FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

Efecto antimicótico del extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" sobre cepas de *Candida albicans* comparado con nistatina, in vitro"

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE: Médico Cirujano

AUTOR:

Francis Alberth Espinola Quipuzco (ORCID: 0000-0002-8734-6703)

ASESORES:

Dra. Evelyn Del Socorro Goicochea Rios (ORCID: 0000-0001-9994-9184)

Mg. Jaime Abelardo Polo Gamboa (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades infecciosas y transmisibles

TRUJILLO - PERÚ

2019

DEDICATORIA

A DIOS:

Por permitirme cumplir con la meta de culminar esta hermosa profesión que me permitirá ayudar a mi prójimo y servir a mi comunidad.

A MIS PADRES:

Fabiola Quipuzco Anticona y Adriano Espinola Moya.

Por brindarme su amor incondicional, su apoyo en cada paso y el impulso para seguir adelante y ser una mejor persona cada día.

A MIS HERMANOS:

Jorge, Jordy y Patricia

Por ser un motivo para seguir cumpliendo mis metas profesionales y cada día ser mejor.

Al SEÑOR:

Alberto Vidal Benites

Por su apoyo incondicional en el cumplimiento de objetivos trazados.

Francis Alberth Espinola Quipuzco

AGRADECIMIENTO

A:

Dios, por darme la vida y la oportunidad para poder fortalecer e iluminar mi mente a cada momento durante el desarrollo de esta hermosa profesión. También por cuidar mi camino hace la excelencia.

Mi madre y padre por darme la vida, el amor puro e incondicional y la motivación necesaria para sobrepasar los obstáculos que se presentaron en el camino hacia el desarrollo de mis metas personales.

Mis hermanos, por el estar conmigo en todo este camino maravilloso para poder cumplir y desarrollar mis objetivos profesionales.

Todos mis amigos que me han ayudado y me han motivado en este camino hacia la excelencia.

PÁGINA DEL JURADO



PROGRAMA ACADÉMICO DE INVESTIGACIÓN

JORNADA DE INVESTIGACIÓN Nº 2

ACTA DE SUSTENTACIÓN

El Jurado encargado de evaluar el Trabajo de Investigación, PRESENTADO EN LA MODALIDAD DE: Desarrollo del Proyecto de Investigación.

Presentado por don (a)
Francis Alberth Espinala Quipozco
Cuyo Título es: Ejecto antimicático del extracto a cuaso de Allium. Sativum "cijo" sobre apas de Candida albicans comparado. con nistatino, in vitio
Reunido en la fecha, escuchó la presentación y la resolución de preguntas por el estudiante, otorgándol el calificativo de:
Trujillo de ottubu del 2019
PRESIDENTE SECRETARIO Gray MEDICO CIRUJANO CMY 33559
VOCAL

NOTA: En el caso de que haya nuevas observaciones en el informe, el estudiante debe levantar las observaciones para dar el pase a Resolución.

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD



ANEXO 02

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

yo, Francis	Alberth	Epinala (Surposus	estudiante	de la e	escuela
Profesional de	Medici	na	, C	le la Universi	dad César \	/allejo,
sede/filialIs	loh out win	ontmeta	CHOSO (to Alliva	Satiuum 'aj	o" sobre
presentada, en	ndida albreons	s characteral	obtencion	del grado	académico	/titulo
profesional de	Medius	chuja no	******************		es de mi a	utoría.

Por lo tanto, declaro lo siguiente:

- todas las fuentes empleadas en el presente trabajo de investigación identificando correctamente toda cita textual o de paráfrasis proveniente de otras fuentes, de acuerdo establecido por las normas de elaboración de trabajo académico.
- No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquellas expresadamente señaladas en este trabajo.

Este trabajo de investigación no ha sido previamente presentado completa ni parcialmente para la obtención de otro grado académico o título profesional.

Soy consciente de que mi trabajo puede ser revisado electrónicamente en búsqueda de plagios.

De encontrar uso de material intelectual ajeno sin el debido reconocimiento de su fuente o autor, me someto a las sanciones que determinan el procedimiento disciplinario.

Lugary fecha: Trujill 14 de octubre del 2019

Nombres y Apellidos Francis Alberth Epirolo Quipuyo

DNI: 46214517

CAMPUS TRUJILLO

Av. Largo 1770. Tel.: (044) 485 000, Anx., 7000.

Fax: [044] 485 919.

fb/ucy peru @ucv_peru #saliradelante **PRESENTACIÓN**

Señores miembros del jurado:

Ante ustedes presenta la tesis titulada: "Efecto antimicótico del extracto acuoso de

Allium sativum "ajo" sobre cepas de Candida albicans comparado con nistatina, in

vitro" con la finalidad de evaluar el efecto antimicótico del extracto acuoso de Allium

sativum "ajo" sobre cepas de Candida albicans comparado con nistatina, in vitro; en

cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo para

obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

Esperando cumplir con los requisitos de aprobación.

Francis Alberth Espinola Quipuzco

νi

ÍNDICE

Dedic	atoria	ii
Agrac	lecimiento	iii
Págin	a del jurado	iv
Decla	ratoria de autenticidad	v
Prese	ntación	v i
Índice	>	vi
Resur	nen	viii
Abstr	act	ix
I. I	NTRODUCCIÓN	1
1.1	Realidad problemática	1
1.2	Trabajos previos	2
1.3	Teorías relacionadas al tema	5
1.4	Formulación del problema	6
1.5	Justificación del estudio	6
1.6	Hipótesis	7
1.7	Objetivos	7
1	1.7.1 Objetivo general	7
1	1.7.2 Objetivo específico	7
II M	ІЕ́ТОDO	8
2.1	Diseño de investigación y tipo de investigación:	8
2.2	Variables y operacionalización	8
2.3	Población y muestra	9
2.4	Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	11
2.5	Métodos de análisis de datos	13
2.6	Aspectos éticos	13
III.	RESULTADOS	13
IV. D	ISCUSIÓN	16
v. co	ONCLUSIONES	18
VI.	RECOMENDACIONES	19
VII.	REFERENCIAS	20
VIII.	ANEXOS	22

RESUMEN

El objetivo fue determinar el efecto antimicótico del extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" sobre cepas de *Candida albicans* comparado con nistatina, in vitro. Se utilizó el diseño experimental y se evaluaron 10 repeticiones del extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" al 25%, 50%, 75%, 100% y el medicamento nistatina frente a cepas de *Candida albicans* mediante el método Kirby-Bauer. Resultados: Se evidencia el efecto antimicótico de nistatina a las 48 horas obteniendo un halo inhibitorio de 16.6 mm \pm 0.77. Los extractos acuosos de *Allium sativum* "ajo" al 25%, 50%, 75% y 100 a las 48 horas tambien obtuvieron el efecto antimicótico con halos inhibitorios de 12.1 \pm 0.86, 21.2 mm \pm 1.68, 24.6 mm \pm 0.69, 34.2mm \pm 1.93; respectivamente. Conclusiones: Los extractos acuosos de *Allium sativum* "ajo" con mayores efectos antimicóticos comparado con nistatina son a las concentraciones mayores a 50% evidenciándose halos inhibitorios de diámetros muy superiores al medicamento.

Palabras clave: efecto antimicótico, extracto acuoso, Allium sativum, Candida albicans.

ABSTRACT

The objective was to determine the antifungal effect of *Allium sativum* "garlic" aqueous extract on strains of *Candida albicans* compared to nystatin. This was an in vitro study using an experimental design. 10 repeats of *Allium sativum* "garlic" aqueous extract at 25%, 50%, 75%, 100% and the nystatin drug were tested against *Candida albicans* strains using the Kirby-Bauer method. Results: after 48 hours, the antifungal effect of nystatin is proved obtaining a zone of inhibition of 16.6 mm \pm 0.77. *Allium sativum* "garlic" aqueous extracts at 25%, 50%, 75% and 100% after 48 hours also obtained the antifungal effect with zones of inhibition of 12.1 ± 0.86 , $21.2 \text{ mm} \pm 1.68$, $24.6 \text{ mm} \pm 0.69$ and $34.2 \text{mm} \pm 1.93$ respectively. Conclusions: concentrations over 50% of *Allium sativum* "garlic" aqueous extracts presented greater antifungal effects compared to nystatin showing zones of inhibition of diameters much larger than the drug.

Keywords: Antifungal effect, aqueous extract, Allium sativum, Candida albicans.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 REALIDAD PROBLEMÁTICA

Candida, es un género de hongos que está comprendido por levaduras que son constituyentes de la flora humana normal y se encuentran como comensales en el sistema gastrointestinal, aparato reproductor y piel. Estos microorganismos pueden ser encontrados en la cavidad oral en un 20 – 80% de adultos sin manifestación de enfermedad.¹

Un desequilibrio en la flora microbiana puede dar oportunidad para el crecimiento de microorganismos oportunistas como las levaduras del género *Candida* y desarrollar una infección llamada candidiasis. La candidiasis es una infección cosmopolita y constituye el 7.45% dentro de todas las enfermedades fúngicas, pero abarca 25% de las infecciones fúngicas superficiales. La infección comúnmente suele presentarse en recién nacidos, adultos mayores, pacientes inmunodeprimidos y pacientes que recibieron antibióticos o glucocorticoides por largo tiempo.^{2,3}

Candida albicans, la principal especie representativa de su género y frecuentemente causante de infección (90 - 100%), forma parte de la flora habitual del tubo digestivo, cavidad oral $(31 \ a \ 55\%)$, aparato reproductor femenino (13%) y piel periorificial en individuos sanos $(25 \ a \ 50\%)$.

En el Perú, *Candida albicans* es la especie más común aislada en un 40 a 60% de casos, aunque también hay evidencia de un incremento de casos de *Candida glabrata* y algunas especies de candida en pacientes con compromiso del sistema inmune. Podemos aislar *Candida albicans* en niños y adultos sanos en un 40 a 70 %, y con porcentajes más elevados se observa en niños con dientes cariados y adultos con dentadura postiza. Dicha colonización puede llevar a una infección oportunista con una tasa de infección en pacientes con VIH (90%), quimioterapia (50%) y radioterapia (70%).⁴

El tratamiento eficaz sólo en candidiasis del tubo digestivo es la nistatina. Este medicamento es un antibiótico antimicótico de aplicación tópica producido por *Streptomyces noursei*. Tiene una estructura poliénica poseyendo acción fungostática y fungicida. En el tracto gastrointestinal no se produce su absorción y es eliminado en las heces. Aunque las reacciones adversas suelen ser infrecuentes podrían presentarse: náuseas, vómitos y diarrea. Por la vía tópica ocasionalmente produce irritación.⁵

Allium sativum "ajo" originario de Asia y también cultivado en China, Egipto, Europa, México, Perú. Es utilizado en la medicina tradicional de distintos países por sus distintas propiedades como antibacteriano, antiparasitario, antiinflamatorio, antiviral, antimicótico y antihipertensivo. Presenta la allicina (dialil-ditiosulfinato), producida por la enzima allinasa, que tiene una especificidad antimicótica de amplio espectro.⁶

Actualmente, la dificultad para el acceso a medicamentos y la presentación de reacciones adversas a los medicamentos han llevado a la humanidad a buscar nuevamente la medicina tradicional; es así que las investigaciones sobre medicinas alternativas están destacando como propuestas del futuro para garantizar eficacia, seguridad y bajo costo. De esta manera, planteamos el siguiente problema:

¿Tiene efecto antimicótico el extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" sobre cepas de *Candida albicans* comparado con nistatina, in vitro?

1.2 TRABAJOS PREVIOS

Low C, et al⁷ (Malasia, 2008) realizaron el estudio experimental con la finalidad de determinar el efecto de transformación morfológica de *C. albicans frente* el extracto de *Allium sativum*. Se investigó si puede alterar el nivel de expresión genética de SIR2, un gen de control morfogenético y SAP4, un que codifica la aspartil proteinasa secretada. El estudio concluye que el ajo presenta componentes biactivos con la capacidad de suprimir la formación de hifas y afectar el nivel de expresión del gen SIR2.

Bakhshi M, et al⁸ (Irán, 2012) realizaron un estudio de tipo ensayo clínico aleatorizado con 40 personas con el diagnóstico de estomatitis protésica con la finalidad de comparar el efecto del extracto acuoso del ajo con la nistatina en la patología mencionada. Los resultados que fueron obtenidos se basaron en cambios en tamaño del eritema, los dos regímenes dieron lugar a una recuperación significativa (p<0.001). Por tanto, concluyeron que el ajo al presentar eficacia y menos toxicidad debería ser introducido en el tratamiento estándar de estomatitis protésica.

Mikaili P⁶, et al (Irán, 2013) realizaron el estudio de tipo metaanálisis con la finalidad de describir las propiedades terapéuticas y los principios activos de *Allium sativum* y *Allium hirtifolium*. En el trabajo describen que se observaron zonas altas de inhibición con extractos de etanol de A. sativum probados contra dermatofitos, saprofitos y especies de Candida aisladas de pacientes hospitalizados y también menciona que *Allium sativum* tiene efecto antimicótico por el principio activo Allicina con una actividad de amplio espectro contra aspergilos y *Candida albicans*.

Munayo E⁹, (Perú, 2013) realizó el estudio con *Allium sativum* en agentes patógenos habituales de la cavidad bucal (*C albicans*, *Capnocytophaga sputigena*, *S. mutans*) con el objetivo de encontrar el efecto antimicrobiano. Se determinó que el efecto antifúngico frente a *Candida albicans* fue mejor a la concentración 90 mg/mL (halo de 28mm) a comparación de 120 mg/mL (halo de 31mm) teniendo como control estándar al fluconazol de 2mg/mL (halo de 32mm).

Chavez Y¹⁰, (Perú, 2014) realizó el estudio de investigación experimental con la finalidad de determinar el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial de *Matricaria chamomilla L y Allium sativum*. El estudio describe que el aceite esencial de *Allium sativum* presenta una moderada actividad contra *C. albicans* con respecto a *Matricaria chamomilla* con una concentración mínima inhibitoria de 31.64 mg/mL y 0.7mg/mL, respectivamente.

Lora C, et al¹¹ (Perú, 2015) realizaron la investigación experimental con la finalidad de demostrar el efecto antifúngico in vitro del liofilizado de *Allium sativum* sobre *Candida albicans* y dermatofitos. Las cepas fueron sembradas en Agar Sabouraud y cultivadas en el laboratorio. Los métodos empleados fueron –Kirby – Bauer y de dilución en tubo. El resultado obtenido para *C. albicans* por el método de Kirby – Bauer fue una mayor de inhibición de 4000 a 5000 ug/mL y por el método de dilución en tubo una concentración mínima inhibitoria de 2500 Ug/mL y un efecto fungicida de 5000 ug/mL.

Abdollah S, et al¹² (New York, 2016) realizaron el estudio de tipo experimental con la finalidad de estudiar la respuesta y expresión de los genes de los especímenes *Allium sativum y A. hirtifolium* enfrentados contra *Candida albicas*. En el trabajo concluyeron que el extracto acuoso de *Allium sativum* presento efecto antimicótico sensible con un halo de inhibición de 17.12mm ± 0.08 .

Siriwatanametanon N, et al¹³ (Tailand, 2017) realizaron una investigación experimental con el objetivo de investigar el efecto bacteriano y antifúngico in vitro de 13 plantas medicinales tailandesas (entre ellas *Allium sativum*), se prepararon extractos metanólicos y utilizaron el método de difusión en disco de agar contra cepas de bacterias y contra cepas de hongos, entre ellos *C. Albicans*. Se concluyó que los extractos metanólicos de *Psidium guajava* (hojas) y *Allium sativum* (bulbos) presentan una mayor actividad contra *Candida tropicalis* (zona de inhibición de 17.4 mm) aunque también *Allium sativum* presento efecto en *Candida albicans* (zona de inhibición de 10.5 mm).

Mendoza A, et al¹⁴ (España, 2017); los autores realizaron el estudio con el objetivo de determinar el efecto antifúngico del aceite esencial de *A. Sativum* y fluconazol frente a cepas de Candida, entre ellas *C. albicans*, obtenidas de prótesis dentales, encontrando que dichas cepas de Candida fueron susceptibles al aceite de *A. Sativum*, mientras que el 4.2% fue resistente a fluconazol.

Navidshad B, et al¹⁵ (Irán, 2018); los autores realizaron el estudio de tipo metaanálisis con el objetivo de buscar una alternativa para patógenos resistentes a antibióticos que son usados usualmente. Los investigadores concluyen que *Allium sativum* presenta propiedades antibacterianas, antifúngicas y antiparasitarias debido a su composición química atribuyéndole dicho efecto al principio activo llamado Alicia.

Hernández D¹⁶, et al (Perú, 2018) realizaron el estudio de investigación con la finalidad de determinar el efecto antimicótico del percolado de *Allium sativum* frente Aspergillus fumitus. Se usó el método de Kirby-Bauer y el método de difusión en agar determinando que *Allium sativum* presenta efecto antimicótico en cepas de *Aspergillus fumigatus*.

1.3 TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

Las infecciones micóticas oportunistas invasivas se han asociado a una morbimortalidad excesiva por presentar una relación directa con el incremento de poblaciones en riesgo de contraer infecciones graves. Las poblaciones de riesgo alto son pacientes sometidos a trasplante de medula ósea y de sangre periférica, trasplantes de órganos sólidos y cirugía mayor y los pacientes con síndrome de insuficiencia adquirida (SIDA) o enfermedades neoplásicas, los sometidos a tratamiento inmunosupresor, los ancianos y los niños prematuros. Los microorganismos mejor conocidos de micosis oportunistas son *Candida albicans, Cryptococcus neoformans y Aspergillus fumigatus*.³

El género *Candida* tiene especies que se encuentran en el humano y otros animales de sangre caliente, así como también en ambientes naturales. Este género suele colonizar primariamente el aparato digestivo desde la cavidad oral hasta el ano, aunque también se viven en la piel, bajo las uñas, la vagina y la uretra como comensales. El agente principal y con mayor presencia en el desarrollo de enfermedad es la *C. albicans*.³

Candida albicans es una levadura que causa la enfermedad llamada candidiasis. Aunque se considera como una levadura, es dismórfico y puede formar un verdadero micelio. Las infecciones ocurren cuando se produce una sobre población del microorganismo debido a la eliminación de la flora bacteriana que compite con *Candida*. La enfermedad se puede manifestar de distintas formas: Por ejemplo: la candidiasis oral (placas blancas sobre la mucosa oral), vaginal (Prurito y secreción blanca) y sistémico (Suelen afectar al tracto digestivo, riñones, hígado y bazo).^{3,17}

El tratamiento a emplear en infecciones orales y vaginales es tópico con nistatina y clotrimazol, respectivamente. En la infección sistémica se usan antifúngico sistémicos como: Anfotericina B, flucitosina, Ketoconazol, Fluconazol e itraconazol debido a su eficacia.^{3,17}

El tratamiento eficaz sólo en candidiasis del tubo digestivo es la nistatina. Este medicamento es un antimicótico de aplicación tópica producido por *Streptomyces noursei*. Tiene una estructura poliénica poseyendo acción fungostática y fungicida. En el tracto gastrointestinal no se produce su absorción y es eliminado en las heces. Aunque las reacciones adversas suelen ser infrecuentes podrían presentarse: náuseas, vómitos y diarrea. Por la vía tópica ocasionalmente produce irritación.⁵

Ahora bien, en la actualidad se ha demostrado que los recursos vegetales se pueden emplear en el tratamiento de enfermedades micóticas generando una eficacia similar a la de los medicamentos usualmente usados, pero con un margen de seguridad elevado debido a la no presencia de reacciones adversas a los recursos vegetales. Existen estudios que nos indican que podemos usar a *Allium sativum* como alternativa antimicótica. *Allium sativum* "ajo" originario de Asia y también cultivado en China, Egipto, Europa, México, Perú. Es utilizado en la medicina tradicional de distintos países por sus distintas propiedades como antibacteriano, antiparasitario, antiinflamatorio, antiviral, antimicótico y antihipertensivo. Presenta la allicina (dialil-ditiosulfinato), producida por la enzima allinasa, que tiene una especificidad antimicótica de amplio espectro. 6

1.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Tiene efecto antimicótico el extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" sobre cepas de *Candida albicans* comparado con nistatina, in vitro?

1.5 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El proyecto a realizar consiste en preparar un extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" para comprobar su efecto antimicótico en cepas de *Candida albicans* y de esta manera comparar su efecto con la nistatina, medicamento de primera elección para candidiasis oral.

Se realizará porque en nuestro medio existe dificultad para el acceso a medicamentos y además algunos de estos presentan reacciones adversas, lo que ha llevado a la humanidad a buscar nuevamente la medicina tradicional; es así que las investigaciones sobre medicinas alternativas están destacando como propuestas del futuro para garantizar eficacia, seguridad y bajo costo.

La finalidad es comprobar la eficacia en vitro comparada con nistatina para así poder tener un precedente y en un futuro realizar una investigación in vivo para una candidiasis oral que es frecuente en pacientes inmunodeprimidos. Los beneficios podrían ser importantes porque me permitirían pensar en un extracto acuoso de *Allium sativum "ajo"*, fácil de elaborar, como una opción razonable y adecuada para el manejo de candidiasis oral en pacientes que optan por la medicina natural o que rechazan la medicina convencional.

1.6 HIPÓTESIS

H1: El extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" tiene efecto antimicótico sobre cepas de *Candida albicans* comparado con nistatina, in vitro.

H0: El extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" no tiene efecto antimicótico sobre cepas de *Candida albicans* comparado con nistatina, in vitro.

1.7 OBJETIVOS

1.7.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto antimicótico del extracto acuoso de Allium sativum "ajo" sobre cepas de Candida albicans comparado con nistatina, in vitro.

1.7.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Evaluar el efecto antimicótico del extracto acuoso de Allium sativum "ajo" a la concentración de 25%, 50%, 75% y 100% sobre cepas de Candida albicans, in vitro.
- Evaluar cuál es la concentración de mayor efecto antimicótico del extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" sobre cepas de *Candida albicans*, in vitro.
- Comparar el efecto antimicótico del extracto acuoso de Allium sativum "ajo"
 a diferentes concentraciones con la nistatina.

II.- MÉTODO

2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Básico

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

Experimental con post prueba donde hubo 4 grupos experimento y el control a los que se aplicó la sustancia antimicótica, los cuales se les asignó al azar.

G1	X1	01
G2	X2	01
G3	X3	01
G4	X4	01
G5	X5	01

Dónde:

X1 = Extracto acuoso de *Allium sativum* al 25 %

X2 = Extracto acuoso de *Allium sativum* al 50 %

X3 = Extracto acuoso de *Allium sativum* al 75 %

X4 = Extracto acuoso de *Allium sativum* al 100 %

X5 = Nistatina

01 = Medida de halo formado (zona de inhibición) a las 48hrs.

G = grupos

2.2 VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN

Identificación de variables

✓ **Variable independiente:** Extracto acuoso de *Allium sativum*

✓ Variable dependiente: Efecto antimicótico

Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	TIPO DE VARIABLE
VARIABLE INDEPENDI ENTE Extracto acuoso de Allium sativum	Sustancia obtenida por extracción del bulbo de <i>Allium Sativum</i> usando como solvente el agua.	Se obtuvo por el método de presión en frio, utilizando dimetilsulfóxido como solvente para obtener las siguientes concentraciones: • 25% • 50% • 75% • 100%	1. 2. 3. 4.	Cualitativo ordinal
VARIABLE DEPENDIEN TE Efecto antimicótico	Zona donde no hay crecimiento bacteriano mostrado en una placa de agar inoculada con Candida albicans. Es la potencia del antimicótico frente a un hongo.	Se medió mediante la prueba de difusión en agar según Kirby- Bauer. Sensible Intermedio Resistente	Diámetro del halo de inhibición promedio: ≥ 15 mm 10 – 14 mm 0 mm	Cualitativo ordinal

2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACION:

Cepas cultivadas de Candida albicans in vitro, en los laboratorios del Hospital Belén de Trujillo.

MUESTRA: 17

Se empleó la fórmula de diferencia de promedios para hallar el número de repeticiones necesarias que validen la investigación, como se indica:

$$n = 2 \frac{\left(Z_{\frac{\alpha}{2}} + Z_{\beta}\right)^2 S^2}{d^2}$$

Dónde:

$$Z_{\frac{\alpha}{2}} = 1.96^{-17}$$

$$Z_{\beta} = 1.64^{17}$$

 $\delta = Variación relativa de la diferencia (32.4 - 25.31)^{17}$

$$S^2 = 2.61^{17}$$

n = Número de repeticiones (9.64)

Para efectos de este trabajo se consideran 3 grupos con siembra de *C. albicans* para la evaluación y un grupo control con nistatina.

Grupo 1: 10 repeticiones en placas Petri utilizando extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" al 25 %.

Grupo 2: 10 repeticiones en placas Petri utilizando extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" al 50 %.

Grupo 3: 10 repeticiones en placas Petri utilizando acuoso de *Allium sativum* "ajo" al 75 %.

Grupo 4: 10 repeticiones en placas Petri utilizando extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" al 100 %.

Grupo 5: 10 repeticiones en placas Petri utilizando nistatina.

UNIDAD DE ANÁLISIS:

Cada placa Petri con la cepa de *Candida albicans* enfrentado con el extracto acuoso de *Allium sativum* o nistatina.

UNIDAD DE MUESTRA:

Cada repetición realizada en cada placa Petri con la cepa de Candida albicans.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de inclusión:

- Cultivos de Candida albicans en placas petri.
- Cultivos con el mismo periodo de encubación.

Criterios de exclusión:

• Cultivos contaminados por algún otro microorganismo.

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: Consistió en la observación directa del evento. El material biológico *Allium sativum* fue recolectado en el distrito de Sinsicap, provincia de Otuzco, y las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 fueron proporcionadas por el laboratorio del Hospital Belén de Trujillo.

INSTRUMENTO: Los datos fueron registrados de forma manual en una ficha elaborado por el investigador que contenía el registro de cada halo de inhibición para cada grupo de estudio basado en el manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antifúngica, la cual tiene la validez y confiabilidad por el Instituto Estándar de Clínica y Laboratorio (CLSI) M27-A2, que tiene como puntos de corte de sensibilidad (≥15mm), intermedio (10 a 14mm) y resistente (no formación de halo).

PROCEDIMIENTO: El bulbo de Allium sativum "ajo" fue recolectado en el distrito de Sinsicap, provincia de Otuzco, región La Libertad, luego se procesó en los laboratorios. La identificación de la especie botánica se realizó en el Herbarium Truxilence de la Universidad Nacional de Trujillo (HUT).

Los bulbos se recolectaron y remitieron al laboratorio, en donde se tomaron las medidas de bioseguridad, se acondicionaron y estabilizaron a temperatura ambiente. Una vez estabilizado se sometió a un proceso de reducción de partículas. Luego se trituró y se filtró hasta obtener una solución al 100% para luego diluir con el solvente dimetilsulfóxido y se obtuvo las concentraciones al 25%, 50% y al 75%.

Las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 fueron facilitadas por el laboratorio del Hospital Belén de Trujillo.

Para la preparación del inoculo se usó cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 que se multiplicaron en agar dextrosa Sabouraud. Se suspendió los microorganismos en solución salina 0.9% estéril y se ajustó la turbidez al equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland para *Candida albicans* y por cámara cuenta células, hasta obtener el inóculo deseado (1 x 10⁶ ufc/mL). Luego se procedió a inocular 1 mL de suspensión (1 x 106 ufc/mL) por cada 100 mL de medio de cultivo.

Para la prueba de susceptibilidad, se utilizó el método de Kirby y Bauer (difusión en agar). Por lo que se preparó 4 extractos acuosos de *Allium sativum* "ajo" a las concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%. Se utilizó discos de papel de filtro Whatman N°4, de 6mm de diámetro, los cuales fueron embebidos en las concentraciones mencionadas del extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo", luego con una aguja estéril se colocaron sobre los cultivos de *Candida albicans* en las placas petri previamente preparadas. Sobre cada placa petri se colocó los discos con las 4 concentraciones de extracto y 1 con nistatina. Posteriormente las placas se incubaron a 37° C en una estufa por 48 horas.

La lectura se realizó a las 48 horas luego de la inoculación. Se medió los halos de inhibición de cada concentración con una regla milimetrada para ser analizadas.

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

El instrumento tiene la validez y confiabilidad por el Instituto Estándar de Clínica y Laboratorio (CLSI) M27-A2^{19, 20, 21}.

2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

La información transcrita en la ficha de recolección de datos, se procesó en una base de datos de SPSS y se analizó mediante estadística descriptiva (tablas y gráficos) para el análisis estadístico inferencial se utilizará ANOVA para hallar la diferencia significativa y Tukey para hallar la concentración más adecuada, con un intervalo de confianza de 95% y un nivel de confianza de 0.05%.²²

2.6 ASPECTOS ÉTICOS

Por ser un proyecto de investigación in vitro requiere que el resultado sea declarado según lo obtenido sin realizar ninguna alteración en honor a la verdad y a la ética. El autor se compromete a informar los resultados sin manipulación alguna de los mismos.

III. RESULTADOS

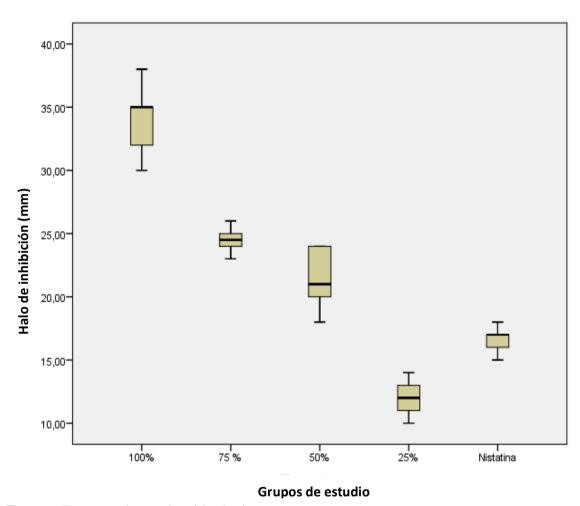
Tabla N°1. Efecto antimicótico del extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" a la concentración de 25%, 50%, 75% y 100% sobre cepas de *Candida albicans*, in vitro.

			Hale	os de inhibicio	ón (mm)	
Grupos de estudio	N					ntervalo de ara la media
3 5 333 25			Desviación	Error	Límite	Límite
		Media	estándar	estándar	inferior	superior
100%	10	34,2000	2,69979	,85375	32,2687	36,1313
75 %	10	24,6000	,96609	,30551	23,9089	25,2911
50%	10	21,2000	2,34758	,74237	19,5206	22,8794
25%	10	12,1000	1,19722	,37859	11,2436	12,9564
Nistatina	10	16,6000	1,07497	,33993	15,8310	17,3690
Total	50	21,7400	7,79537	1,10243	19,5246	23,9554

Fuente: Formato de recolección de datos.

Las concentraciones de extracto acuoso de *Allium sativum* presentan efecto antimicótico comparado con nistatina al 25%, 50%, 75% y 100% con halos inhibitorios de 12.1 ± 0.86 , 21.2 mm + 1.68, 24.6 mm + 0.69, 34.2 mm + 1.93, respectivamente.

Figura N°1. Actividad antimicótica de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" y de la Nistatina sobre cepas de *Candida albicans*, in vitro.



Fuente: Formato de recolección de datos.

Los extractos acuosos de *Allium sativum* a las concentraciones mayores a 50% tuvieron mejor efecto antimicótico que nistatina con halos de inhibición de 21.2 mm \pm 1.68 (50%), 24.6 mm \pm 0.69 (75%), 34.2mm \pm 1.93 (100%) comparado con nistatina que tuvo un halo de 16.6 mm \pm 0.77.

Tabla N°2. Prueba Tukey para la comparación del efecto antimicótico del extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" a diferentes concentraciones con la nistatina.

- I			Halos	s de inhibició	ón (mm)	
Grupos de estudio	N		Subcor	njunto para a	lfa = 0.05	
estudio		1	2	3	4	5
Nistatina	10		16,6000			
25%	10	12,1000				
50%	10			21,2000		
75 %	10				24,6000	
100%	10					34,2000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Fuente: Formato de recolección de datos.

El extracto acuoso de *Allium sativum* con mejor efecto antimicótico es a la concentración de 100% con un halo de inhibición de 34.2mm \pm 1.93 muy superior al de nistatina de 16.6 mm \pm 0.77.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

IV. DISCUSIÓN

La tabla N°1 muestra el efecto antimicótico dependiente de la concentración del extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" frente a cepas de *Candida albicans*, in vitro, evidenciándose dicho a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% con halos inhibitorios de 12.1 ± 0.86 , $21.2 \text{ mm} \pm 1.68$, $24.6 \text{ mm} \pm 0.69$, $34.2 \text{mm} \pm 1.93$; respectivamente.

Allium sativum es utilizado en la medicina tradicional en distintos países por sus propiedades antifúngicas y antibacterianas. Los compuestos en el ajo funcionan sinérgicamente para producir varios efectos, pero, debido a la complejidad química del ajo y los métodos de procesamiento producen preparaciones con diferente eficacia y seguridad. Aunque los tiosulfinatos como la alicina han sido malentendidos durante mucho tiempo como compuestos activos debido a su olor característico, no es necesario que las preparaciones de ajo contengan tales compuestos olorosos para que sean efectivos, pueden descomponerse y desaparecer durante cualquier procesamiento. Efectos adicionales pueden ser causados por S-alilcisteína, S-alil mercaptocisteína, saponinas y entre otras sustancias formadas durante un proceso de extracción. Aunque no se conocen todos los ingredientes activos del ajo, los componentes transitorios similares a la alicina no son directamente activos, una amplia investigación sugiere que una preparación de ajo sin alicina que está estandarizada con un componente biodisponible como la Salilcisteína, es activa y tiene varios efectos que se le puede atribuir. Además, varios componentes químicos en el ajo, incluidos los compuestos no azufrados como las saponinas, pueden contribuir a las actividades biológicas esenciales del ajo^{6,23}.

El estudio de tipo metaanálisis de Mikaili P⁶, et al (Irán, 2013) realizó el estudio con la finalidad de describir las propiedades terapéuticas y los principios activos de *Allium sativum y Allium hirtifolium*. En el trabajo describen que se observó zonas altas de inhibición con extractos de etanol de A. sativum probados contra dermatofitos, saprofitos y especies de Candida aisladas de pacientes hospitalizados y menciona que *Allium sativum* tiene efecto antimicótico por el principio activo Allicina con una actividad de amplio espectro contra aspergilos y *Candida albicans*.

Actualmente realizaron un metaanálisis, Navidshad B, et al¹⁵ (Irán, 2018), con el objetivo de buscar una alternativa para patógenos resistentes a antibióticos que son usados

usualmente. Los investigadores concluyen que *Allium sativum* presenta propiedades antibacterianas, antifúngicas y antiparasitarias debido a su composición química atribuyéndole dicho efecto al principio activo llamado Alicia.

En la figura N°1 muestra que el mayor efecto se presenta en la concentración al 100% del extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" frente a cepas de *Candida albicans*, por ende, de elección ante un tratamiento ideal. El halo de inhibición a la concentración de 100% fue de $34.2 \text{mm} \pm 1.93$ a comparación de nistatina que fue de $16.6 \text{mm} \pm 0.77$. Los resultados se correlacionan con el estudio Abdollah S, et al¹² (New York, 2016) en cuanto a manifestar que el extracto acuoso presenta un efecto antimicótico, así como tambien los extractos etanólicos y metanólicos. La discrepancia radica en que el estudio en mención reporta que el extracto acuoso a una concentración del 100% evidencia un halo de inhibición de 17.12mm ± 0.08 que no se ajusta a nuestra realidad donde se evidencio un halo de $34.2 \text{mm} \pm 1.93^{12}$.

Sin embargo, en nuestro medio el estudio de Munayo E⁹, (Perú, 2013) realizó el trabajo con *Allium sativum* en agentes patógenos habituales de la cavidad bucal (*C albicans*, *Capnocytophaga sputigena*, *S. mutans*) con el objetivo de encontrar el efecto antimicrobiano. Se determinó que el efecto antifúngico frente a *Candida albicans* fue mejor a la concentración 90 mg/mL (halo de 28mm) a comparación de 120 mg/mL (halo de 31mm). Los resultados de este autor se contrastan con los encontrados en la investigación realizada, lo que nos indica que los resultados podrían variar de acuerdo a la zona geográfica de recolección del espécimen^{6,9}.

En la tabla N°2 se compara las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" y el medicamento nistatina frente a cepas de *Candida albicans* evidenciándose que las concentraciones al 50%, 75% y 100% tienen un mayor efecto antimicótico.

En el estudio de de Munayo E⁹, (Perú, 2013) se aprecia también que el extracto etanólico también es concentración dependiente al igual que el extracto acuoso debido a que aumenta el halo inhibitorio a mayor concentración, pero con mejores respuestas como por ejemplo a concentración de 30 mg/mL, 60 mg/mL, 90 mg/mL y 120mg/mL forman un halo de 21mm, 24mm, 28mm y 31 mm; respectivamente⁹.

V. CONCLUSIONES

- 1. El efecto antimicótico del extracto acuoso de *Allium satuvum* "ajo" sobre cepas de *Candida albicans* se presenta a las concentraciones iguales y mayores de 25%.
- 2. Se evidenció que la concentración de mayor actividad antimicótica del extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo" sobre cepas *Candida albicans* fue al 100%.
- 3. Las concentraciones de extracto acuoso de *Allium sativum* a concentraciones iguales o mayores de 50% presentaron un efecto antimicótico superior a Nistatina.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar una comparación de *Allium sativum* "ajo" proveniente de diferentes regiones del país para valorar su efectividad según la localización del espécimen vegetal.
- Realizar comparaciones de extracto acuoso de Allium sativum "ajo" con otros medicamentos antifúngicos y otros patógenos.

VII.REFERENCIAS

- 1. Chaves G, Diniz M, Da Silva-rocha W, De Souza L, Ferreira C, Milan E. Species distribution and virulence factors of candida spp. isolated from the oral cavity of kidney transplant recipients in Brazil. Mycopathologia. 2013;175(4):255-63.
- **2.** Kasper S, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J. Harrison Principios De Medicina Interna. 19° ed. México: MCGRAW-HILL INTERAMERICANA; 2016. 351p.
- **3.** Arenas R. Micología Médica Ilustrada. 3° ed. México: MCGRAW HILL INTERAMERICANA; 2008. 220p.
- **4.** DIGEMID. INFORME ETES. 2015
- **5.** Flores J, Armijo J, Mediavilla A. Farmacologia Humana. 6° ed. España: Elsiever Masson; 2014. 1060p.
- **6.** Mikaili P, Maadirad S, Moloudizargari M, Aghajanshakeri S, Sarahroodi S. Therapeutic uses and pharmacological properties of garlic, shallot, and their biologically active compounds. IJBMS. 2013;16(10):1031-1048.
- 7. Low C, Chong P, Yong P, Lim C, Ahmad Z, Othman F. Inhibition of hyphae formation and SIR2 expression in Candida albicans treated with fresh Allium sativum (garlic) extract. J Appl Microbiol. 2008; 105(6): 2169-77.
- **8.** Bakhshi M, Taheri J, Shabestari S, Tanik A, Pahlevan R. Comparison of therapeutic effect of aqueous extract of garlic and nystatin mouthwash in denture stomatitis. Gerodontology. 2012; 29 (2): 680-4
- Munayo E. Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal. Odontol. Sanmarquina. 2013; 16(2): 21 24.
- 10. Chavez Y. Evaluación de la actividad antimicótica in vitro del aceite esencial de manzanilla "Matricaria chamomilla L." y ajo "Allium sativum" frente a Candida albicans ATCC 10231 en Arequipa 2013. Renati. 2014.
- 11. Lora C, Luján M, Robles H, Saravia V, Cabeza J. Efecto in vitro de diferentes concentraciones de Allium sativum "ajo" frente a dermatofitos y Candida albicans. UCV Scientia. 2015; 2(2): 23-33
- **12.** Abdollah S, Alireza K, Fahimeh A. Quorum-Sensing Quenching Compounds Allium sativum, Allium hirtifolium and Allium cepa: The Probable Quorum-

- Sensing Quenching Compounds against Candida albicans. BBRA. 2016; 13(3): 1457-1468.
- **13.** Siriwatanametanon N, Dodgson W, Dodgson J. Investigation of Antimicrobial Activity of 13 Thai Medicinal Plants against Bacteria and Fungi. J Pure Appl Microbio. 2017; 11(3): 1351-1356.
- **14.** Mendoza A, Aranda S, Bermeo J, Gómez A, Pozos A, Sánchez L. The essential oil of Allium sativum as an alternative agent against Candida isolated from dental prostheses. Rev Iberoam Micol. 2017; 34(3): 158-164.
- **15.** Navidshad B, Darabighane B, Malecky M. Garlic: An Alternative to Antibiotics in Poultry Production, A Review. IJAS. 2018; 8(1): 9-17
- **16.** Hernández D, Rubio A. Efecto antimicótico del percolado de Allium sativum "ajo" in vitro, en cepas del género Aspergillus fumigatus. Renati. 2018.
- **17.** Harvey R. Microbiología. 2° ed. España: Lippincott Williams & Wilkins; 2008. 387p
- **18.** Panchi L. Efecto antimicrobiano de los extractos de las hojas de tomillo (thymus vulgaris) y de las pepas de ajo (allium sativum) sobre las cepas de enterococcus faecalis. estudio in vitro. REPOSITORIO DIGITAL; 2016.
- **19.** Clinical And Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. NCCLS. 2002; 22(15): 1-29
- **20.** Arikan S, Ostrosky L, Lozano M, Paetznick V, Gordon D, Wallace T, Rex J. In Vitro Activity of Nystatin Compared with Those of Liposomal Nystatin,
- **21.** Amphotericin B, and Fluconazole against Clinical Candida Isolates. JCM. 2002; 40(4): 1406-1412
- 22. Boqué R. El análisis de Varianza. UOC. 2011; 14: 1 -23
- **23.** Harunobu A. Clarifying the Real Bioactive Constituents of Garlicl. NAD. 2006; 136 (3): 716 725.

VIII. ANEXOS

ANEXO: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

	TAMAÑO DE HALO (mm)				
Grupos]	Extracto acuoso o	de <i>Allium sativum</i>		
	Concentración 25%	Concentración 50%	Concentración 75%	Concentración 100%	Nistatina
Muestra 1	13	24	24	35	17
Muestra 2	12	20	26	38	15
Muestra 3	13	22	25	35	15
Muestra 4	11	18	24	30	17
Muestra 5	12	20	24	35	16
Muestra 6	14	18	23	35	17
Muestra 7	12	24	25	30	17
Muestra 8	10	20	25	32	18
Muestra 9	11	22	24	35	18
Muestra 10	13	24	26	37	16

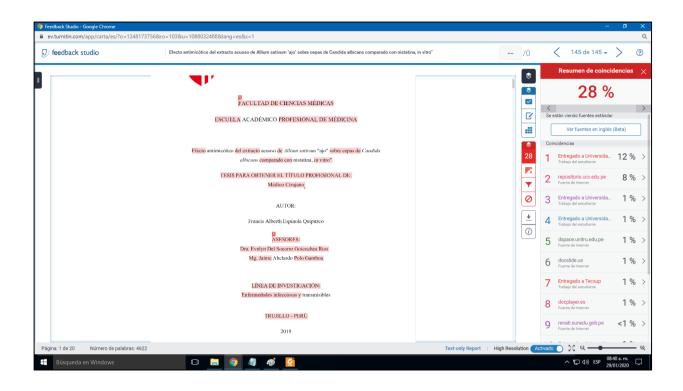
ANEXO: CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA

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: Lilianae Orden: Asparagales Familia: Amaryllidaceae Género: Allium Especie: A. sativum L. Nombre común: "ajo"
Muestra alcanzada a este despacho por FRANCIS ALBERTH ESPINOLA QUIPUZCO, identificada con DNI: 46214517, con domicilio legal en Jr. Callasuyo 575, El Porvenir, Trujillo. Estudiante de la Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina de la Universidad César Vallejo (UCV), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: "Efecto antimicótico del extracto acuoso de <i>Allium sativum</i> "ajo" sobre cepas de <i>Candida albicans</i> comparado con Nistatina, in vitro" Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que
hubiera lugar.
Dr. JOSE MOSTACERO LEON Director del Herbario HUT

ANEXO: ACTA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD DE TESIS

UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	
ANEXO 01	
ACTA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD TRABAJO ACADÉMICO	
Yo, Evelin Del Socorro Golicichea Rios do la facultad de Ciencias de la Salay Escuela Profesional Medicina, de la uni César vallejo. Tanjullo (Precisar filial o sede). "Efecto antimicotico del extracto amoso de Allium se "go" sobre apos de Candida albicani comparado cera Nistatina, in vitro andida albicani comparado estudiante. Trandis Alberth Espinala Quipuzo ", del estudiante. Trandis Alberth Espinala Quipuzo (Verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin. (Vei tel la suscrito (a) analizó dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias deterno constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con normas para e citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.	(de la) e 28% in tiocho)
Lugar y fecha: Trujillo, 31 de enero del 2 Lugar y fecha: Trujillo, 31 de enero del 2 Firma ELEHNO JEL Socomo Goico Caras Paos Nombres y Apellidos del (de la) docente DNI: 1810413	2020
CAMPUS TRUJELO Av. Larco 1770.	fb/ocv.peru @ucv_peru aliradelante ucv.cou.pe

ANEXO: REPORTE DE ORIGINALIDAD POR EL SOFWARE TURNITIN



ANEXO: AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS EN REPOSITORIO

UCV UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS EN REPOSITORIO INSTITUCIONAL UCV	Código : F08-F Versión : 10 Fecha : 10-00 Página : 1 de	6-2019
Yo FRANCIS A	BERTY ESPINOLA QUIPUZOS	identificado con	DNI N°
la Universidad Césa pública de "Efecto antin satiuem" gi en el Repositorio Ins	r Vallejo, autorizo (*), No autorizo (*) la divi mi trabajo de inves- nicótico del extracto acuaso del extracto acuaso si sobre apas de candida albicans c stitucional de la UCV (http://repositorio.ucv.edu ativo 822, Ley sobre Derecho de Autor, Art. 23	nlgación y comu stigación deAllium. omparadoco .pe/), según lo es	nicación titulado nistatía
Fundamentación en	caso de no autorización:		
A DIRA	14		
HC HRN	4513		
DNV 462	4517		
FIRM DNI 62	15 de dickembre del 2019.		
DNU 462 FECHA:	15 de distemble del 20 29 .		
DNU 462 FECHA:	15 de dichembre del 20 2.9 .		
DNU 462 FECHA:	15 de dickembie del 2029.		
DNU 462 FECHA:	15 de dickembre del 2029.		
	15 dedickemble del 2019.	Aprobó	Rectorado