

## Efecto del extracto de ajo (*Allium sativum*) en el control de los tres principales agentes infecciosos de la mastitis bovina

### Effect of garlic (*Allium sativum*) extract on the control of the three main infectious agents of bovine mastitis

### Efeito do extracto de alho (*Allium sativum*) no controlo dos três principais agentes infecciosos da mastite bovina

Chumbe Valqui Wuilder Pablo<sup>1</sup>, Reiner Pedro Gabriel Reátegui Inga<sup>2</sup>

#### RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antibacteriano del extracto de ajo (*Allium sativum*) en el control de los tres principales agentes de la mastitis bovina, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*. Las concentraciones usadas fueron 0%, 20%, 40% y 60% de extracto de ajo (EA) en agua destilada. Se utilizó leche con signos de mastitis, se eliminó el sobrenadante de la muestra, para obtener el concentrado de bacterias para luego realizar la siembra en los medios de cultivo: Mac Konkey, Manitol Salado y Agar Sangre; se incubó por 24 horas a 37°C. Posteriormente se sembró para el diferencial de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*. El efecto antibacteriano más eficiente para *Escherichia coli* y *Streptococcus agalactiae* fue la concentración de 60%, mientras que para el *Staphylococcus aureus* fue de 40%. Así como el EA con las concentraciones de 40 y 60% demostraron ser efectivos en el control in vitro frente a los precursores de la mastitis bovina.

**Palabras claves:** Efecto antibacteriano, extracto de ajo, diámetro de halo, mastitis bovina.

#### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the antibacterial effect of garlic extract (*Allium sativum*) in the control of the three main agents of bovine mastitis, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. The concentrations used were 0%, 20%, 40% and 60% garlic extract (EA) in distilled water. Milk with signs of mastitis was used, the supernatant of the sample was eliminated to obtain the bacteria concentrate and then sowed in the culture media: Mac Konkey, Salted Mannitol and Blood Agar; it was incubated for 24 hours at 37°C. Subsequently, it was seeded for the differential of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. The most efficient antibacterial effect for *Escherichia coli* and *Streptococcus agalactiae* was the 60% concentration, while for *Staphylococcus aureus* it was 40%. As well as the EA with the concentrations of 40 and 60% proved to be effective in the in vitro control against bovine mastitis precursors.

**Keywords:** Antibacterial effect, garlic extract, halo diameter, bovine mastitis.

<sup>1</sup> Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; [op71993@hotmail.com](mailto:op71993@hotmail.com)

<sup>2</sup> Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios Ciudad Universitaria 2do. Piso Biblioteca Central, Madre de Dios, Perú; [zootec2005@hotmail.com](mailto:zootec2005@hotmail.com).

## RESUMO

O presente estudo avaliou o efeito antibacteriano do extrato de alho (*Allium sativum*) no controle dos três principais agentes da mastite bovina, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*. As concentrações utilizadas foram 0%, 20%, 40% e 60% de extrato de alho (EA) em água destilada. Foi utilizado leite com sinais de mastite, o sobrenadante foi retirado da amostra para obter o concentrado bacteriano e semeado nos meios de cultura: Mac Konkey, Manitol de Sal e Agar de Sangue; foi incubado por 24 horas a 37°C. Posteriormente, foi semeado para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* diferencial. O efeito antibacteriano foi avaliado e a concentração mais eficiente para *Escherichia coli* e *Streptococcus agalactiae* foi de 60%, enquanto para *Staphylococcus aureus* foi de 40%. O efeito antibacteriano do alho pode ser devido a seus compostos químicos com propriedades bactericidas, sendo os principais a allixina, alicina, alliina, tiosulfonatos, tiosulfonatos e sulfuretos. Conclui-se que o EO em concentrações de 40 e 60% provou ser eficaz no controle in vitro de precursores de mastite bovina.

**Palavras-chave:** Efeito antibacteriano, extrato de alho, diâmetro do halo, mastite bovina.

## INTRODUCCIÓN

La producción de leche está integrada en la economía global ya que existen actualmente grandes exportaciones e importaciones y esto a su vez está en aumento, creando este ambiente amenazas y oportunidades para la competitividad de la producción lechera peruana (Gamarra, 2001). Sin embargo, la mastitis es la principal enfermedad en la producción lechera por lo que representa pérdidas económicas en grandes centros de producción (Bedolla, 2008).

Estas enfermedades pueden reducir o afectar la productividad al disminuir el rendimiento lechero, reducir la fertilidad en algunos casos, retrasa la llegada de la pubertad en algunos animales, puede afectar la calidad de la leche y reducir el nivel de conversión de los alimentos (FAO, 2019).

La medicina tradicional está basada en las plantas naturales, originalmente los únicos elementos curativos que conocía el hombre se han mantenido a través de la historia y sobre todo esto se da en zonas rurales remotas o entre minorías étnicas de la sociedad moderna, donde la medicina moderna actualmente aún sigue siendo desconocida en donde las plantas aun proporcionan las únicas medicinas (Medina, 2006); por el bajo costo y efectividad que representa las plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades, se ve como una alternativa para su uso en la actividad pecuaria. El ajo (*Allium sativum*) contiene alicina esto ha sido utilizado por diversas civilizaciones en la elaboración y en múltiples preparaciones medicinales antifúngica (Guillamón, 2018).

Los extractos de plantas del género *Allium sativum*, entre estos el ajo y la cebolla, forman de un importante grupo dentro de los ingredientes con posibles propiedades farmacológicas y/o terapéuticas debido a la composición química,

entre estos los principios activos que posee: organosulfurados, como tiosulfatos, tiosulfonatos y sulfuros, con capacidad para modificar la fisiología de los animales, desarrollando un efecto antimicrobiano en la prevención y tratamiento de distintas enfermedades (Ariza, 2015).

Con base en lo mencionado, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del extracto de ajo sobre el desarrollo in vitro de *Escherichia coli*, *Staphylococcus Aureus* y *Streptococcus Agalactiae*

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación geográfica

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domésticos (Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología) y en el Laboratorio de Microbiología (Facultad de Ingeniería Ciencias Agrarias), ambos laboratorios pertenecientes a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza (UNTRM), que se encuentra ubicada en la Región de Amazonas, Provincia de Chachapoyas, Distrito Chachapoyas con altitud de 2483 m.s.n.m a 6°13'00'' de latitud sur y latitud oeste de 77°51'00''.

El alcance de la investigación, fue experimental, donde la variable independiente fue el extracto de ajo (*Allium sativum*); la variable dependiente fue el control de agentes infecciosos (Tabla 1).

Para la obtención del extracto de ajo, se procedió a recolectar en el mercado local y pelados en una cantidad de 500 g.

Preparación de los tratamientos:

T1 = 0% EA (0 ml de extracto + 25 ml de agua destilada).

T2 = 20% EA (5 ml de extracto + 20 ml de agua destilada).

T3 = 40% EA (10 ml de extracto+ 15 ml de agua destilada).

T4 = 60% EA (15 ml de extracto+ 10 ml de agua destilada).

Las cepas bacterianas se utilizaron en el ensayo de la actividad antibacteriana (adquiridas de la leche de vacas que presenten mastitis clínica). Los métodos microbiológicos se realizaron mediante la preparación de los agares y medios de identificación bioquímica. El cultivo de microorganismos se empezó obteniendo y centrifugando la muestra de leche, posteriormente se eliminó el sobrenadante de la muestra, para obtener el concentrado de bacterias.

Para realizar la siembra en agar Mac Konkey, se dejó en incubación en un periodo de 24 horas a 37°C. mientras que para la identificación de la bacteria se preparó una suspensión de colonias para la inoculación en los medios de identificación bioquímica (TSI, LIA, CITRATO, SIM). Los medios fueron incubados en una estufa a 37 °C de 18 – 24 horas. La aplicación de concentrado de extracto de ajo fue mediante disoluciones extracto de ajo y agua destilada.

*Streptococcus agalactiae*: Cultivo e identificación de microorganismos, se empezó obteniendo y centrifugando la muestra de leche, posteriormente se eliminó el sobrenadante de la muestra, para obtener el concentrado de bacterias para luego realizar la siembra en Agar Sangre (incubadas en un periodo de 24 horas a 37°C). Después de 24 horas se observó el crecimiento de colonias blancas.

Para el análisis de datos se empleó el diseño completamente al azar (DCA), Para la comparación de medias se analizó mediante el modelo lineal tipo 1, para determinar si hay diferencias significativas se analizaron con la prueba de Tukey; con un nivel de significancia del 0.05. Los datos fueron analizados con el Software estadístico InfoStat/P versión 2018.

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se observa los resultados expresados en promedio de cada tratamiento, también se evidencia que no existe diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos T2, T3 y T4; mientras que para el tratamiento T1, si existe diferencias significativas. El diámetro del halo formado en cultivos de *Escherichia coli*, crece numéricamente de acuerdo va aumentando la concentración del extracto del ajo.

Tabla 2, se observa el efecto antibacteriano del extracto de ajo frente a *Staphylococcus aureus*, el cual no existe diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) entre los diámetros de halo de T1 y T2, comparando con el T3 y T4 se puede deducir que son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ). El diámetro del halo fue numéricamente mayor en el T3 con 23.25 mm.

**Tabla 1.** Diámetros de halos en *Escherichia coli* con diferentes concentraciones de extractos de ajo

Extracto de Ajo	Diámetro del halo (mm)				Promedio <sup>1</sup>
	R1 <sup>2</sup>	R2 <sup>3</sup>	R3 <sup>4</sup>	R4 <sup>5</sup>	
T1 (0%)	0.000	0.000	0.000	0.000	0,000 A
T2 (20%)	17.500	17.000	17.500	17.000	17.250 0.289 B
T3 (40%)	24.500	21.500	16.500	17.500	20.000 3.697 B
T4 (60%)	22.000	23.000	19.000	16.500	20.125 2.955 B

Letras diferentes dentro de la columna indica diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) 2; 3; 4 y 5 Repetición 1; 2; 3 y 4.

**Tabla 2.** Diámetro de halos en *Staphylococcus aureus* con diferentes concentraciones de extracto de ajo

Extracto de Ajo	Diámetro del halo (mm)				Promedio <sup>1</sup>
	R1 <sup>2</sup>	R2 <sup>3</sup>	R3 <sup>4</sup>	R4 <sup>5</sup>	
T1 (0%)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000 A
T2 (20%)	9.000	1.500	0.000	0.000	2.625 4.308 A
T3 (40%)	23.000	21.000	25.500	23.500	23.250 1.848 B
T4 (60%)	19.500	18.500	20.000	16.000	18.500 1.780 B

Letras diferentes dentro de la columna indica diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) 2; 3; 4 y 5 Repetición 1; 2; 3 y 4.

Tabla 3, se evidencia el efecto antibacteriano del extracto de ajo frente a *Streptococcus agalactiae* no existiendo diferencia estadística ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos T2, T3 y T4; mientras que con el T1 si existe frente a los otros tratamientos. Observándose

también que el diámetro del halo formado en cultivos de *Streptococcus agalactiae*, crece numéricamente de acuerdo va aumentando la concentración del extracto del ajo.

**Tabla 3.** Diámetro de halos en *Streptococcus agalactiae* con diferentes concentraciones de extracto de ajo

Extracto de Ajo	Diámetro del halo (mm)				Promedio
	R1 <sup>2</sup>	R2 <sup>3</sup>	R3 <sup>4</sup>	R4 <sup>5</sup>	
T1 (0%)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000 A
T2 (20%)	16.000	14.500	16.500	16.500	15.875 0.946 B
T3 (40%)	20.500	23.000	16.500	10.500	17.625 5.452 B
T4 (60%)	23.500	15.000	20.500	15.000	18.500 4.223 B

Letras diferentes dentro de la columna indica diferencia estadística ( $p < 0.05$ ); 2; 3; 4 y 5 Repetición 1; 2; 3 y 4.

## DISCUSIÓN

El efecto antibacteriano del extracto de ajo, pudo ocurrir por el tamaño del diámetro del halo, dado que va creciendo dimensionalmente de acuerdo que va aumentando la concentración del extracto de ajo de

20%, 40% y 60% (T2, T3 y T4; respectivamente), sin existir diferencia estadística entre estos tratamientos.

El mencionado efecto puede deberse a que el ajo posee compuestos azufrados (principios activos) como la alixina, alicina, aliina, ajo en, adenosina, alil metano tiosulfonato, dialil disulfuro, dialil trisulfuro, alil metil trisulfonato, S-alil mercaptocisteína, 2-vinil-4H-1,2-ditiina y 5-alilcisteína (Ramírez-Concepción, 2016); entre estos compuestos, la alicina ha demostrado que posee actividad antibacteriana frente a la *Escherichia coli* (Chalar, 2014).

La actividad antimicrobiana según Ghannoum, et al. (2004) se puede explicar a la presencia de la alicina o componentes derivados de esta ya que estos disminuyen la respiración de los microorganismos, reduciendo así el crecimiento del organismo e inhibiendo la síntesis de algunos componentes químicos (principalmente proteínas, ácidos nucleicos y lípidos), los cuales causan daños a las membranas, indicando también que un ajo sin estos químicos no mostró actividad antimicrobiana in vitro. Si comparamos el efecto antibacteriano del extracto de ajo con antibióticos sintéticos o comerciales como la cefixima, cefuroxima y nitrofurantoina los cuales tienen un alto efecto bacteriano frente a la *Escherichia coli* (García, 2017), los tamaños mínimos y máximos de halos que tuvieron los mencionados antibióticos, según MINSa (2002) fueron 23 a 27 mm (5 mg de cefixima); 20 a 26 mm (30 mg de cefuroxima) y 20 a 25 mm (300 mg de nitrofurantoina), respectivamente; para el caso de esta investigación se obtuvo un diámetro de halo en promedio de 20,125 mm (T4), comparándose su efecto con la cefuroxima y nitrofurantoina.

Los tratamientos T3 y T4 obtuvieron los diámetros de halos más grandes; 23,25 y 18,5 mm, respectivamente; estadísticamente iguales ( $p < 0,05$ ) entre ellos y diferentes a T1 y T2; el efecto antibacteriano frente al *Streptococcus agalactiae* que se observa más pronunciado en los T3 y T4 puede deberse a los aceites esenciales presentes en el

extracto de ajo, los mencionados componentes los podemos encontrar en el material vegetal como hierbas, flores, hojas, semillas, ramas, y cortezas, entre otros (Burt, 2004); Años recientes, los aceites esenciales (AE) están siendo usados como agentes antibacterianos (Carhuallanqui et al., 2020), concordando con Jaramillo et al. (2010) quienes indican que los efectos antibacterianos se deben principalmente a los compuestos químicos presentes en los AE; ante esto los aceites esenciales existen varios compuestos químicos con actividad antimicrobiana por lo tanto el efecto bactericida del extracto de ajo no puede ser atribuido a uno en específico si no a la acción combinada a más de uno las cuales actuarán sobre distintas partes de la célula microbiana. El modo de acción de los AE, según Holley Patel (2005) y Fisher Phillips (2008) es que estos ingresan al citoplasma de la bacteria, donde desnaturalizan las proteínas destruyendo la membrana celular, haciéndola más permeable, por lo que esta se rompe y genera la fuga del material del citoplasma, produciendo así la muerte de la bacteria.

Los AE del ajo está compuestos por sustancias azufradas (organosulfurados) (García, 2000), siendo estos compuestos tiosulfonatos, tiosulfonatos y sulfuros (Ariza, 2015). Bermúdez-Vásquez, (2019) afirman que las bacterias gram positivas en la mayoría de los casos son más sensibles a los efectos de los aceites esenciales que a las bacterias gram negativas ya que estas poseen en su membrana externa lipopolisacáridos los cuales restringen la difusión de compuestos hidrófobos.

El MINSa (2002) menciona que el diámetro del halo (untado con antibióticos sintéticos) de los el disco de sensibilidad para que el efecto sea catalogado como sensible para que contiene oxalicina (1µg) y trimetoprim/sulfametoxazol (1,25 y 23,75 µg, respectivamente) es de 13 y 16 mm, respectivamente, probados en *Staphylococcus* spp.,

si los comparamos con los datos obtenidos en la presente investigación, el T3 y T4 (23,25 y 18,5 mm, respectivamente) ambos superando a la oxalicina y a trimetoprim/sulfametoxazol.

Los tratamientos T2, T3 y T4 con 20; 40; y 60% de extracto de ajo respectivamente; no demostraron diferencia estadística, más si diferencia numérica, y según esto se puede interpretar que a mayor concentración de extracto de ajo existirá mayor diámetro de halo; este efecto puede deberse gracias a que el ajo usado en esta evaluación pasó por un proceso de extractado esto a que, según Greco,(2011) el ajo posee un químico llamado alicina que por acción de la enzima aliinasa se convierte en esencia del ajo y levulosa; la esencia del ajo demuestra efectos antimicrobiológicos in vitro (bactericida y fungicida principalmente. En otras investigaciones se demostraron que la alicina es un antimicrobiano, esto se debe a que el mencionado químico reacciona químicamente con los grupos tiol de las diferentes enzimas; como, por ejemplo, el alcohol deshidrogenasa, la tioredoxina reductasa y el ARN polimerasa, que pueden afectar el metabolismo esencial de la actividad proteinasa de la cisteína, implicada en la virulencia de los microorganismos (Chalar, 2014). Por su parte Juárez-Segovia, (2019), citado demostró que el extracto acuoso de ajo obtuvo un 95% de actividad fungicida, atribuyendo este efecto a que el extracto de ajo disminuye la respiración, reducen el crecimiento, dañan las membranas e inhiben la síntesis de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Ankri & Mirelman, 1999; Bender & Bárcenas, 2013). Acotando González, Guerra, Maza y Cruz (2014) indican que no solo la alicina tiene efectos bactericidas contra bacterias gram positivas y gram negativas, también contribuyen los ajoenos y el trisulfuro de dialilo.

## CONCLUSIONES

El extracto de ajo de 20; 40 y 60% demostraron ser considerablemente efectivos frente a la *Escherichia coli* con 17.25; 20 y 20.125 mm de diámetro de halo respectivamente. El extracto de ajo de 40 y 60% demostraron ser considerablemente efectivos frente a la *Staphylococcus aureus* con 23.25 y 18.5 mm de diámetro de halo respectivamente. El extracto de ajo de 40 y 60% demostraron ser considerablemente efectivos frente a la *Streptococcus agalactiae* con 17.25; 20 y 20.125 mm de diámetro de halo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ankri, S., & Mirelman, D. (1999). Antimicrobial Properties of Allicin from Garlic. *Microbes and Infection*, 2, 125–129.
- Ariza, J. (2015). Evaluación de compuestos organosulfurados de aliáceas en la mejora sanitaria y productiva de las gallinas. SECCIONESAVICOLAS. Recuperado de <https://seleccionesavicolas.com/avicultura/2015/12/Evaluacion-de-compuestos-organosulfurados-de-aliaceas-en-la-mejora-sanitaria-y-productiva-de-las-gallinas>
- Bender, D., & Bárcenas, M. E. (2013). El ajo y sus Aplicaciones en la Conservación de Alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 25–36.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
- Bedolla, C. C., & de León, M. P. (2008). Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *REDVET. Revista*

- electrónica de Veterinaria, 9(4), 1-26.
- Bermúdez-Vásquez, M. J., Granados-Chinchilla, F., & Molina, A. (2019). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Psidium guajava* y *Cymbopogon citratus*. *Agronomía Mesoamericana*, 30(1), 147-163.
- Córdova, M. de los Á. (2010). Extracción y Purificación de Alicina a partir de Ajo (*Allium sativum* L): Implicaciones Analíticas. Instituto Politécnico Nacional.
- Carhuallanqui Pérez, A., Salazar Salvatierra, M. E., & Ramos Delgado, D. (2020). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 22(1), 25-33.
- Chalar Vargas, L. R., Moya Mamani, J. C., Vargas Alvarez, E., Sejas Rebollo, M., & Romero, B. (2014). Función Antimicrobiana de la Alicina de Ajo en cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. *Revista científica ciencia médica*, 17(1), 26-28.
- FAO. (2019). Sanidad Animal. FAO. Recuperado de <http://www.fao.org/dairy-products/production/animal-health/es/>
- Fisher, K., Phillips, C. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends in Food Science & Technology*, 19(3), 156–164.
- Gamarra, R. (2001). Situación actual y perspectivas de la ganadería lechera en la cuenca de Lima. SCIELO. Recuperado de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172001000200002](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172001000200002)
- Ghannoum, M.A., Hossain, M.A., Long, L., Mohamed, S., Reyes, G., Mukherjee, P.K. (2004). Evaluation of antifungal efficacy in an optimized animal model of *Trichophyton mentagrophytes*-dermatophytosis. *J Chemother.* 2004; 16(2): 139-44.
- González, M., Guerra, G., Maza, C. y Cruz, A. (2014). Revisión bibliográfica sobre el uso terapéutico del ajo. *MEDIGRAPHIC*.
- Guillamón, E. (2018). Efecto de compuestos fitoquímicos del género *Allium* sobre el sistema inmune y la respuesta inflamatoria. *Ars*
- García Gómez, L. J., & Sánchez-Muniz, F. J. (2000). Revisión: Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(3), 219-229.
- García, A. F. J., & Gutiérrez, M. I. Z. (2017). Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0, 12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*. *Dominio de las Ciencias*, 3(1), 234-247.
- Greco, M. F. (2011). Estudio de procesos de deshidratación industrial de ajo con la finalidad de preservar alicina como principio bioactivo (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias).
- Holley, R. Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22(4), 273–292.
- Jaramillo, B. E., Duarte, E., Muñoz, K., & Stashenko, E. (2010). Composición química volátil del aceite esencial de *Croton malambo* H. Karst. colombiano y determinación de su actividad antioxidante. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(3), 133-142.

- Juárez-Segovia, K. G., Díaz-Darcía, E. J., Méndez-López, M. D., Pina-Canseco, M. S., Pérez-Santiago, A. D., & Sánchez-Medina, M. A. (2019). Efecto de extractos crudos de ajo (*Allium sativum*) sobre el desarrollo in vitro de *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus niger*. *Polibotánica*, (47), 99-111.
- Medina, A., & Mayca, J. (2006). Creencias y costumbres relacionadas con el embarazo, parto y puerperio en comunidades nativas Awajun y Wampis. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*, 23(1), 22-32.
- Ramírez-Concepción, H. R., Castro-Velasco, L. N., & Martínez-Santiago, E. (2016). Efectos terapéuticos del ajo (*Allium sativum*). *Revista Salud y Administración*, 3(8), 39-47.