

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

# ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Mangífera indica* L (MANGO DE LA REGIÓN) FRENTE A *Staphylococcus aureus*

# TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

#### **AUTORES**

Bach. MOREANO HUANUIRE DEINA LUZVITH

https://orcid.org/0009-0001-5662-4897

Bach, QUISPE BALTAZAR LIZETH

https://orcid.org/0009-0007-0596-3569

#### **ASESOR:**

M.Sc. VELARDE APAZA, LESLIE DIANA

https://orcid.org/0009-0001-5662-4897

Lima-Perú

2023

#### DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **DEINA LUZVITH MOREANO HUANUIRE**, con DNI **61944043**, en mi condición de autora de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título profesional de "Químico Farmacéutico", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO** que dicho documentado es ORIGINAL con un porcentaje de similitud **15%** y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 07 días del mes de junio del año 2023.

DEINA LUZVITH MOREANO HUANUIRE DNI 61944043 DRA. LESLIE DIANA VELARDE APAZA DNI 72476825

- 1. Apellidos y Nombres
- 2. DNI
- 3. Grado o título profesional
- 4. Título del trabajo de Investigación
- 5. Porcentaje de similitud

#### DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **LIZETH QUISPE BALTAZAR**, con DNI **70895475**, en mi condición de autora de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título profesional de "Químico Farmacéutico", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO** que dicho documentado es ORIGINAL con un porcentaje de similitud **15%** y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 07 días del mes de junio del año 2023.

LIZETH QUISPE BALTAZAR DNI 70895475 DRA. LESLIE DIANA VELARDE APAZA
DNI 72476825

- 1. Apellidos y Nombres
- 2. DNI
- 3. Grado o título profesional
- 4. Título del trabajo de Investigación

## Bach, MOREANO HUANUIRE DEINA LUZVITH Bach, QUISPE BALTAZAR LIZETH

INFORM	IE DE ORIGINALIDAD		
	5% 14% FUENTES DE INTERNET	3% PUBLICACIONES	6% TRABAJOS DEL ESTUDIANTE
FUENTE	ES PRIMARIAS		
1	repositorio.uma.edu.pe		3,
2	repositorio.uap.edu.pe		2,
3	revistas.unal.edu.co		2,
4	ojs.unemi.edu.ec		2,
5	sedici.unlp.edu.ar		1 %
6	repositorio.unfv.edu.pe	1	1 %
7	vsip.info Fuente de Internet		1 %
8	www.scielo.org.pe		1,

9	Submitted to BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA BIBLIOTECA Trabajo del estudiante	1%
10	Intra.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1 %
11	repository.unaula.edu.co:8080	1 %
12	www.who.int Fuente de Internet	1 %

#### **DEDICATORIA**

A Dios por ser la luz en mi camino, proporcionándome fortaleza.

A mi abuelito Juan Huanuire Econema QEPD.

A Segundo Moreano Huayhua y Madey Huanuire Mejia, mis progenitores por estar presentes en todo mi desarrollo profesional.

Deina Luzvith, Moreano Huanuire

A Dios por protegerme siempre.

A mi madre fallecida, Leonor Baltazar Lope que me protege desde el cielo, que me acompaña y me guía en este largo proceso de mi carrera profesional.

A mi padre por su apoyo constante, sin él no sería la persona que soy.

Lizeth, Quispe Baltazar

#### **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos a Dios, ser divino por darnos la vida, cuidarnos y guiarnos en nuestros pasos día a día.

A nuestros familiares por su apoyo incondicional, hemos podido lograr nuestros objetivos, ahora gracias a ellos estamos a un paso de convertirnos en lo que siempre soñamos, ser Químicos Farmacéuticos. Por ello les rendimos un especial homenaje esperando brindarles más alegría.

Deina y Lizeth

## **ÍNDICE GENERAL**

	Páginas
Resumen	Vİ
Abstract	viii
I. INTRODUCCIÓN	8
II. MATERIALES Y MÉTODOS	15
2.1 Enfoque y diseño de la investigación	15
2.2 Población, muestra y muestreo	16
2.3 Variables de investigación	16
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	17
2.5 Plan metodológico para la recolección de datos	17
2.6 Métodos de análisis estadístico	22
2.7 Aspectos éticos	23
III. RESULTADOS	24
IV. DISCUSIÓN	34
4.1 Discusión de resultados	34
4.2 Conclusiones	36
4.3 Recomendaciones	37
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXOS	45

## **ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de <i>Mangifera</i> indica L. (mango de la región)	24
<b>Tabla 2</b> . Resultados promedio de las mediciones de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de <i>Mangifera indica</i> L. (mango de la región)"	25
<b>Tabla 3.</b> Estadísticos descriptivos de la actividad antibacteriana del Extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L, frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	27
<b>Tabla 4.</b> Prueba de Normalidad de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L. (mango de la región) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	29
<b>Tabla 5.</b> Prueba de Homogeneidad de varianzas del extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L. (mango de la región) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta actividad antibacteriana frente a <i>Stafilococcus aureus</i> ATCC 25923	30
<b>Tabla 6.</b> Prueba de ANOVA de los halos obtenidos del extracto etanólico de hojas de <i>Mangìfera indica</i> L. (mango de la región) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	30
<b>Tabla 7.</b> Comparaciones múltiples de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L. (mango de la región) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	31
<b>Tabla 8.</b> Prueba de subconjuntos de Tukey para el extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L. (mango de la región) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	32

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la "actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de

Mangìfera indica L. (mango de la región) frente a Staphylococcus aureus."

Métodos: Investigación con enfoque cuantitativo, tipo explicativo de corte

transversal, diseño experimental. Se obtuvo el extracto de hojas de mango de la

región (Mangìfera indica L.) por maceración hidroalcohólica luego de la molienda

de la materia seca, al cual se efectuó la determinación fitoquimica para identificar

metabolitos secundarios. La actividad antimicrobiana fue evaluada mediante la

técnica de antibiograma en discos (Kirby Bauer), se utilizó agar de Mueller-Hinton

y la bacteria tipificada *Staphylococcus aureus* como muestra biológica, comparadas

con el agente antimicrobiano Ciprofloxacino.

**Resultados**: En el extracto etanólico de "hojas de *Mangìfera indica* L." (mango de

la región), se encontraron alcaloides en cantidad y moderada presencia de taninos,

flavonoides, antraquinonas y compuestos fenólicos; asimismo el extracto a diversas

concentraciones (25%, 50% y 75%) mostró un grado de sensibilidad baja como

acción antimicrobiana sobre Staphylococcus aureus ATCC 25923 por otro lado, el

antibiótico patrón Ciprofloxacino se mostró muy sensible con un rango de 28.60

mm.

Conclusión: El extracto etanólico de hojas de Mangifera indica L. (mango de la

región), muestra sensibilidad baja sobre cepas de Staphylococcus aureus ATCC

25923

Palabras clave: Extracto etanólico, Staphylococcus aureus, alcaloides, taninos.

ix

**ABSTRACT** 

Objective: To evaluate the "antimicrobial activity of the ethanolic extract of

Mangifera indica L. leaves (regional mango) against Staphylococcus aureus."

**Methods:** Research with a quantitative approach, explanatory type of cross section,

experimental design. The extract of mango leaves from the region (Mangìfera indica

L.) was obtained by hydroalcoholic maceration after grinding the dry matter, to which

phytochemical determination was carried out to identify secondary metabolites. The

antimicrobial activity was evaluated using the disk antibiogram technique (Kirby

Bauer), Mueller-Hinton agar and the Staphylococcus aureus typed bacterium were

used as a biological sample, compared with the antimicrobial agent Ciprofloxacin.

**Results:** In the ethanolic extract of "leaves of Mangifera indica L." (mango from the

region), alkaloids were found in quantity and a moderate presence of tannins,

flavonoids, anthraquinones and phenolic compounds; Likewise, the extract at

various concentrations (25%, 50% and 75%) showed a low degree of sensitivity as

an antimicrobial action on Staphylococcus aureus ATCC 25923. On the other hand,

the standard antibiotic Ciprofloxacin was very sensitive with a range of 28.60 mm.

**Conclusion:** The ethanolic extract of Mangifera indica L. leaves (regional mango)

shows low sensitivity on Staphylococcus aureus ATCC 25923 strains.

**Keywords:** Ethanolic extract, Staphylococcus aureus, alkaloids, tannins.

Χ

#### I. INTRODUCCIÓN

El fenómeno de la resistencia a los antimicrobianos es muy preocupante porque las infecciones por microorganismos resistentes pueden causar la muerte del paciente, transmitirse a otras personas y generar grandes costos para los pacientes y sociedad (1). La farmacorresistencia es el término más amplio para la resistencia de diferentes tipos de microorganismos abarca a los medicamentos antibacterianos, antiparasitarios, antivirales, y antimicóticos. (2).

De igual manera, se ve favorecida por el uso irracional de los medicamentos como, por ejemplo, automedicarse con antibióticos en infecciones virales como resfriado o gripe; los productos farmacéuticos de mala calidad, prescripciones erróneas y las deficiencias de prevención y control de las infecciones son otros factores que facilitan la aparición e incremento de la farmacorresistencia. La falta de empeño de gobiernos en la lucha contra estos problemas, las deficiencias de vigilancia y reducción del arsenal de instrumentos diagnósticos, terapéuticos y preventivos también dificultan su control (3).

Debido a esta emergencia de resistencia bacteriana se han generado nuevos intereses en búsqueda de productos con actividad farmacológica y un mayor poder antibacteriano, evidencia de ello el aumento, en los últimos años, de investigaciones relacionadas con productos naturales fisioterapéuticos con efectos antibacterianos (4).

Diversos estudios han demostrado que *Mangìfera indica L*. presenta diversas propiedades farmacológicas, se ha informado que posee diversas propiedades farmacológicas entre las cuales destacan la actividad antibacteriana, antiviral, analgésica, antiinflamatoria, propiedades diuréticas y cardiotónicas (5).

El mango, especie vegetal oriunda de India, que se adaptado bien a las condiciones, edafológicas, y climáticas de nuestro país. La "*Mangifera indica*" es una especie distribuida ampliamente en el Perú, según su taxonomía corresponde a la familia Anacardiáceas, se le conoce como especie vegetal alimenticia por sus

frutos y como especie vegetal en medicina tradicional por sus propiedades etnomédicas (6). Los extractos acuosos de las diferentes partes del mango de la región en fitoterapia (7) se basan en sus propiedades antinflamatorias, antiflogísticas, antioxidantes, espasmolíticas, inmunoestimulantes, dislipidémicas, antidiarreicos, antihelmínticas, antidiabéticos, antibacterianas (8). Análisis fitoquímicos realizados evidencian elevado contenido de polifenoles, destacando como compuesto mayoritario la Mangiferina (2-β-D-glucopiranosil-1, 3, 6,7-tetrahidroxixanten9-ona) (9) la cual es una glucosilxantona natural, se halla presente en diversas partes de *M. indica*: corteza, hojas, frutos, raíces y duramen. Investigaciones actuales muestran que la Mangiferina (10) posee un rango amplio de propiedades farmacológicas, dentro de ellas acciones antidiabéticas, hepatoprotectoras, antioxidantes, antitumorales, anticancerígenos, antivirales, (11) cardioprotectores y hipolipidémico (12).

De acuerdo a lo planteado formulamos la siguiente pregunta:

¿El extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) poseerá actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

La actividad antimicrobiana se puede definir como un término colectivo para todos los principios activos (agentes) que inhiben el crecimiento de bacterias, previenen la formación de colonias microbianas y pueden destruir microorganismos. Así mismo, la actividad antibacteriana de un agente se atribuye principalmente a dos mecanismos, que incluyen la interferencia química con la síntesis o función de los componentes vitales de las bacterias y/o eludir los mecanismos convencionales de resistencia antibacteriana (13).

Aunque los agentes antimicrobianos sintéticos ya han sido aprobados en muchos países, el uso de compuestos naturales derivados de microbios, animales o plantas atrae la atención de muchos investigadores (14). Estos compuestos han mostrado resultados prometedores para superar la aparición de resistencia a los antibióticos en patógenos bacterianos (15). Entre todas las opciones disponibles, los

compuestos derivados de plantas han mostrado más aplicaciones potenciales para combatir infecciones bacterianas. Los productos químicos derivados de plantas son un amplio grupo de compuestos químicos que se han encontrado de forma natural en las plantas. La amplia existencia de estos compuestos ha demostrado ventajas beneficiosas en términos de actividades antioxidantes, antibacterianas y antifúngicas. Pueden restaurar la aplicación clínica de los antibióticos más antiguos al aumentar su potencia y, en consecuencia, evitar el desarrollo de resistencia (16)

La mangiferina posee actividad antibacteriana contra bacterias grampositivas y gramnegativas. También protege de los efectos nocivos de. Enterococos y *Mycobacterium tuberculosis*, y mostraron efectos antifúngicos contra *Trichoderma reesei, Aspergillus flavus y Thermoascus aurantiacus*. También actúa como un agente curativo y preventivo contra la enfermedad periodontal, así como el daño oxidativo mediado por radicales libres en las neuronas, el músculo cardíaco, el hígado y el tejido renal (17)

Los usos tradicionales del *Mangífera indica* L. (mango de la región) que se conocen son:

- 1. Antioxidante (18)
- 2. Antiinflamatorio (19)
- 3. Analgésico (19)
- 4. Antitumoral (19)
- 5. Antibacteriano (19)
- 6. Antifúngico (19)
- 7. Antihelmíntico (19)
- 8. Antihiperlipémico (19)

Mangífera indica L. (Mango), es un fruto que se considera un alimento funcional debido al elevado contenido de componentes bioactivos como polifenoles, ácido ascórbico, terpenoides, carotenoides, y fibra; los cuales pueden variar en concentración acorde al, estado de madurez, genotipo, parte del fruto, y prácticas agrícolas. El contenido de estos metabolitos secundarios postula al mango como un alimento de potencial quimiopreventivo (20). Los polifenoles relevantes en la fruta del mango relacionados con la capacidad antioxidante son la clase de

flavonoides (catequinas, kaempferol, quercetina, ramnetina, ácido tánico y antocianinas) y las clases de xantonas: mangiferina, la pulpa de mango, los flavonoles principales son glucósidos de quercetina (glucosa, ramnosa, galactosa, arabinosa y xilosa), mientras que el isorhamnetin, kaempferol, miricetina y fisetina están presentes en niveles menores (21)

Entre los antecedentes para el desarrollo del trabajo de investigación se dispone de los siguientes:

**Calderón K., y Cristóbal E. (2020)** evaluaron la efectividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, cuyos resultados presentaron halos de inhibición de 18.5 mm, 23.8 mm y 31.6 mm a las concentraciones de 60%, 75% y 90 % respectivamente, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y 0,0 mm, 20.8 mm y 28.8 mm a las concentraciones de 20%, 60% y 80% sobre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. El screening fitoquímico mostró la presencia de taninos, compuestos fenólicos, triterpenos, quinonas, flavonoides, saponinas y lactonas α, β-insaturadas (22).

Cárdenas V. (2019) comprobó el efecto antibacteriano in vitro de diversos extractos de hojas del árbol de *Mangìfera indica linn* (mango) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Los resultados demostraron que efectivamente los cuatro extractos tienen efecto antibacteriano presentando halos de inhibición entre 21mm y 35 mm mostrando diferencias significativas entre ellos y el control positivo (23).

**Untol R., et.al (2019)** evaluaron la acción antimicrobiana *in vitro* de extractos hidroalcohólicos de *Cassia angustifolia Tamarindus indica*, Mangifera *indica*, sobre cepas de Escherichia *coli* ATCC 25922 y *Salmonella typhi*. Los resultados mostraron diferencias significativas entre la acción de los extractos, presentando mayor actividad el extracto de *M. indica* con un halo de inhibición de 16,53 mm para *S. typhi* y de 15,16mm para *E. coli* a la concentración de 50%; efecto que se debe probablemente a la Mangiferina, el polifenol que produciría la inhibición del crecimiento (24)

**Carrillo C., et.al (2020)** valoró el efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico (50%) de la variedad Edward de *Mangifera indica L.*, y los extractos hidroalcohólicos

(90% y 50%) de la variedad Tommy Atkins. El mayor efecto antimicrobiano lo evidenció sobre *P. aeruginosa* y *S. aureus*; los extractos de la variedad Tommy Atkins mostraron mejor efecto antimicrobiano, mostrando halos de inhibición entre 10 y 15 mm según la bacteria. La técnica modificada de Kirby Bauer presentó mayor efectividad. Se concluye que todas las cepas en estudio mostraron sensibilidad frente a los extractos, siendo *S. aureus* y *P. aeruginosa* las más sensibles (25)

**Aparicio R., y col. (2019)** caracterizaron y valoraron la acción antimicrobiana del aceite aromático contenido en las hojas de *Mangifera indica* L., fueron identificados 30 compuestos en la muestra recolectada en tres estados, Mérida (M): 24 en Barinas (B) y 14 en Portuguesa (P), siendo los principales en M: β-selineno (22,56%), α-gurjuneno (14,66%) y β-cariofileno (10 40%); en B: β-cariofileno (36,32%), α-humuleno (22,71%) y α-gurjuneno (21,43%); y en P: β-cariofileno (36,07%), α-gurjuneno (22,55%) y α-humuleno (21,24%). Ambos aceites esenciales inhibieron el crecimiento de *S. aureus* y *E. faecalis* con una CMI de 200 μL/mL y 300 μL/mL, respectivamente (26)

Vanegas C. (2018) valoro el efecto antiespasmódico y sobre el sistema nervioso central de la tintura de *Schinus lentiscifolius* (Anacardiaceae). Los resultados mostraron que la tintura de las hojas de *S. lentiscifolius* tuvo un comportamiento como antiespasmódico vesical, intestinal, uterino, inhibiendo en modo no competitivo a las CCR de las diversas agonistas. Respecto a los estudios de comportamiento, el aceite esencial obtenido de sus hojas presentó un efecto sedante en el test de campo abierto en ratones; tanto la tintura como la infusión presentaron efecto ansiolítico en el test de supresión de alimento; y los tres extractos mostraron un efecto antidepresivo similar a la clomipramina en el test de suspensión de cola en ratones (27).

El estudio se justifica porque la región de Madre de Dios reúne las condiciones climáticas para la siembra y producción del mango. La justificación metodológica busca reconocer acciones farmacológicas que incrementen las evidencias científicas sobre el perfil del recurso vegetal del mango frente a *Staphylococcus aureus* de tal forme que incentive futuras investigaciones. La justificación práctica es que posterior a la verificación de la actividad antibacteriana, esta especie vegetal

pudiera ser utilizada como una alternativa para la fabricación de nuevos agentes antimicrobianos de fuente natural y de bajo coste para la población

El objetivo general del estudio será evaluar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

La hipótesis general del estudio es descrita como:

El extracto etanólico de hojas de *Mangífera indica* L. (mango de la región) presenta actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

#### II. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1 ENFOQUE Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Enfoque es cuantitativo ya que está basado en comprobaciones numéricas (28), porque se realizará la medición de los halos de inhibición para corroborar la acción antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de *Mangífera indica* L (mango de la región) sobre *Staphylococcus aureus*.

Es experimental porque se manipulan las variables buscando la causa- efecto.

**Analítico:** Debido a que su fin es establecer la correlación de la causa sobre el efecto sobre las variables en estudio (29).

**Explicativo**: Busca interpretar la ocurrencia del fenómeno (30). El propósito es demostrar la relación entre las diversas concentraciones del extracto etanólico materia de estudio con el efecto antimicrobiano sobre *Staphylococcus aureus*.

Deductivo: Porque es un tipo de razonamiento que va desde lo general a lo

específico. En la investigación se aplica a la deducción de las variables: extracto

etanólico de "hojas de Mangífera indica L. (mango de la región)" y efecto

antimicrobiano en sus indicadores en los que se mide la zona de inhibición (31).

**Prospectivo:** Debido a que se registran sus datos conforme van sucediendo en

un determinado tiempo. (28).

**Transversal:** Debido a que se analiza al fenómeno en estudio en determinado

momento, o sea los datos serán tomados del efecto antibacteriano por única vez

2.2 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

La población, estuvo constituida por cinco kilos de Mangífera indica L. (mango de

la región) recolectado del fundo Chorrillos km 18 de la carretera interoceánica,

Puerto Maldonado.

La **muestra** estuvo constituida por 1 kilo de "hojas de *Mangífera indica* L (mango

de la región)", fueron elegidas por conveniencia de los tesistas reduciendo a 20 gr.

Criterios de inclusión:

- Hojas en condiciones excelentes

Criterios de exclusión:

Hojas dañadas, aplastadas, rotas

2.3 VARIABLES DE INVESTIGACIÓN

Variable independiente: Extracto etanólico de hojas de Mangífera indica L (mango

de la región)

14

<u>Definición conceptual:</u> Producto obtenido de someter las "hojas *Mangífera indica* L (mango de la región)" a maceración en etanol.

<u>Definición operacional:</u> Concentración del extracto etanólico de hojas de *Mangífera indica* L (mango de la región)

Variable dependiente: Actividad antimicrobiana frente a Staphylococcus aureus

<u>Definición conceptual:</u> Inhibición del crecimiento bacteriano de las cepas de Staphylococcus aureus

<u>Definición operacional:</u> Sensibilidad bacteriana frente al extracto etanólico de hojas de *Mangífera indica* L. (mango de la región) realizada por la medida del diámetro de la zona de inhibición.

#### 2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica fue la encuesta y se usó una ficha de recolección de datos para medir el efecto antibacteriano del extracto etanólico de hojas de *Mangífera indica* L (mango de la región) sobre *Staphylococcus aureus* 

#### 2.5. PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

#### 2.5.1 Recolección de muestra vegetal.

Se recolectó las hojas frescas de "Mangífera indica L." (mango de la región) del fundo Chorrillos km 18 de la carretera interoceánica, Puerto Maldonado 400 m.s.n.m., en una cuantía promedio de 5 kilos, tomando en cuenta los criterios de exclusión e inclusión, luego se lavaron con agua con hipoclorito de sodio, y luego enjuagadas con agua destilada y después se dejó orear bajo sombra sobre papel Kraft.

#### 2.5.2 Certificación de la especie vegetal

La especie vegetal fue certificada en el laboratorio de Botánica de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, donde se realizará la certificación de la especie.

#### 2.5.3 Proceso de obtención del extracto etanólico

Se pesó 500 gramos de hojas desecadas debidamente fragmentadas y se procede a la molienda el total de la muestra seca, luego para macerar se pesó 100g de hojas de mango molidas por duplicado y se trasvasó a dos recipientes de vidrio para la maceración hidroalcohólica. Se agregó 450mL de etanol al 70% a ambos frascos de vidrio de 500mL para el inicio de la maceración. El macerado permaneció durante 14 días a temperatura ambiente. Transcurridos los 14 días, se filtró el sobrenadante utilizando papel filtro para la etapa de evaporación, recuperándose 400ml de macerado aproximadamente. Se procedió con la evaporación del filtrado utilizando una estufa a 50°C hasta alcanzar el punto mayor de concentración (extracto seco) (32).

#### Preparación de extractos a diferentes concentraciones:

Se prepararon soluciones de 5 ml de los extractos a diferentes concentraciones, para ello se realizaron los siguientes cálculos:

Para 75%

$$75g \rightarrow 100ml$$

$$x \rightarrow 5ml$$

x = 3.75 g de extracto seco

Con 1.25 ml de solucion de DMSO 1%

- Para 50%

$$50g \rightarrow 100ml$$

$$x \rightarrow 5ml$$

x = 2.5 g de extracto seco

#### Con 2.5 ml de solucion de DMSO 1%

Para 25%

 $25q \rightarrow 100ml$ 

 $x \rightarrow 5ml$ 

x = 1.25 g de extracto seco

Con 3.75 ml de solucion de DMSO 1%

#### 2.5.4 Determinación fitoquímica

Al extracto obtenido, se realizó la determinación fitoquímica, lo que permitió el reconocimiento de los catabolitos secundarios contenidos en el extracto etanólico de "hojas de *Mangífera indica* L. (mango de la región)" mediante las técnicas cualitativas para su identificación.

Antraquinonas: Agitar 6 ml de "extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L (mango de la región)" sobre 10ml de tolueno por 10 minutos. Después filtrar y adicionar 10ml de NH<sub>4</sub>OH al 10 %. La coloración rosa indica la presencia de antraquinonas (34).

Alcaloides: Mediante la técnica de Dragendorff, que comprende dos soluciones: Solución A: 0.85 g de subnitrato de bismuto disueltos en una mezcla de 10 ml de ácido acético y 40 ml de agua. Solución B: 8 g de yoduro de potasio disueltos en 20 ml de agua. Mezclar 5 ml de solución A, con 5 ml de solución B y 20 ml de ácido acético y luego completar a 100 ml con agua (35).

Compuestos fenólicos: Agregar a 2ml del "extracto etanólico de hojas de *Mangífera indica* L (mango de la región)" 3 gotas de cloruro férrico al 4%. Si toma un color negro-azulado, nos muestra contenido de fenoles, si toma un color verde muestra el contenido de compuestos fenólicos (34).

Flavonoides: Reacción con acetato de plomo: pipetear 2.5ml de extracto en un tubo de ensayo y adicionar 7.0ml de alcohol al 95% y 0.5ml de acetato de plomo al 10%. Agitar bien y dejar reposar durante 24 horas (34).

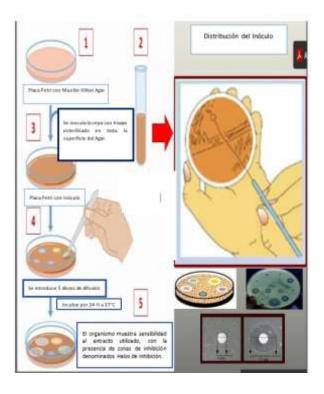
Saponinas: método de la espuma

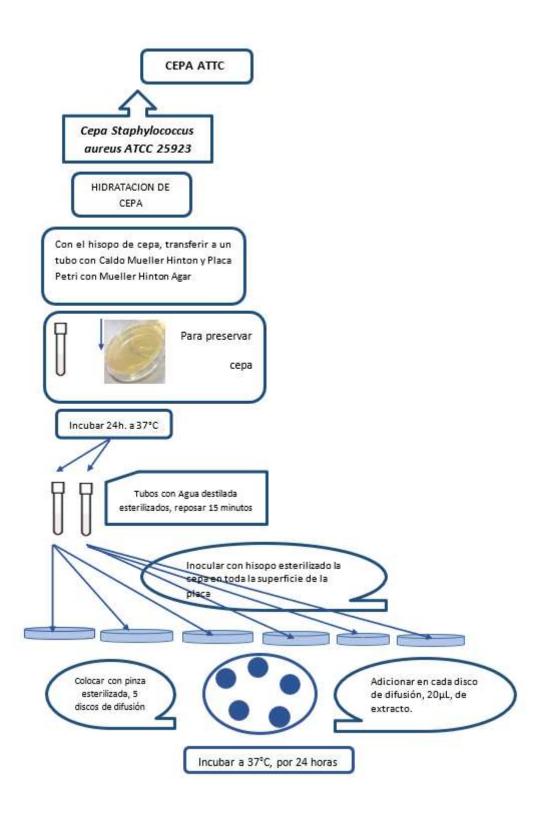
Taninos: Prueba de gelatina: Agregar 2 gotas de gelatina (1gr de gelatina + 10 gr NaCl sobre 100 ml de agua. Dará un precipitado de color blanco (36).

#### 2.5.5. Determinación de la actividad antibacteriana

Se determinó mediante la técnica de Kirby Bauer, usando como medio de cultivo el Agar de Mueller-Hinton, y la muestra biológica fue la bacteria tipificada *Staphylococcus aureus*, comparada con el antibiótico Ciprofloxacino.

Fue realizado en el laboratorio microbiológico LAASA de la ciudad del Cuzco.





#### Proceso de ensayo microbiológico

- Se procedió la hidratación de las Cepas, adicionando la solución que hidrata, la cual viene adjunto al tubo con la cepa liofilizada usando el hisopo. Esperar 15 minutos.
- Por cada concentración de extracto (25 %; 50 % y 75 %), utilizar 6 placas de Agar Mueller Hinton, rotular las placas anotando los datos completos (Número de ensayo; N° de placa; concentración del extracto, nombre de los tesistas y fecha)
- Una vez hidratada la cepa, se realiza una dilución de la misma partiéndola en dos tubos con agua destilada estéril e incubar durante 15 minutos a 37°C.
- Luego de la incubación realizar la siembra con una asa de platino o un hisopo estéril en las placas Petri con Agar, distribuyendo en toda la superficie, dejar reposar durante 15 minutos.
- Después colocar los discos de difusión con ayuda de una pinza puntiaguda esterilizada, colocar 5 discos en cada placa.
- Verter con la micropipeta cada volumen de 20µl; de cada concentración del extracto.
- Luego de 15 minutos que han reposado las placas sobre la superficie de trabajo, son colocadas en forma invertida dentro de la incubadora a 37°C, durante 24 horas.

#### Lectura de resultados:

Realizar la lectura de los resultados después de 18 a 24 horas de la incubación. Utilizando el Vernier digitalizado, para medir los halos de inhibición con precisión.

#### 2.6 MÉTODO DE ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Después de obtener los resultados mencionados, y anotados sus datos, se realiza la valoración usando los estadísticos descriptivos determinando las medidas de tendencia central, asimismo se usará la estadística inferencial, usando el paquete estadístico SPSS vs 26.

#### 2.7. Aspectos éticos

- La investigación respetará los aspectos éticos, así como el modelo y normas de la Universidad María Auxiliadora.
- La colección de los especímenes vegetales en el bosque se realizará de acuerdo a los protocolos establecidos por los diferentes herbarios nacionales e internacionales.
- Toda investigación debe mantener un balance positivo y justificado que garantice la vida, recursos vegetales y el medio ambiente, la preservación de naturaleza y la biodiversidad (37)

#### III. RESULTADOS

#### 3.1 Tamizaje fitoquímico

**Tabla 1.** Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de *Mangifera indica* L. (mango de la región)

Determinación de metabolitos	Ensayo	Resultados
Taninos	Reacción de gelatina	++
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	++
Saponinas	Prueba de espuma	+++
Flavonoides	Acetato de plomo	++
Alcaloides	Prueba de Dragendorff	+++
Antraquinonas	Prueba de Bortrager	++

Leyenda:

Mínimo : (+)

Mediano : (++)

Abundante: (+++)

En la tabla 1 después de la determinación fitoquímica se evidencian metabolitos secundarios como presencia abundante (+++) de alcaloides, que se identificaron con el reactivo de Dragendorff, de igual manera la prueba de Gelatina evidenció presencia moderada de antraquinonas, taninos, flavonoides, y compuestos fenólicos (++)

**3.2.** Resultados sobre la "actividad bacteriana del extracto etanólico de *Mangifera indica* L. (mango de la región) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923"

Se determinó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Mangifera indica* L. (mango de la región sobre *S. aureus*, a las concentraciones de 25%, 50%, y 75%, usando el control positivo Ciprofloxacino de 500mg

**Tabla 2.** "Resultados promedio de las mediciones de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de *Mangifera indica* L. (mango de la región)"

Microorganismo	"Diámetros de inhibición en mm"						
	valores	75%	50%	25%	Ciprofloxaci no 500mg	H <sub>2</sub> 0	
Staphylococcus	1	15.23	12.59	10.27	10.76	6	
aureus ATCC	2	13.94	11.48	9.73	12.36	6	
25923	3	14.89	12.63	10.11	14.63	6	
	4	14.32	11.81	10.44	15.03	6	
	5	15.17	11.68	10.90	28.60	6	
Promedio		14.71	12.04	10.29	16.28		
Desviación estándar		,01	,01	,01	,01	,01	

#### Leyenda:

Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983)<sup>38</sup>

- (-) Nula: Diámetro (< 8 mm)
- (+) Sensible bajo: Diámetro (8 14 mm)
- (++) Medio (muy sensible): Diámetro (14 20 mm)
- (+++) Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)

En la Tabla 2 se observan los resultados promedio de los halos de inhibición (mm) de los dos días en que se realizó el ensayo, el halo representa el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Mangifera indica* L. (mango de la región) frente a cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

De acuerdo a la escala de "Duraffourd y Lapraz", para la concentración de 25% la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, muestra baja sensibilidad, con

promedios de 10.29 mm, a la concentración de 50%, y 75% muestra baja sensibilidad, con rangos de 12.04mm y 14.71mm respectivamente para el control ciprofloxacino, el *Staphylococcus aureus* es sumamente sensible, mostrando rangos de 28,60 mm.

#### 3.4 Resultados sobre contrastación de hipótesis:

Para contrastar las hipótesis de la investigación, se utilizaron pruebas estadísticas paramétricas en las que los resultados se procesaron de acuerdo con las hipótesis formuladas. Se realizó un experimento in vitro para determinar la acción antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L (mango de la región) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en diferentes grupos de ensayo, realizados con concentraciones del 25%, 50% y 75%, además se usó control de calidad como control positivo para medir la eficacia con 3 réplicas por grupo, los resultados se interpretaron según el método estandarizado de Durafourd y Lapraz.

#### 3.4.1 Contrastación de hipótesis general

**H0:** El extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L (mango de la región) no presenta actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**H1:** El extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L (mango de la región) presenta actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Para la contrastación de la hipótesis, se realizó el análisis estadístico de la medición de los halos producto de la acción antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L, cuyos resultados son mostrados en la Tabla 5, considerando el error estándar, desviación estándar, límites de confianza, la media, y valores mínimo y máximo para cada grupo de estudio con la cepa bacteriana, observando que los resultados se hallan dentro de los límites de confianza. Evaluando la media de los diámetros de los halos de inhibición con los parámetros de la escala interpretativa de "Duraffourd y Lapraz".

Según la tabla 3, para el *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con concentración al 25% del extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L., se mostró sensible bajo con una media de  $10.02 \pm 0.29$ mm, al 50% se mostró sensible bajo con una media de  $12.06 \pm 0.20$ mm y al 75% se mostró sensible muy bajo con una media de  $14.36 \pm 0.30$ mm.

**Tabla 3.** "Estadísticos descriptivos de la actividad antibacteriana del Extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923"

		act	ividad antimicro	biana frente a Staf	ilococcus aur	eus
Descriptivos			Error estándar			
			Desviación	de % de N		
		Media	estándar	columnas	Mínimo	Máximo
Extracto etanólico	Concentración	10.00	20	C 40/	0.40	10.40
de hojas de	al 25%	10,02	,29	6,4%	9,42	10,46
Mangìfera indica	Concentración	40.00	22	0.40/	44.04	40.50
L	al 50%	12,06	,20	6,4%	11,81	12,56
	Concentración	4.4.00		2 424	40.04	
	al 75%	14,36	,30	6,4%	13,81	14,81

La cepa presenta actividad antibacteriana, con diversos niveles de sensibilidad, al 25% y al 50% la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 presenta sensibilidad baja y al 60 % presenta sensibilidad baja; mientras que para 75% presenta sensibilidad muy baja. Por lo tanto, rechazamos la hipótesis nula (H0) y aceptamos la hipótesis alterna (H1).

Conclusión: El extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L (mango de la región) presenta actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### 4.2.2 Contrastación de hipótesis específica

#### - Hipótesis específica 1:

**H0:** El extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) no presenta metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**H1:** El extracto etanólico de hojas de Mangìfera indica L. (mango de la región) presenta metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

La primera hipótesis específica, se contrastó mediante la determinación Fitoquímica, mediante pruebas cualitativas de coloración y precipitación, de acuerdo a los grupos químicos contenidos en la especie vegetal, identificando los metabolitos secundarios con presumible acción antimicrobiana, en tabla 1, se refiere la coloración correspondiente a los alcaloides usando el reactivo Dragendorff (+++), seguida de otros metabolitos identificados como los flavonoides (+).

Estos metabolitos secundarios presentes estarían relacionados con el efecto antibacteriano del extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región).

Por lo tanto, rechazamos la hipótesis nula (H0) y aceptamos la hipótesis alterna (H1).

Conclusión: El extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) presenta metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### - Hipótesis específica 2:

**H0:** "El extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L (mango de la región) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% no presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923"

**H1:** "El extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L (mango de la región) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923"

Para la elección de la prueba estadística a aplicar verificamos los siguientes supuestos: prueba de homogeneidad de varianzas y prueba de normalidad.

La "prueba de normalidad" nos ha indicado que los halos de inhibición obtenidos se encuentran dentro de la distribución normal, en este caso fue utilizada la prueba de Shapiro-Wilk, puesto que el tamaño muestral es < a 30 unidades, en la tabla 4, se representa que el p- valor (sig) es > 0.05 para todas las concentraciones, por ende, los resultados presentan distribución normal. La "prueba de homogeneidad de varianzas" ayuda a evaluar si las varianzas de cada análisis realizado son diferentes o iguales estadísticamente, dependiendo de ello para designar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicada. Por ello se empleó el estadístico de Levene, en la tabla 5 observamos que el p-valor (sig) es > 0.05, por ende, concluimos que las varianzas de las pruebas aplicadas son homogéneas, por lo tanto; al cumplir con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza se aplicará la prueba paramétrica de ANOVA, que permite demostrar si existe diferencia significativa entre los grupos de estudio y la prueba de Tukey con la que se elegirá tratamiento más adecuado.

**Tabla 4.** "Prueba de Normalidad de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923"

Pruebas de normalidad						
Extracto etanólico de hojas de Shapiro-Wilk						
	Mangìfera indica L	Estadístico	gl	Sig.		
actividad antimicrobiana frente	Concentración al 25%	,944	18	,343		
a Stafilococcus aureus	Concentración al 50%	,923	18	,145		
	Concentración al 75%	,947	18	,387		

**Tabla 5.** "Prueba de Homogeneidad de varianzas del extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta actividad antibacteriana frente a *Stafilococcus aureus* ATCC 25923"

Prueba de homogeneidad de varianza							
		Estadístico de					
		Levene	gl1	gl2	Sig.		
actividad	Se basa en la media	1,898	2	51	,160		
antimicrobiana	Se basa en la mediana	1,543	2	51	,223		
frente a Stafilococcus	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,543	2	47,756	,224		
aureus	Se basa en la media	2,051	2	51	,139		
	recortada						

**Tabla 6.** "Prueba de ANOVA de los halos obtenidos del extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923"

ANOVA								
actividad antimicrobiana frente a Stafilococcus aureus								
Suma de Media								
	cuadrados	GI	cuadrática	F	Sig.			
Entre grupos	169,247	2	84,624	1195,061	.000			
Dentro de grupos	3,611	51	.071					
Total	172,858	53						

La prueba de ANOVA permite la verificación de diferencias significativas entre los grupos estudiados haciendo comparaciones entre las medidas de cada uno. observando el resultado p < 0.05 (sig), en la tabla 6, tanto el extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L (mango de la región) a las concentraciones de 25%, 50%, y 75% muestra acción antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y se confirma que existe diferencias significativas entre los grupos estudiados, para la determinación de qué medidas son estadísticamente diferentes se aplicará pruebas POST HOC, en este caso la prueba de Tukey.

**Tabla 7.** "Comparaciones múltiples de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923"

#### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: actividad antimicrobiana sobre Stafilococcus aureus

**HSD Tukey** 

HSD Tukey							
					Intervalo de confianza al		
(I) Extracto etanólico	(J) Extracto etanólico				9	5%	
de hojas de	de hojas de	Diferencia de	Desv.		Límite	Límite	
Mangìfera indica L	Mangìfera indica L	medias (I-J)	Error	Sig.	inferior	superior	
Concentración al	Concentración al 50%	-2,03667*	,08870	,000	-2,2508	-1,8225	
25%	Concentración al 75%	-4,33389*	,08870	,000	-4,5480	-4,1198	
Concentración al	Concentración al 25%	2,03667 <sup>*</sup>	,08870	,000	1,8225	2,2508	
50%	Concentración al 75%	-2,29722 <sup>*</sup>	,08870	,000	-2,5113	-2,0831	
Concentración al	Concentración al 25%	4,33389*	,08870	,000	4,1198	4,5480	
75%	Concentración al 50%	2,29722 <sup>*</sup>	,08870	,000	2,0831	2,5113	

<sup>\*.</sup> La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

En la tabla 7, observamos que hay diferencias significativas entre los grupos de tratamiento, puesto que; todos muestran que el valor de Sig. es < 0.05. Por tanto, debe aplicarse la prueba de subconjuntos de Tukey.

**Tabla 8.** "Prueba de subconjuntos de Tukey para la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) a diversas concentraciones del 25%, 50%, y 75% sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923"

actividad antimicrobiana frente a Stafilococcus aureus						
HSD Tukey <sup>a</sup>						
Extracto etanólico de hojas		Subconj	unto para alf	a = 0.05		
de Mangifera indica L	N	1	2	3	4	
Concentración al 25%	18	10,0233				
Concentración al 50%	18		12,0600			
Concentración al 75%	18			14,3572		
Ciprofloxacino 5uq	18				28,6000	
Sig.		1,000	1,000	1,000	1.000	

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

Las tablas 7 y 8, muestran que todas las medias de los grupos estudiados son diferentes, a > concentración del extracto muestra > inhibición, los halos incrementan los diámetros (observándose forma de escalera), en las dos tablas el extracto etanólico de hojas de *Mangifera indica* L. (mango de la región) al 75% sobre cepas de *Stafilococcus aureus* presenta > diámetro, mostrando en los resultados halos muy sensibles. Se comprueba que las medias de los diámetros en las distintas concentraciones del extracto resultan inferiores a los mostrados por el control el fármaco ciprofloxacino, quien posee mayor susceptibilidad sobre las cepas presentando mayor diámetro de inhibición. Por lo tanto, aceptamos la hipótesis alterna (H1) y rechazamos la hipótesis nula (H0).

Conclusión: El extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L (mango de la región) a diversas concentraciones del 25%, 50%, y 75% muestra actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### - Hipótesis especifica 3

**H0:** "El extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) en las distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% no presenta mejor

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 18,000.

susceptibilidad antibacteriana frente a *Stafilococcus aureus* ATCC 25923, en comparación con Ciprofloxacino".

**H1:** "El extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) en las distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta mejor susceptibilidad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en comparación con Ciprofloxacino".

Las tablas 7 y 8, muestran para las cepas de "Staphylococcus aureus ATCC 25923", que la media de los diámetros a diferentes concentraciones es inferior al obtenido por el control positivo Ciprofloxacino, ello indica que el antibiótico utilizado como control positivo tiene mayor diámetro de inhibición. Por lo tanto, aceptamos la Hipótesis nula (H0) y rechazamos la Hipótesis alterna (H1).

Conclusión: El extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) en sus diversas concentraciones del 25%, 50%, y 75% muestra menor sensibilidad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en comparación con Ciprofloxacino.

#### IV. DISCUSIÓN

#### 4.1 Discusión de resultados

El fenómeno de la resistencia antimicrobiana preocupa mucho debido a que las infecciones ocasionadas por bacteria u hongos resistentes podrían ocasionar la muerte del enfermo, estos gérmenes resistentes pueden transmitirse a otras personas generando elevados costes para el sistema y para el paciente (1). La farmacorresistencia es el término más amplio para la resistencia de diferentes tipos de microorganismos abarca a los medicamentos antibacterianos, antivirales, antiparasitarios y fungicidas (2).

Debido a esta situación de resistencia antimicrobiana genera nuevo interese en búsqueda de productos con efecto farmacológico con acciones antibacterianas, evidencia de ello en los últimos años, se han incrementado estudios de agentes naturales fisioterapéuticos con efectos antibacterianos (4).

Por esas razones, el propósito de la presente investigación fue valorar la acción antibacteriana del extracto etanólico de "hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región)" sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Respecto a la hipótesis general, el extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L (mango de la región) muestra actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Guerra K. (2017) encontró resultados similares en su tesis "Determinación de la actividad antimicrobiana de extractos de las hojas de *Mangifera indica* L.", donde indica que la bacteria con mejor zona de inhibición fue *S. aureus* (13 -15mm) seguida de la cepa de *P. aeruginosa* con zona de inhibición de 10-13mm. (39)

Asimismo, Carrillo y Diaz (2019) en su estudio "Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de hojas de dos variedades de *Mangifera indica* L.", registraron mayor actividad antimicrobiana sobre *P. aeruginosa* y *S. aureus*; los extractos de la variedad Tommy Atkins mostraron mayor efecto antibacteriano, mostrando halos de inhibición entre 10 - 15 mm según la bacteria. En las dos cepas se detectó que la estructura celular sufrió alteraciones, presentando desintegración de la superficie celular que las conduciría a la muerte. (40)

En cuanto a la hipótesis especifica 1, "el extracto etanólico de hojas de Mangifera indica L. (mango de la región) contiene metabolitos secundarios responsables de la acción antimicrobiana frente a Staphylococcus aureus ATCC 25923", en el mismo contexto Openibo J., Taiwo O., Bello O., et.al. (2018) en el estudio "Propiedades fitoquímicas y antimicrobianas de extractos de hojas de Mangifera indica. Revista del Pacto de Ciencias Físicas y de la Vida", encontraron la presencia de componentes farmacológicos activos como taninos, saponinas, glucósido cardíaco, flavonoides y alcaloides. (41) Asimismo, Diso S., et al, en el estudio "Actividad antibacteriana y detección fitoquímica de extractos de tallo y hojas de Mangifera indica (mango) en aislamientos clínicos de Staphylococcus aureus resistente a la meticilina", en los resultados de la evaluación fitoquímica preliminar de la hoja y el tallo de Mangifera indica mostraron la presencia de alcaloides, antraquinonas, xantoproteínas, flavonoides, resinas, saponinas, aminoácidos, taninos y glucósidos cardíacos mientras que los esteroides estaban ausentes en la hoja. (42) Se ha informado que los fitoquímicos contenidos en las hojas de Mango son responsables de actividades antibacterianas, antioxidantes y antiinflamatorias. Investigaciones previas realizadas informaron que los extractos de Mangifera indica mostraron una potente actividad antibacteriana contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas con valores de MIC que oscilan entre 12,5 y 175 mg/mL. (42)

Respecto a la hipótesis específica 2, el "extracto etanólico de hojas de *Mangifera indica* L. (mango de la región) a sus diversas concentraciones del 25%, 50%, y 75% muestra efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923". Estudios realizados en ese contexto como el de Ogidi I., et.al "Evaluación de la actividad antimicrobiana y las propiedades fitoquímicas bioactivas de los extractos de corteza de tallo de mango (*Mangifera Indica*)", el extracto de metanol demostró la mayor actividad bacteriana (*Staphylococcus* sp con 15,4  $\pm$  0,36 mm de zona de inhibición) y hongos (*Penicillium* sp con 9,3  $\pm$  0,2 mm de zona de inhibición). Por su parte, en extractos acuosos se observó que *Escherichia coli* (10,6  $\pm$  0,2 mm) y *Penicillium* sp (10,3  $\pm$  0,3 mm) presentaban un mayor halo de inhibición. (43)

Respecto a la hipótesis especifica 3, el extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región) a sus diversas concentraciones del 25%, 50%, y 75% muestra menor sensibilidad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en comparación con Ciprofloxacino, estudios semejantes como el de Chirayath R., et.al. (2019) "Desarrollo de *Mangifera indica* extracto de hoja incorporado carbopol hidrogel y su eficacia antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*" descubrieron que el extracto de hoja de mango (MLE) es un agente antiestafilocócico eficaz, no mutagénico y contiene fitoquímicos como taninos, saponinas, flavonoides, fenoles y cumarinas. Además, el extracto de hoja de mango (a partir de una concentración de MLE de stock de 130 mg/ml) que contenía hidrogel de carbopol (MLEC) se preparó y se caracterizó aún más en cuanto a biocompatibilidad, actividades reológicas y antiestafilocócicas. (44)

#### 4.2. Conclusiones

El extracto etanólico de "hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región)", presenta sensibilidad baja sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Los metabolitos secundarios que se identificaron en la determinación fitoquimica fueron alcaloides y en menor escala taninos, flavonoides, antraquinonas y compuestos fenólicos.

El "extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región)", a las concentraciones de 25%, 50% y 75% presenta baja actividad antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

El Ciprofloxacino muestra mayor sensibilidad antibacteriana que las diversas concentraciones del "extracto etanólico de hojas de *Mangìfera indica* L. (mango de la región)", para cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### 4.3. Recomendaciones

Fomentar la realización de más estudios con las diversas partes del fruto de *Mangìfera indica* L. (mango de la región), aunque se han llevado a cabo muchas investigaciones farmacológicas basadas en los ingredientes presentes, todavía se pueden explorar, explotar y utilizar muchas más.

Realizar investigaciones utilizando extractos con diversos solventes, a fin de conseguir mejores efectos de los metabolitos secundarios contenidos.

Realizar nuevas investigaciones mejorando las técnicas para extraer los polifenoles

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- OMS. Lista de las bacterias para las que se necesitan emergentemente nuevos antibióticos. [Internet]. 2017 consultado: 17 de marzo del 2017; Disponible en: <a href="http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/">http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/</a>.
- Quiñones, D. Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque "Una salud". Rev Cubana Med Trop [Internet].
   2017 Dic 69(3): 1-17. [citado 2020 Jul 09]; Disponible en: <a href="http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0375-07602017000300009&lng=es">http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0375-07602017000300009&lng=es</a>.
- Serra, M. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. [Internet] Rev haban cienc méd [Internet]. 2017 Jun16(3): 402-419. [citado 2021 Jul 09]; Disponible en: <a href="http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1729-519X2017000300011&lng=es">http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1729-519X2017000300011&lng=es</a>
- Frías J., Ramírez P., de la Paz L., Herrero P., Acosta C. Sechium edule (Jacq) sw: Fitoterapéutico como agente antibacteriano. [Internet] MediSur 14.6 (2016): 664-670. [citado 2021 Jul 09]; Disponible en: <a href="https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenl.cgi?IDARTICULO=69719">https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenl.cgi?IDARTICULO=69719</a>
- Banchón, B., y Palma, J. Cuantificación de mangiferina en diferentes variedades de mango (*Mangifera indica* I.) de exportación en el Ecuador. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico,] Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas, 2018. http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/33577
- Sá R., et al. Caracterización anatómica, histoquímica y análisis de cristales de la lámina foliar de Mangifera indica L. [Internet] Journal of Environmental Analysis and Progress (2019): 266-272. [citado 2022 marzo 09]; Disponible en: https://doi.org/10.24221/jeap.4.4.2019.2631.266-272

- 7. Ediriweera M., Tennekoon K., Samarakoon S. Una revisión sobre aplicaciones etnofarmacológicas, actividades farmacológicas У compuestos bioactivos de Mangifera indica (Mango). [Internet] Complemento basado en Evid Alternat Med. 2017; 2017: 6949835. [Citado 2022 enero 20]. Disponible en: https://doi: 10.1155 / 2017/6949835. Epub 2017 31 de diciembre. PMID: 29456572
- Torres, C., Rojas, R., Contreras, J., Serna, L., Belmares, R. y Aguilar, C. Semilla de mango: propiedades funcionales y nutricionales. [Internet] Tendencias en Ciencia y Tecnología de Alimentos 55 (2016): 109-117. [Citado 2022 enero 20]. Disponible en: <a href="https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.06.009">https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.06.009</a>
- Kim H, Banerjee N, Barnes R., Pfent C., Talcott S., Dashwood R., Mertens-Talcott SU. Los polifenólicos del mango reducen la inflamación en la colitis intestinal: afectación del eje miR-126 / PI3K / AKT / mTOR in vitro e in vivo. [Internet] Mol Carcinog. 2017 enero; 56 (1): 197-207. [Citado 2022 enero 20]. Disponible en: https://doi: 10.1002 / mc.22484. Epub 2016 6 de abril. PMID: 27061150
- 10. Derese S., et.al. Mangifera indica L. (Anacardiaceae). Especias medicinales y vegetales de África. [Internet] Academic Press, 2017. 451-483. [citado 2022 marzo 11]; Disponible en: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6.00021-2
- 11. Pallavi M., et al. Importancia farmacéutica de *Mangifera indica*: una revisión. [Internet] Journal of Advanced Scientific Research 11 (2020). https://web.s.ebscohost.com/abstract?direct=true&profile=ehost&scope=s ite&authtype=crawler&jrnl=09769595&AN=147850087&h=UgUDJ6IX0sjM ALxNoWVAL4UWKujpK0gWyNaP61TvuXEU316nYMrCM3HNj71nxaJD% 2bLzRVv78%2bH3NMTnhO81JMQ%3d%3d&crl=c&resultNs=AdminWeb Auth&resultLocal=ErrCrlNotAuth&crlhashurl=login.aspx%3fdirect%3dtrue %26profile%3dehost%26scope%3dsite%26authtype%3dcrawler%26jrnl% 3d09769595%26AN%3d147850087
- 12. Gururaja G., et al. Evaluación de la actividad reductora del colesterol del extracto estandarizado de *Mangifera indica* en ratas albinas Wistar. [Internet] Investigación de farmacognosia 9.1 (2017): 21. [citado 2022]

- marzo 12]; Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5330098/
- 13. Mutua J., Imathiu S., y Owino W. Evaluación de la composición aproximada, el potencial antioxidante y la actividad antimicrobiana de los extractos de semillas de mango. [Internet] Food Science & Nutrition, vol. 5, núm. 2, págs. 349–357, 2017. [citado 2022 marzo 15]; Disponible en: https://doi.org/10.1002/fsn3.399
- 14. Khameneh B., Iranshahy M., Soheili V. et al. Revisión sobre antimicrobianos vegetales: un punto de vista mecanicista. [Internet] Antimicrob Resist Infect Control 8, 118 (2019). [citado 2022 marzo 18]; Disponible en: https://doi.org/10.1186/s13756-019-0559-6
- 15. Rossiter E., Madison H. Fletcher y William M. Wuest. Productos naturales como plataformas para superar la resistencia a los antibióticos. [Internet] Revisiones químicas 117.19 (2017): 12415-12474. [citado 2022 marzo 18]; Disponible en: https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00283
- 16. Barbieri R., et al. Fitoquímicos para enfermedades humanas: una actualización sobre la actividad antibacteriana de compuestos derivados de plantas. [Internet] Investigación microbiológica 196 (2017): 44-68. [citado 2022 marzo 15]; Disponible en: <a href="https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.12.003">https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.12.003</a>
- 17. Aparicio R., Velasco J., Paredes R., y Rojas F. Caracterización química y actividad antibacteriana del aceite esencial de Mangifera indica L. de tres regiones de Venezuela. (2019) [Internet] Revista Colombiana de Química, 48(3), 13-18. [citado 2022 marzo 15]; Disponible en: https://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v48n3.79292
- 18. Lauricella M., Emanuele S., Calvaruso G., Giuliano M., y D'Anneo A, Beneficios multifacéticos para la salud de *Mangifera indica* L. (mango): el valor inestimable de los huertos plantados recientemente en áreas rurales sicilianas. [Internet] Nutrientes, vol. 9, núm. 6, 525 páginas, 2017. [citado 2022 marzo 25]; Disponible en: https://doi.org/10.3390/nu9050525
- 19. Ediriweera M., Tennekoon K., y Samarakoon S. Una revisión de las aplicaciones etnofarmacológicas, las actividades farmacológicas y los compuestos bioactivos de Mangifera indica (Mango). [Internet] Medicina

- alternativa y complementaria basada en la evidencia 2017 (2017). [citado 2022 marzo 22]; Disponible en: https://doi.org/10.1155/2017/6949835
- 20. Barbosa I., Caballero M., Ledesma N., Sáyago A., García M., Obispo von Wettberg E., et al. Cambios en la calidad nutricional de cinco especies de Mangifera cosechadas en dos etapas de madurez. (2017) [Internet] J. Sci. Food Agric. 97, 4987-4994. 10.1002 / jsfa.8377. [citado 2022 marzo 15]; Disponible en: Google Académico
- 21. Palma G., Marrufo N., Sampedro J., Najera H. Purificación y caracterización bioquímica parcial del polifenol oxidasa del mango (Mangifera indica cv. Manila). (2015) [Internet] J. Agric. Food Chem. 62, 9832–9840. 10.1021 / jf5029784. [citado 2022 marzo 15]; Disponible en: Google Académico
- 22. Calderón K., y Cristóbal E. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle L*. (Molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Tesis para la obtención del título de Químico Farmacéutico, Universidad Inca Garcilaso de La Vega, Lima (2020). <a href="http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/5111">http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/5111</a>
- 23. Cárdenas V. Actividad antibacteriana in vitro de diferentes extractos de hojas de *Mangìfera indica linn* (Mango) sobre cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Tesis previa a la obtención del título de Cirujano Dentista, Universidad Nacional Federico Villareal (2019). http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/3391
- 24. Untol, R., Zavaleta, G., Saldaña, J., Blas, W. Efecto in vitro de extractos hidroalcohólicos de *Mangifera indica*, *Tamarindus indica* y *Cassia* angustifolia sobre el crecimiento de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*. Arnaldoa [Internet]. 2019 [citado 2020 jul 09]; 26 (2): 713-724. Disponible en: <a href="http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S2413-32992019000200013&lng=es">http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S2413-32992019000200013&lng=es</a>.
  - http://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.262.26213
- 25. Carrillo, C, Díaz, R, Guerra, K, Román, A. Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de hojas de dos variedades de *Mangìfera indica*

- L. CU [Internet] 2020 [citado 9 de julio de 2020];13(32):69-7. Disponible en: http://201.159.223.128/index.php/cienciaunemi/article/view/949
- 26. Aparicio, R., Velasco, J., Paredes, R., y Rojas, F. Caracterización química y actividad antibacteriana del aceite esencial de Mangifera indica L. de tres regiones de Venezuela. (2019) Revista Colombiana de Química, 48(3), 13-18. https://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v48n3.79292
- 27. Vanegas, C. Estudio anatómico y farmacológico de la especie Schinus lentiscifolius Marchand (Anacardiaceae). Diss. para optar el grado de Magister en plantas medicinales, Universidad de La Plata, Argentina-2018.https://doi.org/10.35537/10915/71657
- 28. Sánchez F. Fundamentos epistémicos de la investigación cualitativa y cuantitativa: consensos y disensos. [Internet] Revista Digital de Investigación en Docencia Universitaria 2019, 13(1): 102-122. [citado 2022] abril 1]; Disponible en:
  - https://dx.doi.org/10.19083/ridu.2019.644
- 29. Guija M., Guija R. Metodología de la Investigación Científica. Perú, Guigraf E.I.R.L. 2019. Capítulo I: La Dialéctica y la Investigación Científica [Citado:2021 noviembre 14].
- 30. Hernández R., Fernández C. y Baptista P. Metodología de la Investigación (6 ed., págs. 88-101). México: McGraw-Hill. (2014).
- 31. López P., Prendes M. Estudio longitudinal sobre tutoría académica flexible en la Universidad. Profesorado. [Internet]. Revista de Currículum y Formación de Profesorado, 21(4):259-278. [Citado: 2022, mayo 15]. Disponible en:
  - https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=56754639014
- 32. Barbosa, I., Caballero, M., Ledesma N., Sáyago, A., García M., Obispo von Wettberg E. J., et al. Cambios en la calidad nutricional de cinco especies de Mangifera cosechadas en dos etapas de madurez. (2017) [Internet] J. Sci. Food Agric. 97, 4987-4994. 10.1002 / jsfa.8377. [citado 2022 abril 1]; Disponible en: Google Académico
- 33. Inocente-Camones M., Guija-Poma E., Zarzosa-Norabuena E., Loja Herrera B., Ponce-Pardo J. Efecto hipoglicemiante de los extractos acuoso y etanólico de Psidium quajava L. (Guayaba) en ratas diabéticas inducidas

- por aloxano Horiz. Med. [Internet]. 2015 Abr [citado 2022 Feb 14]; 15(2): 41-48. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1727-
- 558X2015000200007&Ing=es.
- 34. Escobar L. Efecto antibacteriano in vitro de extractos hidroalcohólicos de los frutos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) y *Vaccinium floribundum* (mullaca) sobre *Staphylococcus aureus*. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico] Trujillo: Universidad Católica los Ángeles,

  Chimbote. <a href="http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/20488">http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/20488</a>
- 35. Bermúdez S., Romero G., Peñuela M., Cevallos A., Romero J., Guamán L., et.al. Caracterización Fitoquímica y elucidación estructural de metabolitos secundarios de Picramnia sp., en la Amazonía Ecuatoriana. [Internet]. Info Analítica; 8(2):2-13 (2020) [Citado: 2022, mayo 15]. Disponible en: https://doi: 10.26807/ia. v8i2.129
- 36. Arranz J., et al. Taninos aislados de la corteza de *Excoecaria lucida* Sw. (Aité)(Euphorbiaceae). [Internet] Revista Cubana de Farmacia 51.3 (2018). [Citado: 2022, mayo 15]. Disponible en: <a href="http://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/76">http://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/76</a>
- 37. Hernández M., López D. Algunos aspectos relacionados con la Ética en el Laboratorio Clínico. [Internet]. Rev Cuba Med Int Emerg. (2016) 15(2): 73-81. [Citado: 2021, junio 8] Disponible en: http://www.revmie.sld.cu/index.php/mie/article/view/150
- 38. Duraffourd C., Lapraz J. Cuaderno de Fitoterapia Clínica. Editorial Masson-Francia. 1983
- 39. Guerra K., y Román A. Determinación de la actividad antimicrobiana de extractos de las hojas de *Mangifera indica* L. Diss. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas, 2017.
- 40. Carrillo C., y Díaz R. Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de hojas de dos variedades de *Mangifera indica* L. Revista Ciencia UNEMI 13.32 (2020): 69-77.
- 41. Openibo J., Taiwo O., Bello O., et.al. Propiedades fitoquímicas y antimicrobianas de extractos de hojas de *Mangifera indica*. Revista del

- Pacto de Ciencias Físicas y de la Vida. 2018. Obtenido de <a href="https://journals.covenantuniversity.edu.ng/index.php/cjpls/article/view/934">https://journals.covenantuniversity.edu.ng/index.php/cjpls/article/view/934</a>
- 42. Diso S., et al. Actividad antibacteriana y detección fitoquímica de extractos de tallo y hojas de *Mangifera indica* (mango) en aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. Revista de Avances en Ciencias Médicas y Farmacéuticas
- 43. Ogidi I., et al. Evaluación de la actividad antimicrobiana y las propiedades fitoquímicas bioactivas de los extractos de corteza de tallo de mango (*Mangifera Indica*). International Journal of Pharmacognosy 8.5 (2021): 189-195.
- 44. Chirayath R., et al. El desarrollo del extracto de hoja de *Mangifera indica* incorporó hidrogel de carbopol y su eficacia antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*. Coloides y superficies B: Biointerfaces 178 (2019): 377-384.https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.034

# **Anexos**

#### ANEXO A: Instrumentos de recolección de datos

Tabla A: Determinación fitoquímica del extracto etanólico de hojas de *Mangifera* indica L (mango de la región)

IDENTIFICACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS				
Metabolitos Secundarios	Reactivos	Resultados		
Polifenoles				
Flavonoides				
Antocianinas				
Taninos				
Saponinas				

#### Donde:

- (-) Ausente
- (+) Escaso
- (++) Leve
- (+++) Moderado
- (++++) Abundante

Tabla B: Instrumento de recolección de datos de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de Mangìfera indica L (mango de la región)

CEPAS	Stafilococo		ococ	cus aureus	Estándar		r	
Concentración del extracto	н		Н	lalos de inhibición (mm)				
acuoso		núme ensa		х		n		х
(%)		robio		(promedio)				
	1	2	3		1	2	3	
75								
50								
25								

#### Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983) (37)

(-) Nula: Diámetro (< 8 mm)

(+) Sensible bajo: Diámetro (8 - 14 mm)

(++) Medio (muy sensible): Diámetro (14 - 20 mm)

(+++) Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)

ANEXO B: MATRIZ DE CONSISTENCIA: Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de Mangifera indica L (mango de la región) frente a Stafilococcus aureus

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿El extracto etanólico de hojas de Mangìfera indica L (mango de la región) poseerá actividad antimicrobiana frente a Stafilococcus aureus?	Evaluar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L (mango de la región) frente a Stafilococcus aureus	El extracto etanólico de hojas de Mangifera indica L (mango de la región) presenta actividad antimicrobiana frente a Stafilococcus aureus
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
≟¿Qué metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana estarán presentes en el extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L (mango de la región)?	Identificar los metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana que estarán presentes en el extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L (mango de la región)	El extracto etanólico de hojas de Mangifera indica L (mango de la región) presenta metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana frente a Stafilococcus aureus
A qué concentración del 25%, 50%, y 75% el extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L (mango de la región) poseerá actividad antibacteriana frente a Stafilococcus aureus	Determinar la máxima concentración del extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L (mango de la región) al 25%, 50%, y 75%nque poseerá actividad antibacteriana frente a Stafilococcus aureus.	El extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L (mango de la región) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta actividad antibacteriana frente a Stafilococcus aureus
≟¿Cuál será la susceptibilidad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L (mango de la región) a una concentración del 25%, 50%, y 75% en comparación con Ciprofloxacino frente a Stafilococcus aureus	Evaluar la susceptibilidad antibacteriana de las cepas de Stafilococcus aureus frente al extracto etanólico de hojas de Mangifera indica L (mango de la región) a una concentración del 25%, 50%, y 75% comparados con Ciprofloxacino.	El extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L (mango de la región) en las distintas concentraciones del 25%, 50%, y 75% presenta mejor susceptibilidad antibacteriana frente a Stafilococcus aureus en comparación con Ciprofloxacino.

#### PROCEDIMIENTO PARA COLECTA DE DATOS USANDO LA GUIA DE OBSERVACION:

- Recolección de la muestra vegetal
   Certificación de la especie vegetal
   Marcha fitoquímica del extracto acuoso de Vaccinium corymbosum L. (arándano azul)4. Actividad antibacteriana del extracto acuoso de Vaccinium corymbosum L. (arándano azul)

## ANEXO C: Matriz de operacionalización de variables

Título: Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de Mangifera indica L (mango de la región) frente a Stafilococcus aureus

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICION	N° ITEMS	VALOR
VARIABLE INDEPENDIENTE  Extracto etanólico de hojas de Mangìfera indica L (mango de la región)	Extracto obtenido sometiendo las hojas desecadas y fragmentadas en maceración en etanol	Concentración del extracto etanólico de hojas de <i>Mangifera indica</i> L (mango de la región	Tamizaje fitoquímico	Presencia de metabolitos secundarios	Nominal	Antocianinas     Flavonoles     Compuestos fenólicos     Taninos     Alcaloides     Antraquinonas     Azúcares reductores	++++ Abundante +++ Moderado ++ Leve + Escaso
			Concentración del extracto etanólico	1)Extracto etanólico al 25% 2)Extracto etanólico al 50% 3)Extracto etanólico al 75%	Continua	1) 25% 2) 50% 3) 75%	Porcentaje
VARIABLE DEPENDIENTE Actividad antimicrobiana	Es la capacidad que posee un extracto, en este caso de origen vegetal, de inhibir el crecimiento de microorganismos	La actividad antibacteriana será medida determinando la inhibición del crecimiento de las bacterias	Microbiológico	Medición de los halos de inhibición	Continua	número de ensayos microbiológicos.	(-) Nula: Diámetro (< 8 mm) (+) Sensible bajo: Diámetro (8 - 14 mm) (++) Medio (muy sensible): Diámetro (14 - 20 mm) (+++) Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)

#### ANEXO D: CERTIFICACIÓN TAXONÓMICA

"Madre de Dios Capital de la Biodiversidad del Perú"

# CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECIMENES VEGETALES

El que suscribe, **Dr. HERNANDO HUGO DUEÑAS LINARES**, Especialista Forestal en Identificación Taxonómica de especies de flora silvestre, mediante Resolución Directoral N° 054-2017-SERFOR/DGGSPFFS-DGSPF, con Código de Licencia LC-ES-2017-009; del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR.

CERTIFICA, que los ejemplares (05) presentados por las señoritas BACHILLERES: DEINA LUZVITH MOREANO HUANUIRE y LIZETH QUISPE BALTAZAR, de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad María Auxiliadora; para su identificación y/o determinación, para efectos del proyecto de tesis de investigación de tesis intitulado:

"ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE Mangifera indica L. (Mango de la región) FRENTE A Staphylococcus aureus"

Corresponde a los siguientes taxa aceptados oficialmente:

Г	NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	FAMILIA
	Manguifera indica L.	"Mango de la región"	ANACARDIACEAE

De acuerdo a la descripción de sus características vegetativas y reproductivas, las que están registrada para la Flora de Perú: Departamento de Madre de Dios; en el Catálogo de Angiospermas y Gimnospermas del Perú de Lois Brako and James L. Zarucchi (1993), al APG IV (Angiosperm Phylogenetic Group, 2016) y en el Taxonomic Name Resolution Service v4.0. (2022). Se expide el presente certificado a solicitud de las interesadas para los fines que considere conveniente. Se anexa al presente Certificado de Identificación los datos correspondientes a la especie en formato Excel.

Puerto Maldonado, 08 de agosto de 2022.

Dr. Hugo Dueñas Linares. ESFECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN TAYONÓMICA DE FLORA SILVESTRE Código LIC-ES-2017-009

Jr. Cajamarca 1328, Puerto Maldonado-Madre de Dios-Perú Email: <u>huduli\_hugo@yahoo.es</u> Cel: 956-740299



# IDENTIFICACION TAXONOMICA DE ESPECIMENES VEGETALES AGOSTO DE 2022

TESIS: "ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE Mangifero indica L. (Mango de la región) FRENTE A Staphylococcus aureus "

Señoritas Bachilleres: DEINA LUZVITH MOREANO HUANUIRE & LIZETH QUISPE BALTAZAR UNIVERSIDAD MARIA AUXILIADORA

Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

	*	4
Referencias:  Vouchers colección: DANHSLOB, DB/08/2022  Vouchers Herbario San Marcos (HSM), 2022  Vouchers Herbario MOL, 2022  Vouchers Herbario "Alwyn Gentry", 2022  Taxonomic Resolution Service v4,0, 2022  The Plant List, 2022	Manguillers indics L	NOMBRE CIENTÍFICO
, 08/08/2022 (HSM), 2022 Hy*, 2022	"Mango de la región" ANACARDIACEAE	NOMBRE COMÚN
	ANACARDIACEAE	FAMILIA
DI: riugo I ESFEDALISTI COMONICA COMONICA	Árboi	навіто
Dr. Hugo Dueñas Limakes ESFECALGIA EN DENTRICACIÓN INVONCIA DE FLORA SAVESTRE Código LIC-ES-2017-009	Bosque	навитат
MODERATE SERVING NO SE	Provincia Tambopata, Dpto Madre de Dices	LOCALIDAD
Especia p	DV984WG	Colectores
Puerto Maldonado, 08 de agosto de 2022 Dr. Hernando Hugo Dueñas Unares Especialista en ID Taxonómica de Flora Silvestro RD N° 054-2017-SERFOR/DGGSPFF5-DGSPF Código Licencia LC-EC-2017-009	07/08/3022	Fecha Coll
, O8 de a o Dueña ómica de oa/boso a LC-EC-;	Đ.	ō
gosto de 2022 L'Unares Flora Silvestre PFS-04589 1017-009	08/08/2022	ECHA ID

Tropicos, Missouri Botanical Garden, 2022

#### ANEXO E. ATCC Staphylococcus aureus 25923.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release CE Upon Helease
Expiration Date: 2024/2/29
Release Information:
Quality Control Technologist: Kassandra L Hall
Release Date: 2022/3/22 Specifications
Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
Catalog Number: 360-56e\*\*
Reference Number: ATCC® 25923™\*
Passage from Reference: 3 Performance Macroscopic Features: Medium: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, SBAP smooth, opaque, beta hemolytic Method: Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters Gram Stain (1) Other Features/ Challenges: Results ID System: MALDI-TOF (1) (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive See attached ID System results document. (1) Beta Lectamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm

> Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE

"Disclaimer. The list digits) of the lot number appearing on the product label and packing slip are manuly a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base for number.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.





- The ATCC Licensed Derivative Entitiem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to self-products derived from ATCCS.
- (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



TESTING CERT #2655.01

© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 Page 1 of 1 DOC.286

#### **Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**



#### Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	TO SEE STANDARD WHITE WAYN A	(-)	red

#### Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which gehus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time:

2022-03-15T10:50:05:397 KLH

Applied MSP Library(ies):

BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D5 (+++) (A)	360-556	Staphylococcus aureus	2.43

Comments:

N/A	
COP .	

#### ANEXO F. EVIDENCIAS FOTOGRÁFICAS DEL TRABAJO DE CAMPO

#### 1. Proceso de selección y lavado

Se seleccionó las hojas en buen estado y se realizó un lavado superficial con agua potable.





#### 2. Proceso Secado:

El secado de las hojas se realizó bajo sombra a temperatura ambiente durante 10 días.





#### 3. Molienda:

En esta etapa se procedió a moler el total de la muestra seca.





#### 4. Maceración:

 Se pesó 100g de hojas de mango molidas por duplicado y se trasvasó a dos recipientes de vidrio para la maceración hidroalcohólica.





 Se agregó 450mL de etanol al 70% a ambos frascos de vidrio de 500mL para el inicio de la maceración.





El macerado permaneció durante 14 días a temperatura ambiente.



#### 5. Filtración:

Transcurridos los 14 días, se filtró el sobrenadante utilizando papel filtro para la etapa de evaporación, recuperándose 400ml de macerado aproximadamente.







#### 6. Evaporación:

Se procedió con la evaporación del filtrado utilizando una estufa a 50°C hasta alcanzar el punto mayor de concentración (extracto seco).







#### 7. Análisis fitoquímico del extracto:

Se realizó el análisis fitoquímico del extracto utilizando el método descrito en el Anexo A (CARACTERIZACION FITOQUÍMICA DE PROSOPIS FLEXUOSA, 2013)

a. Prueba de Taninos - Positivo (++):



b. Prueba de OH fenólicos - Positivo (++):



c. Prueba de Lípidos - Positivo (+++):





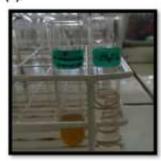
 d. Prueba de saponinas poder tensoactivo – Positivo (+++):



e. Prueba de saponinas poder emulsificante – Positivo (+):



f. Prueba de flavonoides Shinoda – Positivo
 (+):



g. Prueba de flavonoides AlCl<sub>3</sub> - Negativo (-):



j. Prueba de Antraquinonas Naftoquinona Bortrager- Positivo (++):



j. Prueba de flavonoides Acetato/Plomo – Positivo (++):



 k. Prueba de aminogrupos Reaccion ninhidrina – Positivo (+):



 Prueba de Alcaloides Dragendroff – Positivo (+++):





extracto etanólico de Mangifer indica L. en las concentraciones de 25, 50% y 75%.

#### 8. Actividad antibacteriana

## 8.1 Preparación del material operativo

a) Preparación del medio de cultivo Agar Mueller Hinton



Se esteriliza en Autoclave durante 15 minutos a 121°C y se vierte en placa esterilizada 25ml

- b) Preparación de discos de difusión:
- Se utiliza papel Watman  $N^\circ$  3, se selecciona con ayuda de perforador, se obtiene discos de 6 mm. De diametro.



- Se esteriliza en placa petri grande, en autoclave, durante 15 minutos a 121°C.



#### c. Preparación de Cepa:

- La cepa solicitada Contiene dos tubos de cepa liofilizada. Se abre el tubo, que Contiene una parte superior el hidratante de la cepa.
- Con el hisopo que contiene la cepa, se extiende en la placa y en el tubo con caldo para su reproducción.





#### d. Preparación de Implementos:

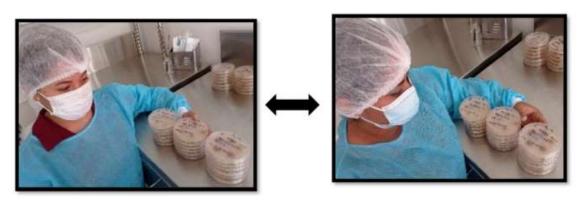
 Se necesita pinzas de punta aguda. Se esterilizan en autoclave durante 15 minutos a 121°C. Se utiliza micropipeta de 5 – 50 µL. com capuchones estériles.



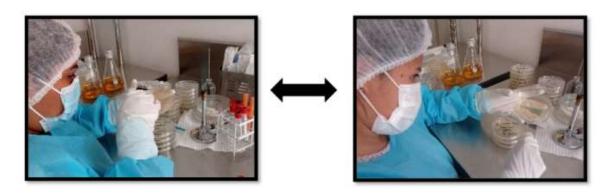
# 8.2 Proceso de ensayo microbiológico



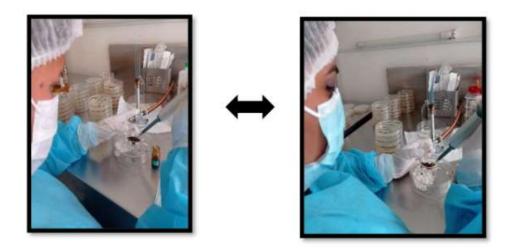
Hidratación de la cepa



6 placas por cada concentración



Siembra por agotamiento en superficie



#### 9. Lectura de resultados



