727%2F3211%2FRamos_ckm.pdf%3Fsequence%3D3%26isAllowed%3Dy&cflen=1122089
21. Del Castillo M, Orihuela L. Actividad antibacteriana del extracto de *Allium cepa* L “cebolla” y *Allium sativum* frente a *Streptococcus pneumoniae* [Tesis de título profesional]. [Huancayo]: Universidad Peruana Los Andes; 2016. 17 p. [citado el 08 de Feb 2020]. Disponible en: <http://https://es.scribd.com/document/255400801/Revista-Cel-Castillo-y-Orihuela>

22. Ulloa L, Zavala F, Sisniegas M. Efecto citotóxico de Tartrazina en el índice mitótico de células meristemáticas de *Allium cepa*. Revista rebiol. Universidad Nacional de Trujillo. 2015; 35(1):43-48. [citado el 12 de Oct 2019]. Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbbiol/article/view/874>
23. Guadamuz G. Evaluación de la toxicidad del fungicida vondozeb 80WP, utilizando como bioindicadores *Allium cepa*, *Artemia salina* [Tesis de doctorado]. [Managua]: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; 2015. 153 p. [citado el 27 de Oct 2019]. Disponible en: <https://repositoriosiidca.csuca.org/Record/RepoUNANM1342>
24. Zegarra P. Efecto antimicótico *in vitro* del aceite esencial de hojas de *Schinus molle* L. frente a cepas de *Candida albicans* [Tesis de título profesional] [Trujillo]: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. 2018; 54 p. [citado el 04 de Nov 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/10565>
25. Adrianzen J, García V. Efecto *in vitro* de la miel de *Apis mellifera* frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans* [Tesis de título profesional] [Trujillo]: Universidad Nacional de Trujillo; 2017. 91 p. [citado el 06 de Nov 2019]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/8049>
26. Arroyo J. Efecto antimicótico del champú a base del extracto etanólico de cáscaras de *Solanum tuberosum* (PAPA) sobre *Candida albicans* [Tesis de título profesional] [Chimbote]: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2019. 50 p. [citado el 10 de Nov 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/14872>

27. Venegas E, Ruiz S, Gavidia J, Jara R, Uribe J, Curo Y, Rengifo R, Martínez J, Cuéllar A. Variability in the chemical composition of *Justicia pectoralis* jacq. (two varieties): essential oils in over several months. *Pharmacology Online*. 2018; 40(3):402-411. [citado el 16 de Mar 2020]. Disponible en: <https://www.cabdirect.org/globalhealth/abstract/20203425389>
28. León G, Osorio R, Martínez S. Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. *Revista Cubana de Farmacia*. 2015; 49(4):742-750. [citado el 10 de Mar 2020]. Disponible en: <http://chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=http%3A%2F%2Fscielo.sld.cu%2Fpdf%2Ffar%2Fv49n4%2Ffar14415.pdf&cien=105096&chunk=true>
29. Dionicio M. Efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* comparado con fluconazol, sobre *Candida albicans* ATCC 10231 [Tesis de título profesional] [Trujillo]: Universidad Cesar Vallejo; 2019. 46 p. [citado el 17 de Mar 2020]. Disponible en: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/35669>
30. Comité institucional de ética de investigación. Código de ética para la investigación versión 004. [Internet]. Chimbote: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2021 [citado 14 nov 2021]. Disponible en: <https://web2020.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2020/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v004.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Medidas de los halos de inhibición en milímetros de las diferentes concentraciones de aceite esencial de *Allium cepa* (cebolla) frente a *Candida albicans*

N° DE MUESTRA	GURUPO CONTROL	Aceite 25 %	Aceite 50 %	Aceite 75 %
MUESTRA 1	6	10	12	17
MUESTRA 2	6	10	13	16
MUESTRA 3	6	9	14	17
MUESTRA 4	6	10	12	18
MUESTRA 5	6	11	13	18
MUESTRA 6	6	9	13	16
MUESTRA 7	6	10	14	16
MUESTRA 8	6	10	13	17
MUESTRA 9	6	11	13	18
MUESTRA 10	6	9	12	17
MUESTRA 11	6	9	14	18
MUESTRA 12	6	9	13	16
MUESTRA 13	6	10	12	17
MUESTRA 14	6	10	12	16
MUESTRA 15	6	10	14	17
MUESTRA 16	6	9	13	18
MUESTRA 17	6	11	12	17
MUESTRA 18	6	9	12	18
MUESTRA 19	6	10	12	17
MUESTRA 20	6	9	14	18
MUESTRA 21	6	11	13	17
MUESTRA 22	6	9	12	18
MUESTRA 23	6	10	12	16
MUESTRA 24	6	10	13	18
MUESTRA 25	6	10	14	16
PROM	6	9.8	12.84	17.08
D.E	0.00	0.70710678	0.8	0.81240384

Anexo 2. Inoculación de *Candida albicans* procedente de un laboratorio de apoyo



Anexo 3. Colocación de discos que contienen 20 μ L del aceite esencial de *Allium cepa* a diferentes concentraciones en las placas Petri, después del sembrado de *Candida albicans* procedente de un laboratorio de apoyo y puesto a incubación a 35°C.



Anexo 4. Certificación de la planta de *Allium cepa* (cebolla).

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,
- **Superorden:** Liliales
- **Orden:** Asparagales
- **Familia:** Amaryllidaceae
- **Género:** *Allium*
- **Nombre científico:** *A. cepa* L.
- **Nombre común:** "cebolla"

Muestra alcanzada a este despacho por JHON GUSTAVO ALDUI MONTALVO, identificado con DNI: 46846981, con domicilio legal en Psje. Varsovia # 154, Las Esmeraldas, Trujillo. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización de la tesis, titulada: "Efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de *Allium cepa* "cebolla" sobre cultivos de *Candida albicans*".

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

Trujillo, 15 de noviembre del 2019



Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del HUT