



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VICERRECTORADO DE
INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE DIFERENTES
EXTRACTOS DE HOJAS DE MANGIFERA INDICA LINN
(MANGO) SOBRE CEPA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS
ATCC 6538**

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTORA:

Cardenas Roque, Victoria Soledad

ASESOR:

Dr. Mendoza Lupuche, Román

JURADO:

Dr. Sotomayor Mancicidor, Oscar Vicente

Mg. Liebano Segura, Renán Lázaro

Mg. Peltroche Adrianzén, Nimia Olimpia

Mg. García Rupaya, Carmen Rosa

Lima - Perú

2019

Agradecimientos

Agradezco en primer lugar a mi familia quienes siempre han sido mi ejemplo a seguir y mi apoyo día a día en mi carrera profesional hasta concluir la satisfactoriamente. Gracias también a mis asesores y docentes que me han acompañado y guiado para la realización satisfactoria de este proyecto. Igualmente gracias a Dios por darme salud a mí y a mi familia y la perseverancia que he necesitado para llegar hasta aquí.

Dedicatoria

A mis padres Alcides y Soledad, mi hermano y mi abuelita por estar conmigo durante mis años de carrera universitaria y darme ánimos cada vez que lo necesité. A Dios por darnos siempre salud y persistencia.

Índice

I.	Introducción.....	7
	1.1 Descripción y formulación del problema.....	8
	1.2 Antecedentes.....	10
	1.3 Objetivos.....	14
	- Objetivo General.....	14
	- Objetivos Específicos.....	14
	1.4 Justificación.....	14
	1.5 Hipótesis.....	15
II.	Marco teórico.....	16
	2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	16
III.	Método.....	32
	3.1 Tipo de investigación.....	32
	3.2 Ámbito temporal y espacial.....	32
	3.3 Variables.....	32
	3.4 Población y muestra.....	33
	3.5 Instrumentos.....	34
	3.6 Procedimientos.....	34
	3.7 Análisis de datos.....	36
	3.8 Consideraciones éticas.....	37
IV.	Resultados.....	38
V.	Discusión de resultados.....	44
VI.	Conclusiones.....	47
VII.	Recomendaciones.....	48
VIII.	Referencias.....	49
IX.	Anexos.....	58

Resumen

El objetivo de la presente investigación fue comprobar la actividad antibacteriana in vitro de diferentes extractos de hojas de planta de *mangifera indica linn* (mango) sobre cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Este estudio fue de tipo experimental, in vitro, determinó la actividad antibacteriana de 4 diluciones (extractos etanólico e hidroalcohólico al 50% y 100%) sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 comparando con el control positivo (clorhexidina 0.12%) y negativo (alcohol 96°) en cultivos de agar Müller Hinton usando el método de difusión de Kirby Bauer pozos tomando 8 repeticiones por cada grupo de estudio e incubando los cultivos a 37°C por 24 horas. Se comprobó que efectivamente los 4 extractos poseen actividad antibacteriana con halos de inhibición entre 21mm y 35 mm encontrándose diferencias significativas entre ellos y con el control positivo. En conclusión, extractos de hojas de mango son potentes antibacterianos, demostrando ser más eficaz el extracto hidroalcohólico al 100% confirmando así la presencia de constituyentes activos en plantas medicinales.

Palabras clave: Actividad antibacteriana, fitoterapia, *mangifera indica linn*, extractos, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

The aim of the present research was to verify the in vitro antibacterial activity of different leaves extracts of *mangifera indica linn* (mango) plant on *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 strain. This study was of experimental type, in vitro, determined the antibacterial activity of 4 dilutions (ethanolic and hydroalcoholic extracts at 50% and 100%) on *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 cultures compared to the positive control (clorhexidine 0.12%) and negative (alcohol 96°) in Müller Hinton agar cultures using the Kirby Bauer well diffusion taking 8 repetitions for each study group and incubating the cultures at 37°C for 24 hours. It was verified that effectively the 4 extracts have antibacterial activity with halos of inhibition among 21mm and 35 mm, finding significant differences among them and with the positive control. In conclusion, mango leaves extracts are powerful antibacterial, proving to be more effective hydroalcoholic extract at 100% thus confirming the presence of active constituents in medicinal plants.

Key words: Antibacterial activity, phytotherapy, *mangifera indica linn*, extracts, *Staphylococcus aureus*.

I. Introducción

La presente investigación aborda la problemática de la resistencia bacteriana, un problema de salud pública que involucra a la población mundial. Esto debido a que bacterias causantes de enfermedades infecciosas se tornan resistentes a los antibióticos por lo que la ciencia se ha visto en la situación de tomar medidas como el desarrollo de nuevos antibacterianos que permitan hacer frente a estas bacterias multirresistentes. Por otro lado, la medicina tradicional viene adquiriendo cada vez mayor fuerza ya que gran variedad de plantas demuestran tener propiedades biológicas para las diferentes afecciones que presenta el hombre, por lo que existiendo una gran fuente empírica de principios activos, es conveniente aclarar dichas propiedades.

En el trabajo de investigación se buscó evaluar el efecto antibacteriano de diferentes extractos de hojas de *Mangifera indica linn* (mango) sobre la cepa de *Staphylococcus aureus*, lo que nos dio una visión del potencial de las plantas. Esto es importante ya que se aporta evidencia científica al perfil de la planta de mango oriunda del norte peruano y así esta pueda ser incluida como una fuente alternativa en la producción de nuevos antibacterianos.

Se emplearon investigaciones actualizadas sobre propiedades antibacterianas atribuidas al árbol de mango, que permitieron definir el procedimiento a seguir para obtener resultados que logren comprobar los objetivos planteados y así responder a la interrogante que promovió el estudio.

La presente investigación fue de tipo experimental, prospectivo y se utilizó la prueba t de Student y la prueba F a través de la técnica de análisis de varianza (ANOVA) para la comprobación de los objetivos.

1.1 Descripción y formulación del problema

Actualmente, la resistencia bacteriana aumenta a niveles peligrosos mundialmente ya que día a día aparecen nuevos mecanismos de resistencia lo que reduce la capacidad de controlar infecciones comunes. Esto provocado por el uso inadecuado y excesivo de fármacos además de deficiencias en la prevención y control de infecciones. Al no poderse usar antibióticos de primera línea es preciso el uso de medicamentos más caros lo que eleva los costos para la familia y la sociedad (OMS, 2018).

En Odontología el uso de antibióticos está justificado en presencia de infecciones odontogénicas y como profilaxis en pacientes de riesgo. Dentro de las infecciones de importancia estomatológica, bacteriemias y osteomielitis son comunes como consecuencia de procedimientos odontológicos invasivos cuyo origen multifactorial incluye una microflora muy variada encontrándose microorganismos oportunistas como *Staphylococcus aureus*, el cual está relacionado con el inicio de estas enfermedades (Cervantes, García y Salazar, 2014).

Cachay, de la Flor y Schwalb (2018) refieren que en tres hospitales de Lima del 2011 al 2014 se presentaron un total de 150 casos de bacteriemias por *S. aureus* donde el mayor porcentaje fue debido a MRSA. En el Hospital Nacional Arzobispo Loayza los procedimientos odontológicos representaron una comorbilidad frecuente con un 9% para el desarrollo de endocarditis infecciosa. Y en el INSN del 2008 al 2013 se presentaron 17 casos de osteomielitis de los maxilares donde la caries dental fue la etiología más frecuente (Romaní, Cuadra, Atencia, Vargas, y Canelo, 2009; Oré y La Torre, 2013).

El enfoque terapéutico de estas infecciones se basa en procedimientos quirúrgicos y terapia antibiótica por lo que el impacto de esta cepa sobre la salud es la resistencia que puede presentar frente a los antibióticos y debido a que es parte de la flora normal humana se incrementa el riesgo de diseminación. En los últimos años se ha observado un incremento de

cepas de MRSA en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. Actualmente el uso de antibióticos se usa como tratamiento frente a estas infecciones, sin embargo no es seguro el sostenimiento de su eficacia a lo largo de los años debido a los cambios estructurales innatos de los microorganismos por la supervivencia (Sandival, Mucching, Champi y Alvarado, 2015).

Por otro lado, desde 2002 hasta la actualidad la OMS viene promoviendo la utilización apropiada de los sistemas tradicionales de medicina con el objetivo de establecer con base científica el uso de la medicina natural. A nivel mundial, la medicina tradicional y complementaria viene tomando un papel muy importante en la prevención y tratamiento de enfermedades (OMS, 2013).

En los últimos años investigaciones presentan diversas plantas medicinales de interés estomatológico, entre ellas *Mangifera indica linn*, a la cual se le atribuyen propiedades antibacterianas debido a su principio activo que es la mangiferina. Al ser el compuesto fenólico más abundante en la planta tiene la capacidad de inhibir o bloquear el crecimiento de microorganismos. Bacterias causantes de patologías orales como *S. mutans*, *E. faecalis*, *C. albicans*, *S. aureus* y *E. coli* han demostrado ser susceptibles frente a *mangifera indica linn* y hasta ha disminuido el recuento bacteriano y la inflamación gingival en un grupo de pacientes (Imran *et al.*, 2017; Anand, Ravinanthan, Basaviah y Shetty, 2015; Bhat, Hegde, Mathew, Bhat y Shyamjith, 2017).

La ventaja de la planta de elección para el presente estudio se debe a que existe una formulación comercial ampliamente usada en Cuba y en estudio actualmente para diferentes enfermedades como estomatitis, alveolitis, etc. denominada Vimang®, el cual es un extracto acuoso de corteza de árbol de mango que contiene mangiferina como componente fenólico mayoritario (Del Toro, Díaz, Ferrer, Céspedes y González, 2014; Rodríguez, Ramires, Crespo, Ocaña y López, 2012).

Por lo expuesto anteriormente, este estudio tiene como propósito principal evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes extractos de hojas de mango provenientes del norte peruano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 de manera que se pueda aportar evidencia científica al perfil de esta planta y pueda ser incorporada como una futura posible fuente de agentes antibacterianos.

Esto, es muy importante para demostrar el efecto que tiene ésta planta frente a la bacteria, para ello es necesario responder la pregunta: ¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* de diferentes extractos de hojas de *mangifera indica linn* (mango) sobre cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?

1.2 Antecedentes

Bhat *et al.* (2017) en India realizaron una investigación para comparar la eficacia de un enjuagatorio bucal de hojas de mango y un enjuagatorio de clorhexidina sobre el estado de placa, estado gingival y recuento de *Streptococcus mutans* salivales. A una población de 20 niños se les dividió en grupo A (enjuagatorio herbal) y grupo B (clorhexidina). El ensayo clínico fue realizado media hora después de usar el enjuagatorio durante 5 días. Se encontró una disminución significativa del recuento bacteriano, mejoría del control de placa y salud gingival en ambos grupos, con mejores resultados en el grupo clorhexidina. En conclusión los enjuagues naturales prueban ser una alternativa efectiva y segura frente a los tratamientos convencionales.

Diso, Ali, Mukhtar y Garba (2017) en Nigeria realizaron una investigación con el fin de comprobar la actividad antimicrobiana de hojas y corteza del árbol de mango y su mayor constituyente antimicrobiano. Realizaron un extracto acuoso y cloroformo y lo evaluaron usando el método de difusión contra *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina. Los resultados mostraron altas zonas de inhibición, que oscilan entre 11 y 17 mm a la mayor

concentración (120mg/ml). Según el análisis fitoquímico los extractos contienen alcaloides, taninas, terpenoides, flavonoides, esteroides, saponinas y fenoles. En conclusión, las hojas y corteza del mango podrían ser usados como agentes antibacterianos contra *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina.

Guerra y Román (2016) en Ecuador publicaron un estudio en el cual evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de hojas de mango, variedades: Tommy Atkins 90% por maceración, Tommy Atkins 50% por digestión y Edward 50% por ultrasonido a concentraciones 10%, 25%, 50%, 75% y 100% frente a 5 bacterias incluida *S. aureus* mediante el método Kirby Bauer (discos y pozos) determinándose la CMI y la CMB. Los resultados mostraron halos de inhibición de 13.7 mm frente a *S. aureus* con el extracto hidroalcohólico Tommy Atkins 50% por digestión. En conclusión, las hojas de mango mostraron actividad antimicrobiana frente a las cepas evaluadas y los halos de inhibición fueron mayores utilizando el método de Kirby Bauer-pozos.

Anand *et al.* (2015) en India evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de nuez y mango a 20mg/ml sobre cepas bacterianas y hongos selectivos. Los extractos obtenidos por maceración fueron evaluados mediante el método disco difusión contra *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. mutans*, *E. coli* y *C. albicans*. Se evidenció una media de halo de inhibición de 14.67 ± 1.15 mm para *S. aureus*, siendo menos efectivo que la clorhexidina y superior a la povidona-yodada. Se concluyó que el extracto etanólico de mango demostró tener actividad antimicrobiana efectiva sobre los microorganismos evaluados y esto puede atribuirse a la presencia de componentes bioactivos en las hojas.

Meneses y França (2014) en Brasil realizaron un estudio con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* de un extracto hidroalcohólico de hojas de mango. Se usó el método de difusión en disco Müller Hinton en medio gelosado midiendo en mm el diámetro

de las zonas de inhibición. Los resultados revelaron que el extracto hidroalcohólico a diferentes concentraciones creó halos de inhibición alrededor de los discos siendo más eficiente sobre *Staphylococcus aureus* a la concentración de $500 \mu\text{g} \cdot \text{disco}^{-1}$ con 29.7 ± 0.00 . El estudio concluye que el extracto de esta planta presentó actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* aportando evidencia científica a su uso en la terapéutica.

Sahrawat, Pal y Shahi (2013) en India realizaron una investigación con el objetivo de corroborar la actividad antibacteriana de un extracto de hojas de *Mangifera indica* sobre cepas bacterianas drogo-resistentes. Se elaboraron extractos de metanol, etanol y benzeno a partir de las hojas y se determinó la sensibilidad frente a *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Shiguella flexnerii*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella typhi* usando el método de disco difusión y se calculó el porcentaje de inhibición de crecimiento bacteriano mediante fórmula. Como resultados se halló que todos los extractos formaron un porcentaje de inhibición de crecimiento contra las cepas estudiadas que oscila entre 0-85.1% y se concluyó que el extracto de hojas de mango mostró buena actividad antibacteriana contra cepas drogo-resistentes.

Madduluri, Babu y Sitaram (2013) en India llevaron a cabo una investigación con el fin de determinar propiedades antimicrobianas de cinco plantas indígenas. Se realizaron extractos de metanol y etanol a la concentración de 100mg/ml a partir de las hojas de *Piper betle* L., *Punica granatum* L., *Psidium guajaba* L., *Gloriosa superb* L. y *Mangifera indica* L. y se midió la zona de inhibición sobre *S. aureus* mediante el método de agar disco difusión y la CMI. Los extractos etanólico y metanólico de *mangifera indica* formaron halos de 17 ± 0.5 y 14.2 ± 1.5 , respectivamente. Como conclusión, se obtuvo que las hojas de *Piper betle*, *Gloriosa superb* y *Mangifera indica* exhibieron la mayor actividad antimicrobiana a menor concentración contra cepas gram-positivas y gram-negativas.

Prasad (2013) en India realizó un estudio con el objetivo de determinar la actividad antimicrobiana y el perfil fitoquímico de diferentes extractos de hojas de mango. Extractos de metanol, acetona, hexano, etil acetato, hexano-etil acetato y acuoso al 20% fueron usados sobre 9 bacterias incluida *S. aureus*, de los cuales el extracto de acetona y etil acetato formaron halos de 19mm y 13 mm, respectivamente. De este estudio se puede concluir que diferentes extractos como etil acetato y acetona de hojas de mango exhiben actividad antimicrobiana probablemente debido a la presencia de fitoconstituyentes.

Hannan *et al.* (2013) en Pakistán, la actividad antimicrobiana de un extracto de acetona de hojas de mango a 50mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml y 250 mg/ml fueron evaluadas contra 50 aislamientos de *Salmonella typhi* (30 multidrogo-resistente y 20 antibiótico sensible) con el método de agar difusión y la CMI mediante la técnica agar dilución. El extracto mostró ser efectivo contra la cepa estudiada ya que logró formar halos de inhibición entre 15.5 ± 3.5 mm - 19.75 ± 3.75 mm alrededor de los discos a diferentes concentraciones y se determinó una CMI de 10-50 mg/ml lo que en conclusión propone a las hojas de mango como una fuente alternativa de abastecimiento para el desarrollo de nuevos agentes antibacterianos.

Islam, Mannan, Kabir, Islam y Olival (2010) en Bangladesh llevaron a cabo un estudio con el propósito de investigar las propiedades analgésica, antiinflamatoria, antibacterial y antifúngica del extracto etanólico de hojas de *mangifera indica*. Para la actividad antibacteriana se usó el método disco difusión contra seis bacterias gram positivas: *S. aureus*, *S. agalactiae*, *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. subtilis* y *L. vulgaricus* mostrando halos de inhibición de 7 mm, 7.5 mm, 11.5 mm, 8.5 mm, 9 mm y 9.5 mm respectivamente y contra dos bacterias gram negativas: *S. flexneri* y *S. sonnei* con halos de inhibición de 9.5 mm para ambas. En este estudio se concluyó que el extracto etanólico de hojas de mango posee

moderada actividad contra bacterias gram positivas y pobre actividad contra bacterias gram negativas.

1.3 Objetivos

Objetivo General

Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de diferentes extractos de hojas de *mangifera indica linn* (mango) sobre cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Objetivos Específicos

1. Evaluar el halo de inhibición de los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50% y 100%, control positivo (clorhexidina 0.12%) y control negativo (alcohol 96°) a las 24 horas frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
2. Comparar el halo de inhibición de los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50% y 100% a las 24 horas frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
3. Comparar el halo de inhibición entre el grupo de estudio y el control positivo (clorhexidina al 0.12%) a las 24 horas frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
4. Comparar el halo de inhibición entre el grupo de estudio y control negativo (alcohol 96°) a las 24 horas frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

1.4 Justificación

La justificación teórica es verificar si las hojas del árbol de mango que se encuentra en gran cantidad en el norte, tienen la capacidad de actuar como un agente antibacteriano frente a una cepa encontrada en mayor porcentaje en las osteomielitis y bacteriemia.

La justificación metodológica busca identificar efectos farmacológicos y aportar mayor evidencia científica al perfil de la planta de mango sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, de manera que motive a la elaboración de posteriores investigaciones.

La justificación práctica es que posterior a la verificación del efecto antibacteriano, esta planta pueda ser usada como una posible fuente alternativa para la producción de nuevos agentes antibacterianos de origen natural y asequible a la población.

1.5 Hipótesis

H1: “Si las hojas de mango contienen compuestos fenólicos, los cuales poseen actividad antibacteriana, entonces es probable que inhiban el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 en una placa de agar”.

H0: “Las hojas de mango no contienen compuestos fenólicos, los cuales poseen actividad antibacteriana, entonces no es probable que inhiban el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 en una placa de agar”.

II. Marco teórico

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

Staphylococcus aureus.

El género *Staphylococcus* está conformado por cocos grampositivos anaerobios facultativos, de diámetro aproximado de 0.5 a 1.5 μm , pueden encontrarse como células únicas, en pares, en cuatro, en cadenas cortas o formando racimo de uvas. Además son bacterias que no forman esporas, no son móviles y no poseen cápsula aunque algunas si pueden desarrollarla (Cervantes *et al.*, 2014).

Taxonomía.

El género *Staphylococcus* es más cercano a los géneros *Bacillus* y *Streptococcus*. Éste género consta de 35 especies y dentro de ellas 17 se encuentran en el humano formando parte de la microbiota de la piel y mucosas y otras que sólo se encuentran en la flora de mamíferos y aves (Zendejas, Avalos y Soto, 2014).

Patogenia.

La población mundial es portadora de *S. aureus* en fosas nasales entre un 20 y 50% y el 30% lo posee de forma permanente en el tracto gastrointestinal y la piel. *S. aureus* penetra los tejidos más profundos y produce infecciones cuando se rompen las barreras mecánicas (Castañón, 2012).

Factores de virulencia.

S. aureus tiene la capacidad de producir componentes superficiales conocidos como toxinas y enzimas extracelulares, que son capaces de provocar reacciones biológicas en el humano (Zendejas *et al.*, 2014).

Biofilm.

El biofilm o biopelícula es una capa de polisacáridos extracelular homóloga producida por algunas cepas de *S. aureus*. Esta red extracelular sirve de ayuda para la adhesión de la comunidad bacteriana a diferentes superficies, también se encuentra implicado en la persistencia y colonización de esta bacteria en sondas, prótesis y catéteres. Esta biopelícula puede prolongar el tiempo de colonización e infección así como la dispersión a diferentes partes del cuerpo humano (Cervantes *et al.*, 2014).

Cápsula.

Slime o cápsula mucoide, de naturaleza polisacárida es una adhesina capaz de evadir la quimiotaxis, la fagocitosis e inhibir la proliferación de células mononucleares. Son los serotipos 5 y 8 los más frecuentes en las muestras clínicas y causantes de más del 75% de las infecciones. Los polisacáridos capsulares en conjunto con las adhesinas intercelulares aumentan la formación de la biopelícula incrementando así su capacidad de adhesión (Zendejas *et al.*, 2014).

Proteínas de superficie.

Las proteínas de superficie de *S. aureus* tienen una gran importancia en la patogénesis de la infección, además que son imprescindibles en el metabolismo de la pared celular de la bacteria y sirven de unión a los tejidos del hospedero facilitando su internalización y poseen la facultad de eludir el sistema inmune. Estas proteínas se ligan a la matriz extracelular del hospedero y a los constituyentes del plasma mediando la adherencia a una variedad de proteínas del hospedero y se conocen como elementos microbianos de superficie (Castañón, 2012).

Las proteínas de superficie A y B (FnbpA y FnbpB) tienen la función de facilitar la adhesión de la bacteria a los componentes de la matriz extracelular como fibronectina. La

proteína Cna favorece la unión de la bacteria al colágeno de la matriz. Los factores aglutinantes A y B (proteínas ClfA y ClfB) fomentan la aglutinación y adhesión de las bacterias al fibrinógeno. La proteína A característica de esta cepa está vinculada a la pared celular, activa el complemento y bloquea la fracción Fc de las IgG de manera que evita la erradicación del microorganismo por los Ac inhibiendo la opsonización y la fagocitosis (Castañón, 2012).

Pared celular.

El peptidoglucano de la pared celular le otorga tolerancia osmótica y resistencia, facultades biológicas como: actividad endotóxica, elaboración de IL-1 por monocitos, estimula la quimiotaxis y agregación leucocitaria, activa el complemento y estimula la producción de anticuerpos. Es el blanco de acción de los β - lactámicos y glicopéptidos, y los cambios estructurales para la síntesis de peptidoglucano es una respuesta de resistencia frente a los antibióticos (Zendejas *et al.*, 2014).

Enzimas.

La coagulasa ligada tiene la capacidad de convertir el fibrinógeno en fibrina generando así la coagulación del plasma sanguíneo lo que facilita el proceso de sepsis y abscesos. La coagulasa permite discriminar *S. aureus* y su trascendencia en el inicio de la enfermedad consiste en la elaboración de una capa de fibrina alrededor del absceso estafilocócico circunscribiendo la infección evitando así su fagocitosis (Cervantes *et al.*, 2014).

La catalasa desdobra el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre y lo diferencia de *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativos. Esta enzima le otorga protección al microorganismo contra la fagocitosis (Zendejas *et al.*, 2014).

Otras enzimas como nucleasas, lipasas y proteasas son sintetizadas por la mayoría de cepas de *S. aureus*, las cuales se encargan de hidrolizar los ácidos nucleicos y

estafiloquinasas así como destruir los tejidos del hospedero. La penicilasa es otra enzima sintetizada por casi todas las cepas de este microorganismo, ésta es una β -lactamasa que se encarga de inactivar la penicilina hidrolizando el anillo β -lactámico (Cervantes *et al.*, 2014).

Toxinas.

Las toxinas son proteínas extracelulares adicionales de la bacteria que producen una respuesta biológica en zonas alejadas al foco infeccioso, en este grupo encontramos a las hemolisinas alfa, beta, gamma y delta. La hemolisina alfa se considera el prototipo de las citotoxinas formadora de poros, citolítica para células como monocitos, linfocitos, plaquetas, eritrocitos y células endoteliales, además intervienen en el desarrollo de edema y daño tisular debido al cambio de permeabilidad en las células endoteliales (Castañón, 2012).

Infecciones estafilocócicas.

Las infecciones por *S. aureus* se desarrollan a partir de la profundización de esta bacteria por una solución de la continuidad tisular debido a traumas, lesiones cutáneas o quirúrgicas. Estas infecciones generan material purulento formando abscesos pudiendo causar infecciones menores de la piel y tejidos blandos e infecciones invasoras como: infecciones del sistema nervioso central, tracto respiratorio, gastrointestinal y urinario, bacteriemia y osteomielitis (Castañón, 2012).

Esta bacteria es comúnmente aislada de infecciones post-cirugía, abscesos cutáneos y celulitis purulenta. Las celulitis por *S. aureus* incluyen áreas como extremidades inferiores y superiores, pared abdominal y rostro. Fascitis necrotizante es otro síndrome cutáneo causado por *S. aureus* (Tong, Davis, Einchenberger, Holland y Fowler, 2015).

La bacteriemia por *S. aureus* está relacionada con el uso de catéteres y otros procedimientos invasivos en los hospitales. La bacteriemia desencadena importantes complicaciones secundarias como infecciones metastásicas y endocarditis. De un 5 a 20% de

pacientes con bacteriemia desarrollan endocarditis infecciosa según sea hospitalaria o adquirida y esta bacteria es la causa más frecuente de endocarditis infecciosa aguda afectando a las válvulas mitral y aórtica protésicas o nativas (Cervantes *et al.*, 2014).

En infecciones esqueléticas el *S. aureus* es una de las bacterias que con mayor frecuencia las origina ya sea por diseminación hematológica, por contigüidad o por insuficiencia vascular (común en pacientes con diabetes o enfermedad vascular). La osteomielitis es la infección de hueso que resulta en su inflamación y destrucción donde el *s. aureus* es identificado en el 30 a 60% de los casos (Tong *et al.*, 2015).

La osteomielitis de los maxilares presenta como causa principal caries dental que genera una infección odontogénica, también puede presentarse posterior a infecciones periodontales y post-exodoncias siendo así su etiología más frecuente bacteriana, estando presentes *S. aureus*, *Bacteroides*, aerobios gramnegativos, además de *Streptococcus* y presentándose con mayor prevalencia en el maxilar inferior (Oré y La Torre, 2013).

Esta osteomielitis como resultado de una infección odontogénica puede ser por vía directa (dientes y tejidos periodontales) o indirecta (hemática y linfática) y las fases son: fase de reparación en donde se genera una intensa vasodilatación con producción de sustancias vasoactivas y osteoclasia desencadenando una osteitis rarefaciente; fase de necrosis, donde producto de la acción de toxinas bacterianas y fenómenos exudativos se produce una necrosis y formación de sequestros óseos; y fase de condensación, donde se produce una intensa vasodilatación regional al tratar de restablecerse el equilibrio asociado con un estado hiperemia que favorece la mineralización del tejido conectivo que en conjunto con la acción del periostio origina una osteitis condensante (Morán y Cueto, 2001).

Epidemiología.

Un aspecto relevante en salud pública son las infecciones por *S. aureus* reemergentes debido a que la bacteria sufre cambios estructurales y así obtiene resistencia frente a antibióticos comunes, razón por la cual cada cierto tiempo se reportan brotes epidémicos (Zendejas *et al.*, 2014).

A nivel mundial, se observa un incremento en las cifras de bacteriemia por MRSA y en Perú ya se han reportado los primeros casos MRSA de origen comunitario. La frecuencia de colonización nasal de *S. aureus* evaluada en un estudio al norte de la ciudad de Lima fue similar a nivel mundial con un porcentaje de 24.6%, de las cuales el 0.9% fue resistente a meticilina, un 96.4% resistente a penicilina, un 10.9% a eritromicina, un 7.3% a clindamicina y un 4.5% a gentamicina (Carmona, Sandoval y García, 2012; García *et al.*, 2011).

En un estudio realizado en 3 hospitales de Lima-Perú del 2011 al 2014 se registraron 150 casos de bacteriemias por *S. aureus*, siendo 54.7% causado por MRSA y el 45.3% por MSSA. Aunque se evidenció mayor riesgo de mortalidad en pacientes con infección por MRSA este no fue estadísticamente significativo (Cachay *et al.*, 2018).

Romaní *et al.* (2009) refieren que en el HNAL de 33 pacientes con diagnóstico de EI el foco infeccioso dentario representó un 9% como comorbilidad más frecuente y en 11 de estos casos que tuvieron hemocultivo positivo, un 16.6% correspondió a *S. aureus* como más prevalente; siendo letal en un 6% del total de casos. En el Hospital Nacional 2 de Mayo la tasa de letalidad fue de 14.7% y en el 28.5% de los hemocultivos positivos se identificó a estafilococos como agentes etiológicos (Sánchez y Gutiérrez, 2006).

En el INSN del 2008 al 2013 se presentaron 17 casos de osteomielitis siendo la caries dental la etiología más frecuente en el 52.9% (9 casos), traumatismos un 17.6% (3 casos),

complicaciones de exodoncias un 11.8% (2 casos) y otras causas, encontrándose la mayoría de los casos en niños menores de 10 años (Oré y La Torre, 2013).

Tratamiento de las infecciones estafilocócicas.

La remoción del foco infeccioso de origen de la bacteriemia es tan imprescindible como la elección del antibiótico para el éxito del tratamiento tales como: drenaje de abscesos, retiros de cuerpos extraños o tejidos desvitalizados (Tibavizco, Rodríguez, Silva, Cuervo y Cortés, 2007).

Si la cepa aislada en el hemocultivo positivo es sensible a penicilina, la penicilina G es el tratamiento de elección. Si la cepa presenta resistencia a la penicilina pero no a la meticilina, la oxacilina es la elección. Si la cepa aislada es MRSA, el tratamiento de elección es la vancomicina a una dosis inicial de 30 mg/kg/d administrada en 2 a 4 dosis diarias como mínimo 2 semanas para bacteriemias y 8 semanas a más para osteomielitis (Tibavizco *et al.*, 2007).

Clorhexidina.

Junto con la alexidina y las biguanidas poliméricas constituyen el grupo de las biguanidas que son principios activos que tienen un amplio espectro contra bacterias grampositivas y gramnegativas. La clorhexidina es el antiséptico bucal más usado en la actualidad debido a su capacidad de sustentividad y mínima irritación (Sánchez y Sáenz, 2005).

Concentraciones.

La clorhexidina se presenta principalmente en dos concentraciones, al 0.12% y al 0.2%, se recomienda realizar buches con 10 ml de clorhexidina al 0.2% y con 15 ml del producto al 0.12%, ya que la dosis total de clorhexidina liberada en 10 ml al 0.2% es de 20 mg y en 15 ml al 0.12% es de 18 mg (Bascones y Morante, 2006).

Efectos.

Esta actúa sobre la membrana citoplasmática de la bacteria modificando su permeabilidad como resultado a la interacción electrostática con los fosfolípidos ácidos. Se sabe que la absorción por difusión pasiva a través de las membranas se lleva a cabo de manera muy rápida obteniéndose un máximo efecto a los 20 segundos. Cuando es usado a bajas concentraciones produce una alteración de la permeabilidad osmótica de la membrana e inhibición de las enzimas del espacio periplasmático mientras que a altas concentraciones ocasiona la precipitación de proteínas y ácidos nucleicos (Sánchez y Sáenz, 2005).

Su reacción adversa más común es la pigmentación dentaria, materiales de restauración y mucosas, principalmente de la superficie dorsal de la lengua que se sugiere es producto de la interacción entre una molécula, que por un grupo catiónico se une a la superficie dental y por el otro en vez de unirse a bacterias se une a sustancias de la dieta ricas en taninos. Otra reacción adversa es la disgeusia, que podría disminuirse evitando enjuagarse con agua luego del uso de la clorhexidina (Armenta, Serrano, García, Díaz y Acosta, 2016).

Presentaciones comerciales.

La clorhexidina se comercializa para uso en odontología en presentaciones tales como: colutorios, principalmente en concentraciones de 0.12% y 0.2%, también en gel al 0.12% o 0.2% para aplicación en localizaciones específicas y en spray al 0.2% (Bascones y Morante, 2006).

Actividad antibacteriana.

Es la capacidad de determinadas sustancias de eliminar o inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos. El método de agar difusión es muy popular y ha sido usado en varios estudios. Este método involucra la inoculación de la superficie de la placa de agar con la cepa bacteriana en evaluación y el compuesto a ser evaluado puede ser aplicado en discos o

en pozos dentro del agar. Luego de una apropiada incubación según las características de la bacteria, la apariencia de zonas de inhibición de crecimiento alrededor del disco o pozo indica la actividad antimicrobiana (Palombo, 2011).

El halo de inhibición según los criterios establecidos por la escala de Duraffourd señala un resultado nulo (-) para un diámetro menor a 8mm, sensibilidad límite (sensible +) para un diámetro de 8 a 14 mm, medio (muy sensible ++) para un diámetro de 14 a 20 mm y sumamente sensible (+++) para un diámetro mayor a 20 mm (García, 2015).

La metodología científica para el estudio de plantas medicinales comprende primero una revisión bibliográfica exhaustiva de los usos etnofarmacológicos, luego se determina la actividad biológica mediante una evaluación científica *in vitro* o *in vivo*. La siguiente etapa es el estudio fitoquímico el cual permite determinar cualitativamente los grupos químicos presentes y compuesto responsable de dicha actividad, luego los estudios de toxicidad y citotoxicidad y por último el desarrollo de un producto fitoterapéutico (Verde, García y Rivas, 2016).

Mediante el método de difusión en disco o pozo, la actividad antimicrobiana es determinada en forma cualitativa mientras que los métodos de dilución (CMI y CMB) determinan tal efecto de forma cuantitativa (Sánchez, Castillo y García, 2016).

Una desventaja de usar papel filtro Whatman para probar un extracto natural es que este contiene celulosa y ésta grupos hidroxilos libres en cada glucosa por lo que la superficie del disco se vuelve hidrofílica actuando directamente con algunos compuestos catiónicos de los extractos absorbiéndolos en su superficie impidiendo la difusión de éstos en el agar, por tanto se considera que el método de pozo es más sensible (Sánchez *et al.*, 2016).

La efectividad puede variar debido a diversos factores implicados durante el proceso, según Masibo y He (2009) desde factores relacionados con la selección de la planta tales

como origen, edad del árbol y condiciones de almacenamiento de las partes de la planta a usar, así como el tipo de extracción elegido, técnica utilizada para la determinación de la actividad antimicrobiana y cantidad de inóculo son factores que pueden influenciar los resultados de manera contundente (Sánchez *et al.*, 2016).

La actividad de las plantas podría deberse a la composición que presenta como compuestos activos: flavonoides, polifenoles, terpenos, alcaloides, alcoholes de azúcar (como el xilitol con propiedades anticariogénicas) y otros fitoquímicos (Sánchez *et al.*, 2016).

Fitoterapia.

Esta ciencia estudia el uso de productos de origen vegetal con una finalidad terapéutica, con el objetivo de prevenir, mejorar o curar el cuadro patológico (Cañigüeral, Dellacasa y Bandoni, 2003).

Los fitoterápicos son sustancias obtenidas a partir de drogas vegetales (órgano de la planta medicinal que contiene principios biológicamente activos) que pueden ser utilizadas como remedios artesanales en varias fórmulas como cápsulas, comprimidos, pomadas, soluciones acuosas, soluciones hidroalcohólicas, infusiones, entre otros. El crecimiento mundial de la fitoterapia entre los programas preventivos y curativos ha estimulado la evaluación de extractos de plantas para su uso en odontología como en el control del biofilm y en otras afecciones bucales (Soares, 2010).

En Perú, el Ministerio de Salud ha integrado en su estructura el INMETRA que tiene como fin vincular la medicina tradicional y la medicina académica. Y en la región del Amazonas se pueden encontrar varios proyectos de Atención Primaria de la Salud y utilización de plantas medicinales (Cañigüeral *et al.*, 2003).

En odontología, los estudios con productos naturales han incrementado en los recientes años debido a la búsqueda de nuevos productos con elevada actividad farmacológica, menor

toxicidad y alta biocompatibilidad mientras que estos son económicamente accesibles a la población. La aceptación popular de la fitoterapia dirige a buenas perspectivas en el mercado para productos dentales compuestos de sustancias naturales, ya que estos son respaldados por pruebas clínicas y de laboratorio (Soares, 2010).

Corrales, Reyes y Piña (2014) refieren que las plantas son una fuente importante de productos biológicamente activos y citan plantas con propiedades terapéuticas de uso en Estomatología, entre estas plantas exponen a la *Mangifera indica Linn*, comúnmente conocida como mango, como una posible fuente para la producción de medicamentos con compuestos naturales para la resolución de enfermedades bucales (Bussmann y Sharon, 2015).

Fitoquímica.

Esta rama de la ciencia se encarga de estudiar los principios activos presentes en las plantas desde que nació a partir del conocimiento etnobotánico y herbolario. La fitoquímica tiene como objetivos determinar la presencia de sustancias que constituyen a las plantas, su análisis así como la búsqueda de actividades biológicas a partir de éstas (Verde *et al.*, 2016).

Los metabolitos primarios de las plantas son aquellos que intervienen en la nutrición y en los procesos metabólicos importantes de las plantas, estos metabolitos presentes en los vegetales corresponden a: carbohidratos, aminoácidos, ácidos nucleicos, ácidos grasos, clorofilas, aminas e intermediarios metabólicos de las vías anabólicas y catabólicas, los que a su vez producen metabolitos secundarios (Verde *et al.*, 2016).

Los metabolitos secundarios son sustancias que participan de forma indirecta en el desarrollo o crecimiento ya que son innecesarias para la existencia de un organismo. Éstos incluyen: terpenoides, esteroides, compuestos fenólicos – flavonoides, cumarinas, quinonas,

lignanós, alcaloides, saponinas, glicósidos cianogénicos, glicósidos cardiotónicos, iridoides (Verde *et al.*, 2016).

La concentración de los principios activos en las plantas es relativamente pequeño oscilando entre 0.1 a 2.0% y en algunos casos menor a 0.01% y gran porcentaje de estos están comprendidos dentro de los llamados metabolitos secundarios. Se conoce que estos metabolitos secundarios no son indispensables y no se les ha descubierto aún alguna función metabólica en la cual intervengan por lo que se les considera como artículos de lujo en la planta (Lock, 1994).

Mangifera indica linn.

Es un gran árbol de hoja perenne, pertenece a la familia *Anacardiaceae*, y crece a una altura de 10 – 45 m. Las hojas son espirales organizadas en ramas, lineal-oblonga, lanceolada-elíptica y miden aproximadamente 25 cm de largo y 8 cm de ancho (Shah, Patel, Patel y Parmar, 2010).

Historia.

El origen del mango se ha establecido en Asia, exactamente en la región Indio-Burmese, en las cuestas del Himalaya. Este fruto se cultiva desde aproximadamente más de 6000 años y es considerado como el fruto tropical más antiguo cultivado por el hombre. Se señala que las raíces del vocablo mango es sanscrito, lengua indoeuropea que se conserva en los textos sagrados, que significa “de la gente” o “del pueblo”. También se dice que el nombre del fruto deriva del portugués “manga” (Garrido y Valdés, 2012).

El mango en Perú.

Respecto a la introducción del mango al Perú, se carece de datos precisos pero es probable que fueron traídos por vía marítima desde las Antillas y Centro de América a fines del siglo XVIII o principios del XIX. Las variedades de la costa no están clasificadas, ni tienen

características uniformes y se les conoce por nombres empíricos referidos con frecuencia al lugar de procedencia. El mango criollo es la variedad más común de la costa, de forma oval, mide entre 6 y 8 cms, color amarillo claro, pepa grande, pulpa fibrosa y excelente sabor. Esta variedad abunda en el Norte donde es raro encontrar otra variedad. Otras variedades de la costa también son: chato de Ica, mango de came de Ica y mango de trementina de Ica (Telge, 1961).

Se puede considerar al departamento de Piura como el mayor productor de mango debido a sus condiciones favorables de clima y ausencia de enfermedad. Mayormente posee árboles adultos mayores a 25 años y generalmente estas plantas no usan fertilizantes (Telge, 1961).

Suelos y clima.

El árbol de mango no es exigente en cuanto a suelos, adaptándose a características variadas. Los suelos arcillosos, ricos en humus y profundos son ideales y su mayor exigencia es un buen drenaje. Esa planta crece mejor en lugares secos y calurosos como Piura e Ica, ya que la humedad excesiva favorece el desarrollo de enfermedad y las estaciones alternas favorecen el desarrollo vegetativo siendo seca algunos meses antes de la floración y húmeda durante la producción de fruta. Anualmente la precipitación fluctúa entre 500 y 2500 mm sin peligro y los periodos cortos de frío no afectan a las plantas adultas aunque las consecuencias podrían ser graves si la temperatura se mantiene bajo cero. Idealmente la temperatura no debe bajar de 15°C en invierno y debe tener un promedio de 28°C aproximadamente durante los meses de floración y crecimiento de la fruta (Telge, 1961).

Producción y cosecha.

En la Costa Norte la producción de mango corresponde principalmente a las variedades criollo, Haden y Kent y la cosecha de este cultivo es estacional, llevándose a cabo durante el periodo de noviembre a febrero (Valdivia y Agreda, 1994).

Propiedades biológicas.

Varias partes del árbol de mango (corteza, hojas, raíces, fruto y flores) han sido usadas en medicina tradicional para el tratamiento de varias enfermedades (Keshawa, Hemamala y Ranganath, 2017).

En los últimos años el árbol de mango ha tenido bastante popularidad e investigaciones publicadas evidencian las propiedades farmacológicas de sus principios activos, siendo el extracto acuoso de la corteza de mango el que ha obtenido mayor auge, comercializándose en Cuba bajo la marca de Vimang®, artículos relacionados con la composición química, evaluación farmacológica pre-clínica, toxicología y estudios clínicos siguen siendo estudiados actualmente (Garrido y Valdés, 2012).

Composición fitoquímica.

Entre sus compuestos químicos se encuentran polifenoles (flavonoides, xantonas y ácidos fenólicos) como los más abundantes. Mangiferina es un compuesto polifenólico hallado en gran proporción y muy conocido por sus numerosas propiedades biológicas. Otras clases de compuestos químicos hallados en el árbol de mango son: carotenoides, terpenoides, galotáninas, tocoferoles, lípidos fenólicos, compuestos halogenados (Shah *et al.*, 2010).

Compuestos fenólicos.

Estos se originan en el mundo vegetal y son uno de los principales metabolitos secundarios de las plantas. Los fenoles se encuentran en la mayoría de los alimentos de origen vegetal como la cebolla, el cacao, vino tinto, el té, etc. Según su estructura química se dividen en 2 grupos: No flavonoides (fenoles no carboxílicos y ácidos fenoles) y flavonoides (antocianos, flaonas, flavononas, flavonoles, flavanoles, taninos condensados y lignanos). Poseen propiedades beneficiosas como antioxidante, estrogénica y antimicrobianas (Gimeno, 2004).

Los compuestos fenólicos al tener capacidad antimicrobiana son usados como antisépticos, agentes biocidas de uso tópico con la finalidad de destruir o inhibir el crecimiento bacteriano. Estos agentes poseen un nivel de desinfección intermedio y su actividad depende de la concentración y la especie microbiana. Los compuestos fenólicos actúan destruyendo la pared y membrana celular e inactivando los sistemas enzimáticos. Poseen actividad bacteriostática o bactericida, inactivan la mayoría de hongos, virus y no son esporicidas (Abud, Bustos, Covo y Fang, 2005).

Mangiferina.

La mangiferina es el constituyente predominante en los extractos de *mangifera indica*, esta xantona glicosilada se encuentra presente en niveles significativos en la cáscara, hojas, tallo, corteza y pulpa del árbol de mango. Este compuesto bioactivo posee propiedades farmacológicas como antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria, antidiabética, antialérgica, anticancerígena, entre otras, las cuales han sido demostradas en diferentes estudios y se espera que pueda ser uno de los componentes principales para el desarrollo de nuevos medicamentos a usarse en diferentes enfermedades (Wei, Deng y Yan, 2011; Imran *et al.*, 2017).

Toxicidad.

Respecto a la evidencia de toxicidad de los productos derivados del mango, los estudios toxicológicos realizados al extracto de *mangifera indica*, específicamente la formulación comercial Vimang® (extracto acuoso de corteza) demuestra que no posee efectos tóxicos cuando es administrado por vía oral ni vía tópica aunque si presenta toxicidad aguda al ser administrado por vía intraperitoneal en roedores. Tampoco se han registrado efectos mutagénico, genotóxico, clastogénico ni teratogénico por acción del extracto. Los efectos adversos presentados han sido escasos como irritabilidad mínima al usar la crema Vimang® en dos pacientes con dermatitis atópica (Garrido y Valdés, 2012).

Recolección y cosecha de plantas medicinales.

Para la recolección deben elegirse plantas sanas y bien limpias, que no estén deterioradas y no deben recogerse cuando llueve, nieva o el medio ambiente se encuentre húmedo por lo que el mejor momento son las primeras horas de la mañana, de 5 a 8 am y en la tarde de 5 a 7 pm. Se cosecharan las hojas al inicio de la floración, las flores al momento de su máxima maduración, las semillas cuando estén bien secas y comienzan a caer espontáneamente y las raíces antes de la floración. La recolección debe realizarse en canastas, sacos o bolsos de fibras vegetales más no en recipientes de fibras sintéticas. Estas nociones generales de anatomía vegetal se deben seguir con el fin de no alterar los componentes de las partes a emplear (Arellano, 1992).

El secado y conservación de las plantas medicinales debe realizarse en un lugar con buena ventilación, evitando los lugares contaminados y bajo sombra, evitando la acción del polvo, humedad, calor, microbios y roedores. El almacenamiento debe realizarse en bolsas de papel craft, de papel manila o cajas de cartón. Y en los datos de registro sobre las bolsas es necesario mencionar la fecha de cosecha, nombre popular y el hábitat o lugar de procedencia (Arellano, 1992).

III. Método

3.1 Tipo de investigación

El estudio que se realizó es de diseño tipo experimental, in vitro.

3.2 Ámbito temporal y espacial

La ejecución de la presente investigación se llevó a cabo durante los meses de septiembre a diciembre del año 2018.

La presente investigación se desarrolló en el Centro de Producción Farmacéutica (CENPROFARMA) y en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.3 Variables

- Variable dependiente
 - Actividad antibacteriana que se medirá a través del halo de inhibición formado alrededor del disco o pozo impregnado con el extracto y puesto sobre el cultivo de agar Müller Hinton usando el método de difusión.

- Variable independiente
 - Grupos de estudio
 - Experimental: extractos de hojas de mango al 50% y 100%
 - Control positivo: clorhexidina al 0.12%
 - Control negativo: alcohol 96°

- Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICION	INDICADOR	ESCALA	VALOR
Actividad antibacteriana	Capacidad de determinadas sustancias de eliminar o inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos	Halo de inhibición	Ordinal	Nula: Diámetro inferior a 8 mm
				Sensible: Diámetro de 8 a 14 mm
				Muy sensible: Diámetro de 14 a 20 mm
				Sumamente sensible: Diámetro superior a 20 mm
Tipo de extracto	Soluciones extraídas de un agente vegetal de diferentes tipos a diferentes concentraciones	Composición química	Nominal	Etanólico 50%
				Etanólico 100%
				Hidroalcohólico 50%
				Hidroalcohólico 100%
				CHX 0.12%
				Alcohol 96°

3.4 Población y muestra

- Población: Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
- Muestra: La muestra se obtuvo mediante la fórmula de comparación de medias a un nivel de confianza de 95%, con un poder estadístico de 0.80 a partir de los resultados de la prueba piloto, siendo el mínimo tamaño de muestra 8 placas por grupo.
- Unidad de análisis: 1 segmento de la placa Petri con cultivo agar Müller Hinton
- Criterios de selección
 - Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 cultivada en agar Müller Hinton
 - Cultivos que no hayan sido contaminados

3.5 Instrumentos

- Método: observación
- Técnica: observación directa de los halos de inhibición
- Instrumento: ficha de recolección de datos (anexo 1)
- Herramienta: vernier digital Caliper Model: DC-515

3.6 Procedimientos

El acopio de las hojas de mango se realizó en el mes de septiembre del 2018, en el caserío Encuentros de Romero, a orillas del río Quiroz, ubicado en la provincia de Sullana, que el Gobierno Regional Piura (2011) refiere que pertenece a la cuenca hidrográfica Chira en el departamento de Piura al norte del país. El caserío se encuentra aproximadamente a 250 m.s.n.m. y a 62 km del distrito de Lancones que está entre los 80°28'40" Longitud Oeste y 4°40'50" Latitud Sur (Gobierno Regional de Piura, 2007). ONERN (1976) refiere en el mapa ecológico del Perú que el lugar de acopio pertenece a la zona de vida: Desierto Perarido Premontano Tropical. La temperatura promedio anual para esta zona es de 23°C y la temperatura alcanza su extremo máximo en los meses de noviembre y diciembre (34.2°C) y su extremo mínimo en junio (15°C). La precipitación oscila entre 10 y 200 mm, así mismo la mayor plumbiosidad se da en los meses de junio a julio y los periodos de menos precipitación de diciembre a marzo (Gobierno Regional de Piura, 2012).

En Lima se llevó una pequeña muestra de hojas al Museo de Historia Natural de la UNMSM para la determinación taxonómica (anexo 2) el cual certifica la autenticidad de la planta en estudio. Posteriormente se procedió al lavado de las hojas a chorro de agua intermitente y se dejó secar a temperatura ambiente un lapso de 5 días, luego fueron llevadas a CENPROFARMA de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM donde se inició con la estabilización físico-química de la planta poniéndola a secar 3 días a la estufa a 40°C.

L. Las hojas fueron desmenuzadas y pasaron por un molino manual donde el producto

obtenido fue utilizado para la preparación de los extractos (etanólico e hidroalcohólico), se utilizó 400 ml del solvente por cada 50 gr de la planta seca y molida pesada en una balanza analítica, todo esto en un frasco ámbar y fue macerado por 5 días realizando movimientos de 15 minutos diarios. Luego de los 5 días de macerado se filtró por bomba al vacío con papel filtro Watman N°42 y el producto se vertió en un plato de secado que fue llevado a la estufa a 40°C por 4 días para que se concentre, el producto final se vertió a un vial y se diluyó al 50% usando 2 gr en 4 ml de solvente. Se realizó el mismo protocolo para ambos solventes.

Por otro lado, la cepa bacteriana se adquirió en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM con certificado de análisis (anexo 3). La cepa se encontraba refrigerada entre 4-8°C en una placa con agar TSA, para la activación de la cepa se tomó una colonia con el asa bacteriológica y se sembró en un tubo con caldo TSB estéril, luego se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas donde la turbidez demostró el crecimiento de la cepa. Del caldo TSB se sembró a una placa con agar TSA y se llevó nuevamente a la incubadora a 37°C por 24 horas. Para la preparación del inóculo, a partir de colonias puras del microorganismo *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 se tomó una cierta cantidad de colonias y se diluyó en un tubo de ensayo conteniendo 10 mL de suero fisiológico estéril (cloruro de sodio 0.9%) de tal manera que la solución resultante tuvo una turbidez correspondiente al tubo N°1 de la escala de MacFarland (escala turbidimétrica que consiste en una serie de tubos con turbidez creciente que permite hallar la concentración aproximada de una solución bacteriana) el cual corresponde a una concentración de 3×10^8 ufc/mL. A partir de esta última solución se realizó una dilución de 1 en 3, para ello de esta solución preparada se tomó 3 mL y se diluyó a un volumen total de 9 mL con suero fisiológico en un tubo con tapa rosca estéril, la solución resultante tuvo una concentración de 1×10^8 ufc/mL. Para la inoculación de las placas se agregó 100 uL del inóculo bacteriano preparado (1×10^8 ufc/mL) a 12 placas con agar Müller Hinton y con la ayuda de una espátula

de Drigalsky se esparció el inóculo por toda la placa de tal manera que se obtenga un crecimiento homogéneo, para lo cual se deslizó el asa en la placa en forma paralela y bien compacta abarcando toda la superficie de la misma luego se repitió el procedimiento rotando la placa 60° en 2 oportunidades más. Se dejó secar las placas 3 a 5 minutos antes de hacer los pocillos. Para la formación de los pocillos se esterilizó el sacabocados con alcohol y se flameó en el mechero, luego con mucho cuidado se hicieron 4 pocillos por cada placa los cuales estuvieron a una distancia de más de 15 mm del borde y distribuidos de manera que no haya superposición posterior de los halos de inhibición. Para el sembrado de las muestras y controles se usó 8 placas para las diluciones del extracto (2 placas para cada dilución) y cada una se sembró 8 veces añadiendo 40uL en cada pocillo. Como control positivo se usó clorhexidina al 0.12% sembrada 8 veces en 2 placas (4 por placa) añadiendo 40uL de éste y como control negativo o muestra blanco se usó el alcohol de 96° sembrada 8 veces en 2 placas (4 por placa) añadiendo 40uL de éste. Las 12 placas (diluciones de la muestra y los controles) se llevaron a una incubadora a 37°C durante 24 horas.

Después de 18 a 24 horas de incubación cada placa fue examinada, los diámetros de la zona de inhibición completa se midieron en milímetros pasando por el centro de cada pocillo. La medición se realizó por triplicado para cada pocillo con un vernier digital Caliper Model: DC-515 que mide hasta centésima de milímetro. Los valores de las mediciones por triplicado se promediaron y se redondearon para reportarlo como un número natural. El tamaño de los pocillos es de 6mm, por lo tanto cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halos de inhibición y el tamaño de los diámetros de inhibición contienen el tamaño de los pocillos.

3.7 Análisis de datos

Se elaboró una base de datos en Excel v2010 y para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico Stata v15.0.

Análisis descriptivo: Se calcularon las medidas de tendencia central (media aritmética y mediana) y dispersión (desviación estándar, mínimo y máximo) para describir el comportamiento de la variable dependiente estudiada y se elaboraron tablas de doble entrada y gráficas de barra con sus líneas de error.

Análisis inferencial: Para la prueba de hipótesis se utilizó las pruebas paramétricas t de Student para la comparación entre dos grupos y la prueba F a través de la técnica de análisis de varianza (ANOVA) para comparar los cuatro extractos. Luego para evaluar entre que extractos había diferencias significativas se utilizó la prueba de comparación múltiple de Bonferroni. El nivel de significancia que se usó fue de 0.05 con un nivel de confianza de 95%.

3.8 Consideraciones éticas

Las hojas de mango empleadas en el presente estudio fueron autenticadas por el Museo de Historia Natural de San Marcos (anexo 2).

La cepa de *Staphylococcus aureus* se obtuvo en el Laboratorio de Microbiología de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM con numeración de ATCC 6538 y certificado de análisis (anexo 3).

La clorhexidina al 0.12% se compró con fines de investigación, se optó por la marca comercial ORALGENE no teniendo ningún tipo de vínculo con la empresa productora de tal marca.

Toda la información expuesta en este trabajo fue correctamente citada y se respetó la autoría de éstos.

IV. Resultados

Tabla 1

Actividad antibacteriana de extractos de hojas de mango, control positivo y negativo a las 24 horas frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538.

Grupo	N°	Media	D.S.	Mediana	Min.	Max.
Etanólico 50%	8	21.38	0.52	21.00	21.00	22.00
Etanólico 100%	8	24.13	0.83	24.00	23.00	25.00
Hidroalcohólico 50%	8	24.63	0.52	25.00	24.00	25.00
Hidroalcohólico 100%	8	33.50	1.20	33.50	32.00	35.00
CHX 0.12%	8	25.38	1.51	25.00	24.00	27.00
OH 96°	8	6.00	0.00	6.00	6.00	6.00

Fuente: base de datos Excel v2010

Interpretación: El halo de inhibición de los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50% y al 100% a las 24 horas varía según extracto, se observa que el menor halo se tiene con el extracto etanólico al 50% con un promedio de 21.38 ± 0.52 mm y el mayor halo se tiene con el extracto hidroalcohólico al 100% con un promedio de 33.50 ± 1.20 mm. Para el control positivo y negativo se observa un halo de 25.38 ± 1.51 mm y 6.00 ± 0.00 mm, respectivamente.

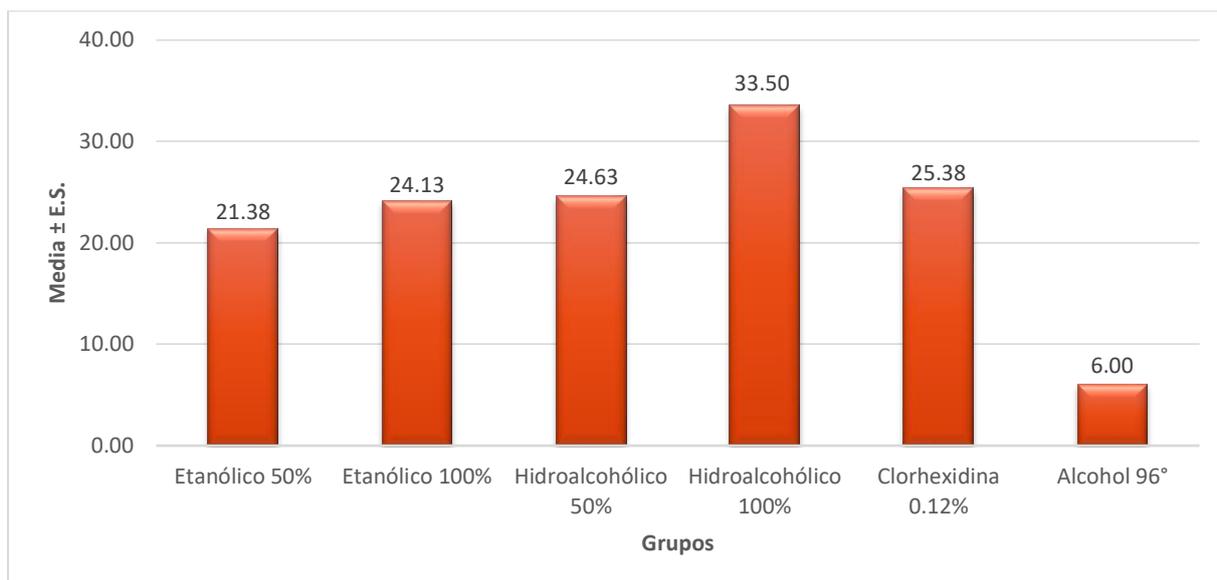


Figura 1. Actividad antibacteriana de extractos de hojas de mango, control positivo y negativo a las 24 horas frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Tabla 2

Comparación de la actividad antibacteriana entre los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50 y 100 % frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538.

Grupo	N°	Media	D.S.	F	P
Etanólico al 50%	8	21.38	0.52		
Etanólico al 100%	8	24.13	0.83	332.790	0.000
Hidroalcohólico al 50%	8	24.63	0.52		
Hidroalcohólico al 100%	8	33.50	1.20		

Fuente: base de datos Excel v2010

Interpretación: El halo de inhibición del extracto etanólico al 50% es en promedio menor que los demás con 21.38 ± 0.52 mm. Los halos de inhibición de los extractos etanólico al 100% e hidroalcohólico al 50% son en promedio similar con 24.13 ± 0.83 mm y 24.63 ± 0.52 mm, respectivamente. El halo de inhibición del extracto hidroalcohólico al 100% es en promedio mayor que los demás con $33.5\text{mm} \pm 1.20$ mm.

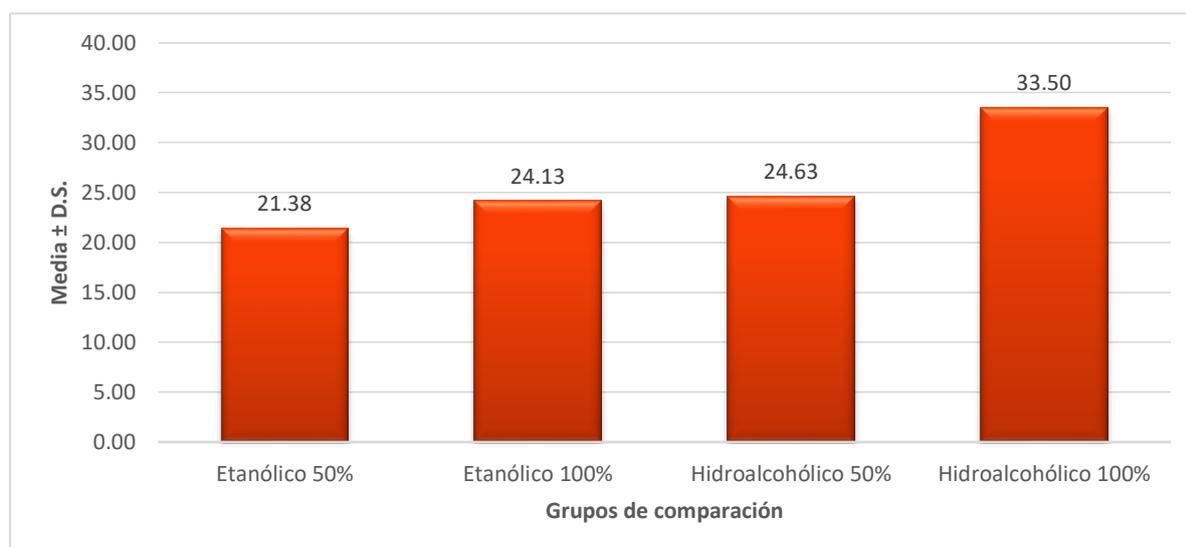


Figura 2. Comparación de la actividad antibacteriana entre los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50 y 100 % frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538.

Tabla 3

Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50% y 100% con el control positivo a las 24 horas frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538.

Grupo	N°	Media	ES	t	P
Control positivo	8	25.38	0.53	-	-
Etanólico 50%	8	21.38	0.18	-7.105	0.000*
Etanólico 100%	8	24.13	0.30	-2.054	0.059
Hidroalcohólico 50%	8	24.63	0.18	1.332	0.204
Hidroalcohólico 100%	8	33.50	0.42	-11.953	0.000*

Fuente: base de datos Excel v2010

Interpretación: El halo de inhibición del control positivo es en promedio mayor que el extracto etanólico al 50% a las 24 horas con diferencia significativa, *P < 0.05. El halo de inhibición del control positivo es en promedio similar a los extractos etanólico al 100% e hidroalcohólico al 50% a las 24 horas, P > 0.05. El halo de inhibición del control positivo es en promedio menor que el extracto hidroalcohólico al 100% a las 24 horas con diferencia significativa, *P < 0.05.

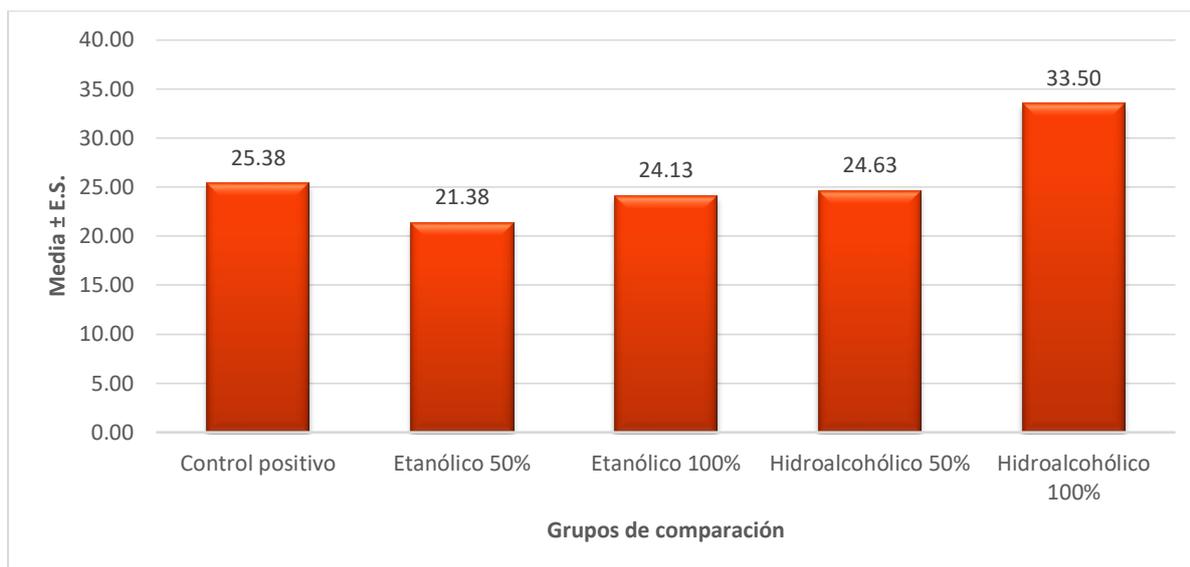


Figura 3. Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50% y 100% con el control positivo a las 24 horas frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Tabla 4

Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50% y 100% con el control negativo a las 24 horas frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538.

Grupo	N°	Media	E.S.	t	P
Control negativo	8	6.00	0.00	-	-
Etanólico 50%	8	21.38	0.18	84.025	0.000*
Etanólico 100%	8	24.13	0.30	61.431	0.000*
Hidroalcohólico 50%	8	24.63	0.18	-101.79	0.000*
Hidroalcohólico 100%	8	33.5	0.42	-65.077	0.000*

Fuente: base de datos Excel v2010

Interpretación: El halo de inhibición del control negativo es en promedio menor que los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50% y 100% a las 24 horas con diferencia significativa, *P < 0.05.

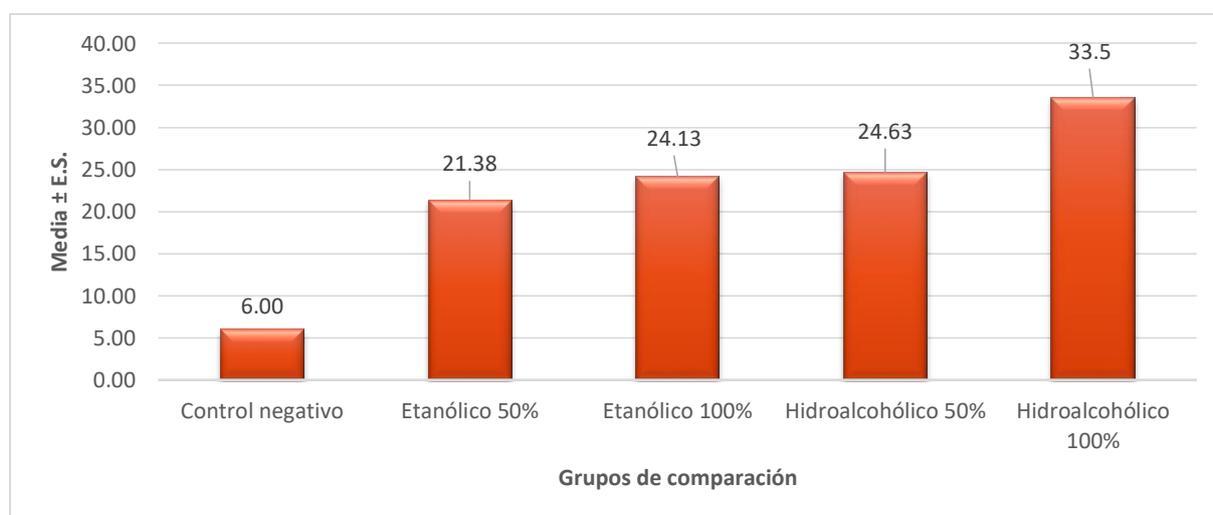


Figura 4. Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50% y 100% con el control negativo a las 24 horas frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538.

V. Discusión de resultados

En la presente investigación se evaluó la actividad antibacteriana de diferentes extractos de hojas de mango sobre cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, los extractos etanólico e hidroalcohólico fueron usados a diluciones de 50% y 100% sobre cultivos de la bacteria, usando el método de difusión de Kirby Bauer – pozos y se comprobó que efectivamente las 4 diluciones poseen actividad sumamente sensible existiendo diferencias significativas entre ellas y en comparación con el control positivo (clorhexidina 0.12%). Los resultados obtenidos en esta investigación concuerdan con estudios similares realizados por otros autores.

Diso *et al.* (2017) evaluaron la actividad antibacteriana de hojas y corteza del árbol de mango oriundas de Nigeria con extractos acuoso y cloroformo usando el método de difusión sobre *S. aureus* resistente a meticilina y comprobaron que los extractos poseen actividad antimicrobiana ya que formaron halos de inhibición entre 11 y 17 mm alrededor de los pozos a 120mg/ml lo que clasifica a esta actividad como muy sensible coincidiendo con el presente trabajo ya que se encontró una actividad positiva aunque en el presente estudio se usaron concentraciones al 50% y 100% y se encontraron halos de inhibición entre 21.38 y 33.5mm considerándose sumamente sensible según la escala de Duraffourd, cabe destacar también que Diso *et al.* usaron una cepa resistente a meticilina.

Guerra y Román (2016) evaluaron extractos hidroalcohólicos de hojas de árbol de mango nativas de Ecuador sobre 5 cepas incluida *S. aureus* a diferentes concentraciones usando el método de difusión Kirby Bauer discos y pozos por maceración, digestión y ultrasonido donde se obtuvo como mayor halo de inhibición 13.7 mm para el extracto hidroalcohólico al 100% por digestión (pozos) por lo que se concluyó que los extractos de hojas de mango poseen actividad antibacteriana coincidiendo con el presente estudio, el cual también encontró una actividad positiva con el extracto hidroalcohólico al 100% por maceración

aunque con halos más extensos con una media de 33.5 mm, considerándosele sumamente sensible según Duraffourd.

Annad *et al.* (2015) realizaron un extracto etanólico de hojas de nuez y mango a 20mg/ ml en la India y lo aplicaron sobre cepas bacterianas orales incluida el *S. aureus* con el método de difusión, los cuales mostraron halos de inhibición con una media de 14.67 mm que según la escala de Duraffourd la bacteria es muy sensible al antibacteriano aplicado, comprobando así la efectividad del extracto atribuyéndosele posiblemente a la presencia de compuestos bioactivos lo que concuerda con el presente estudio ya que también usó como solvente el etanol aunque encontrándose halos mayores de 21.38 mm y 24.13 mm al 50% y 100%, respectivamente interpretándose como sumamente sensible.

Meneses y França (2014) realizaron un estudio con el fin de evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de hojas de mango a diferentes concentraciones usando el método de difusión en disco Müller Hinton. Los resultados mostraron halos de inhibición en los diferentes cultivos de cepas estudiadas mostrando un mayor halo sobre *S. aureus* con 29.7 ± 0.00 mm concluyendo que este extracto posee actividad antibacteriana sumamente sensible coincidiendo con la presente investigación ya que también encontró halos superiores a 20 mm, cabe resaltar que aquí se utilizaron hojas originarias de Brasil a diferencia del presente trabajo que se usaron hojas provenientes del norte peruano.

Madduluri *et al.* (2013) realizaron una investigación con el objetivo de determinar la actividad antibacteriana de hojas de 5 plantas indígenas entre ellas la *Mangifera indica L.* con extractos metanol y etanol mediante el método de agar disco difusión sobre 5 cepas distintas incluida *S. aureus*. Se comprobó que las 5 cepas mostraron sensibilidad frente a los extractos de las 5 plantas siendo uno de los más susceptibles *S. aureus* con halos de 11.5 mm para el extracto etanólico y 15 mm para el extracto metanólico de *mangifera indica L.* concluyéndose

una actividad antibacteriana positiva de las hojas de mango coincidiendo con el presente estudio sin embargo aquí se obtuvo halos de menor tamaño y se usó una concentración de 10mg/ml con hojas oriundas de la India mientras que en el presente estudio se usaron concentraciones de 50% y 100% con hojas nativas de Perú.

Finalmente, Islam *et al.* (2010) evaluaron la actividad antibacteriana del extracto metanólico de hojas de mango sobre 9 bacterias incluida *S. aureus*, donde el halo de inhibición para esta bacteria fue de 7 mm considerándose una actividad moderada según el estudio, sin embargo esto contrasta con la presente investigación ya que según la escala de Duraffourd éste valor se consideraría nulo y los halos de inhibición que obtuvimos en el presente trabajo fueron superiores a 20 mm considerándose sumamente sensible la actividad de los extractos, aquí a diferencia del presente trabajo se usó como solvente el metanol y hojas procedentes de Bangladesh.

En conclusión, en el presente estudio se comprobó que los extractos etanólico e hidroalcohólico de hojas de mango oriundas del norte al 50% y 100% si poseen actividad antibacteriana aunque varían según el tipo de extracto y la concentración, de manera estadísticamente significativa considerándose al *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 una bacteria sumamente sensible a los diferentes extractos de hojas de mango según la escala de Duraffourd.

VI. Conclusiones

1. Se determinó que los extractos etanólico e hidroalcohólico de hojas de mango al 50% y 100% formaron halos de inhibición alrededor de los pozos, la clorhexidina 0.12% formó halos de inhibición alrededor de los pozos y el alcohol 96° no evidenció halos alrededor de los pozos a las 24 horas frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
2. Al comparar los extractos, el hidroalcohólico al 100% evidenció un halo de inhibición mayor con diferencia estadísticamente significativa en comparación con los demás extractos, los extractos etanólico al 100% e hidroalcohólico al 50% demostraron ser estadísticamente similares y el extracto etanólico al 50% demostró un menor halo de inhibición con diferencia estadísticamente significativa en comparación con los demás extractos.
3. Al comparar los extractos con clorhexidina 0.12%, se determinó que el halo de inhibición de la clorhexidina 0.12% es en promedio mayor al extracto etanólico al 50%, similar a los extractos etanólico al 100% e hidroalcohólico al 50% y menor al extracto hidroalcohólico al 100%.
4. Al comparar los extractos con alcohol 96°, se determinó que el halo de inhibición del alcohol 96° es en promedio menor a los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50% y 100%.

VII. Recomendaciones

- Realizar estudios posteriores con el objetivo de determinar la CMI y CMB de los extractos empleados en este estudio.
- Elaborar extractos con solventes de mayor polaridad y comprobar su efectividad.
- Evaluar los componentes activos presentes en cada tipo de extracto a través de la marcha fitoquímica así como la posibilidad de aislamiento de éstos.
- Comprobar la efectividad de los mismos extractos sobre otras cepas bacterianas relacionadas con enfermedades bucales.
- Evaluar la posibilidad del uso de extractos de hojas de mango en colutorios y/o dentífricos de manera que ejerza su acción antibacteriana sobre diferentes agentes patógenos que se encuentran en boca.

VIII. Referencias

- Abud, K., Bustos, L., Covo, E. y Fang, L. (2005). Actividad antimicrobiana de los compuestos fenólicos sulfonados en el sistema de conductos radiculares. Revisión sistemática. *Revista ciencia y salud virtual*, 7(2), 53-60. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Luis_Fang/publication/290192806_ACTIVIDAD_ANTIMICROBIANA_DE_LOS_COMPUESTOS_FENOLICOS_SULFONADOS_EN_EL_SISTEMA_DE_CONDUCTOS_RADICULARES_REVISION_SISTEMATICA_ANTIMICROBIAL_ACTIVITY_OF_SULFONATED_PHENOLICS_COMPONENTS_IN_T
- Anand, G., Ravinanthan, M., Basaviah, R. y Shetty, A. (2015). In vitro antimicrobial and cytotoxic effects of *Anacardium occidentale* and *Mangifera indica* in oral care. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 7(1), 69-74.
doi:10.4103/09757406.148780
- Arellano, P. (1992). *El libro verde*. Recuperado de <https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/173/CENSI0002.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Armenta, M., Serrano, P., García, R., Díaz, A. y Acosta, L. (2016). Efecto antimicrobiano de la clorhexidina en odontología. *Revista Odontológica Latinoamericana*, 8(2), 31-34.
Recuperado de <file:///C:/Users/PORTATILES/Desktop/Efecto%20antimicrobiano%20de%20la%20clorhexidina%20en%20odontologia.pdf>
- Bascones, A. y Morante, S. (2006). Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances en periodoncia e implantología oral*, 18(1), 31-59.
Recuperado de <http://scielo.isciii.es/pdf/peri/v18n1/original3.pdf>

Bhat, S. S., Hegde, K., Mathew, C., Bhat, S. V. y Shyamjith, M. (2017). Comparative Evaluation of Mangifera indica Leaf Mouthwash with Chlorhexidine on Plaque Accumulation, Gingival Inflammation, and Salivary Streptococcal Growth. *Indian Journal of Dental Research*, 28, 151-155. doi: 10.4103/ijdr.IJDR_583_15

Bussmann, R. y Sharon, D. (2015). *Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia*.

Recuperado de

https://www.researchgate.net/profile/Rainer_Bussmann/publication/283355334_PLANTAS_MEDICINALES_DE_LOS_ANDES_Y_LA_AMAZONIA_-_La_Flora_magica_y_medicinal_del_Norte_del_Peru/links/563a6f7808ae405111a5883f/PLANTAS-MEDICINALES-DE-LOS-ANDES-Y-LA-AMAZONIA-La-Flora-magica-y-medicinal-del-Norte-del-Peru.pdf

Cachay, R., de la Flor, A. y Schwalb, A. (2018). *Mortalidad en pacientes con bacteriemia por Staphylococcus auerus en hospitales de Lima. Perú*. (tesis de pregrado).

Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

Cañigueral, S., Dellacasa, E. y Bandoni, A. (2003). Plantas medicinales y fitoterapia: ¿indicadores de dependencia o factores de desarrollo? *Latin American Journal of Pharmacy*, 22(3), 265-278. Recuperado de

http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf

Carmona, E., Sandoval, S. y García, C. (2012). Frecuencia y susceptibilidad antibiótica del *Staphylococcus aureus* provenientes de hisopados nasales en una población urbano marginal de Lima, Perú. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*, 29(2), 206-211. Recuperado de <https://scielosp.org/pdf/rpmesp/2012.v29n2/206-211/es>

- Castañón, C. (2012). Patogenia molecular de *Staphylococcus aureus*. *Evidencia médica e investigación en salud*, 5(3), 79-84. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/evidencia/eo-2012/eo123b.pdf>
- Cervantes, E., García, R. y Salazar, P. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*, 61(1), 28-40. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
- Corrales, I., Reyes, J. y Piña, R. (2014). Plantas medicinales de interés estomatológico. *Órgano científico estudiantil de Ciencias Médicas de Cuba*, 53(256), 79-98. Recuperado de http://www.rev16deabril.sld.cu/index.php/16_04/article/view/52
- Del Toro, Y., Díaz del Mazo, L., Ferrer, S., Céspedes, A. y González, A. (2014). Eficacia del extracto fluido de Vimang® en el tratamiento de pacientes con alveolitis. *Medisan*, 18(9), 1187-1194. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192014000900001
- Diso, S., Ali, M., Mukhtar, S. y Garba, M. (2017). Antibacterial activity and Phytochemical Screening of *Mangifera indica* (Mango) Stem and Leaf Extracts on clinical Isolates of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical*, 13(1), 1-6. doi:10.9734/JAMPS/2017/31127
- García, S. (2015). *Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Pelargonium hortorum sobre la cepas de Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 y Staphylococcus aureus ATCC 25923*. (tesis de pregrado). Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, Perú.
- García, C., Deplano, A., Denis, O., León, M., Siu, H., Chíncha, O., . . . Jacobs, J. (2011). Spread of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to Peru. *Elsevier*, 63, 482-483. doi:10.1016/j.jinf.2011.09.001

- Garrido, G. y Valdés, M. (2012). Avances en las investigaciones farmacológicas y toxicológicas con el extracto acuoso de la corteza del árbol de mango (*Mangifera indica* L.). *Rev. Farmacol. Chile*, 5(2), 63-93. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/256706048_Avances_en_las_investigaciones_farmacologicas_y_toxicologicas_con_el_extracto_acuoso_de_la_corteza_del_arbol_del_mango_Mangifera_indica_L
- Gimeno, E. (2004). Compuestos fenólicos. *Ámbito farmacéutico*, 23(6), 80-84. Recuperado de www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13063508-S300
- Gobierno Regional de Piura (2012). *Estrategia regional y plan de acción para la conservación de la diversidad biológica de la región Piura*. Recuperado de <https://www.cbd.int/doc/nbsap/sbsap/pe-sbsap-piura-es.pdf>
- Gobierno Regional Piura. (2011). *Cuencas hidrográficas de Piura*. Recuperado de siar.regionpiura.gob.pe/admDocumento.php?accion=bajar&docajunto=1262
- Gobierno Regional de Piura. (2007). *Desarrollo de capacidades para el ordenamiento territorial en el departamento de Piura*. Recuperado de <http://siar.regionpiura.gob.pe/index.php?accion=verElemento&idElementoInformacion=139&verPor=&idTipoElemento=35&idTipoFuente=>
- Guerra, K. y Román, A. (2016). *Determinación de la actividad antimicrobiana de extractos de las hojas de Mangifera indica L.* (tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Hannan, A., Asghar, S., Naeem, T., Ikram, M., Ahmed, I., Aneela, S. y Hussain, S. (2013). Antibacterial effect of mango (*Mangifera indica* Linn.) leaf extract against antibiotic sensitive and multi-drug resistant *Salmonella typhi*. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 26(4), 715-719. Recuperado de

http://applications.emro.who.int/imemrf/Pak_J_Pharm_Sci/Pak_J_Pharm_Sci_2013_26_4_715_719.pdf

Imran, M., Sajid, M., Sadiq, M., Kwon, J., Umair, M. y Tauseef, M. (2017). Mangiferin: a natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorders. *Lipids in Health and Disease*, 16(84), 1-17. doi:10.1186/s12944-017-0449-y

Islam, M., Mannan, M., Kabir, M., Islam, A. y Olival, K. (2010). Analgesic, anti-inflammatory and antimicrobial effects of ethanol extracts of mango leaves. *J. Bangladesh Agril. Univ.*, 8(2), 239-244. Recuperado de <https://ageconsearch.umn.edu/bitstream/208493/2/7932-28953-1-PB.pdf>

Keshawa, M., Hemamala, K. y Ranganath, S. (2017). A Review on Ethnopharmacological Applications, Pharmacological Activities, and Bioactive Compounds of *Mangifera indica* (Mango). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 1-24. doi:<https://doi.org/10.1155/2017/6949835>

Lock, O. (1994). *Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. Lima, Perú: PUCP.

Madduluri, S., Babu, K. y Sitaram, B. (2013). In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), 679-684. Recuperado de <https://innovareacademics.in/journal/ijpps/Vol5Suppl4/8138.pdf>

Masibo, M. y He, Q. (2009). In vitro antimicrobial activity and the major polyphenol in leaf extract of *Mangifera indica* L. *Malaysian Journal of Microbiology*, 5(2), 73-80. Recuperado de <http://mjm.usm.my/uploads/issues/171/research2.pdf>

- Meneses, A. y França, J. (2014). Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do extrato bruto hidroalcoólico de *Mangifera indica* Linneau. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(1), 189-198. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102847962014000300007&script=sci_abstract
- Morán, E. y Cueto, A. (2001). Osteomielitis. Criterios actuales e importancia para el estomatólogo. *Revista Cubana de Estomatología*, 38(1), 52-66. Recuperado de http://bvs.sld.cu/revistas/est/vol38_1_01/est06101.pdf
- OMS. (2018). *Resistencia a los antibióticos*. Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>
- OMS. (2013). *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014 - 2023*. Recuperado de <http://www.who.int/iris/handle/10665/95008>
- ONERN. (1976). *Mapa ecológico del Perú*. Recuperado de <http://repositorio.ana.gob.pe/handle/ANA/1052>
- Oré, J. y La Torre, M. (2013). Osteomielitis maxilar y mandibular en pacientes pediátricos. *Acta Médica Peruana*, 30(4), 86-90. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172013000400006
- Palombo, E. (2011). Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: potencial application in the prevention and treatment of oral diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 1-15. doi:10.1093/ecam/nep067
- Prasad, R. (2013). Studies on Antimicrobial Activity and Phytochemical Profile of *Mangifera Indica* Leaf Extract. *Journal Of Environmental Science, Toxicology And*

- Food Technology*, 7(3), 74-78. Recuperado de <http://www.iosrjournals.org/iosrjestft/papers/vol7-issue3/K0737478.pdf?id=7730>
- Rodríguez, M., Ramires, Y., Crespo, M., Ocaña, C. y López, A. (2012). Eficacia de la crema Vimang® en el tratamiento de la estomatitis aftosa recurrente. *Medisan*, 16(5), 710-716. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192012000500009
- Romaní, F., Cuadra, J., Atencia, F., Vargas, F. y Canelo, C. (2009). Endocarditis infecciosa: análisis retrospectivo en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza, 2002-2007. *Revista peruana de epidemiología*, 13(2), 1-7. Recuperado de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/epidemiologia/v13_n2/pdf/a04v13n2.pdf
- Sahrawat, A., Pal, S. y Shahi, S. (2013). Antibacterial activity of *Mangifera indica* (mango) leaves against drug resistant bacterial strains. *International Journal of Advanced Research*, 1(6), 82-86. Recuperado de http://www.journalijar.com/uploads/2013-09-03_112813_859.pdf
- Sánchez, E., Castillo, S. y García, P. (2016). Actividad Antimicrobiana. *Investigación en plantas de importancia médica*, 77-100. doi:<http://dx.doi.org/10.3926/oms.334>
- Sánchez, L. y Sáenz, E. (2005). Antisépticos y desinfectantes. *Dermatología Peruana*, 15(2), 82-103. Recuperado de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v15_n2/pdf/a02.pdf
- Sánchez, E. y Gutiérrez, C. (2006). Evolución y letalidad por endocarditis infecciosa en pacientes atendidos en el Hospital Nacional 2 de Mayo. *Anales de la Facultad de Medicina*, 67(2), 125-133. Recuperado de <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/1250/1053>

- Sandival, G., Mucching, S., Champi, R. y Alvarado, A. (2015). Colonización simultánea por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y *enterococcus* resistente a vancomicina. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*, 32(2), 400-401. Recuperado de <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/1643/1824>
- Shah, K., Patel, M., Patel, R. y Parmar, P. (2010). *Mangifera Indica* (Mango). *Pharmacognosy Reviews*, 4(7), 42-48. doi:10.4103/0973-7847.65325
- Soares, K. (2010). Fitoterapia: Una opção para o tratamento odontológico. *Revista Saúde*, 4(1), 18-24. Recuperado de revistas.ung.br/index.php/saude/article/download/432/631
- Telge, H. (1961). *El cultivo del mango en la costa del Perú*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Tibavizco, D., Rodríguez, J., Silva, E., Cuervo, S. y Cortés, J. (2007). Enfoque terapéutico de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus*. *Biomédica*, 27, 294-307. doi:<https://doi.org/10.7705/biomedica.v27i2.226>
- Tong, S., Davis, J., Einchenberger, E., Holland, T. y Fowler, V. (2015). *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603-661. doi:doi:10.1128/CMR.00134-14
- Valdivia, M. y Agreda, V. (1994). El sistema de comercialización de frutas: los casos del limón, el maracuyá y el mango en el Norte del Perú. En J. Escobal (Ed.), *Comercialización agrícola en el Perú* (pp. 196-256). Lima, Perú: Editorial PUCP.

- Verde, M., García, S. y Rivas, C. (2016). Metodología científica para el estudio de plantas medicinales. *Investigación en plantas de importancia médica*, 1-40. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.3926/oms.335>
- Wei, Z., Deng, J. y Yan, L. (2011). Pharmacological effects of mangiferin. *Chinese Herbal Medicines*, 4(1), 266-271. doi:10.3969/j.issn.1674-6384.2011.04.006
- Zendejas, G., Avalos, H. y Soto, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomédica*, 25, 129-143. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>

IX. Anexos

- Anexo 1: Ficha de recolección de datos

Actividad antibacteriana de extractos de hojas de mango sobre *Staphylococcus aureus* a las 24 horas

	Extracto etanólico		Control positivo	Control negativo
	50%	100%	CHX 0.12%	alcohol 96°
E.F. (placa 1)				
E.F. (placa 2)				
E.F. (placa 3)				
E.F. (placa 4)				
E.F. (placa 5)				
E.F. (placa 6)				
E.F. (placa 7)				
E.F. (placa 8)				

Fuente: Actividad antibacteriana de caesalpinia spinosa (tara) sobre porphyromonas gingivalis, 2014

	Extracto hidroalcohólico		Control positivo	Control negativo
	50%	100%	CHX 0.12%	alcohol 96°
E.F. (placa 1)				
E.F. (placa 2)				
E.F. (placa 3)				
E.F. (placa 4)				
E.F. (placa 5)				
E.F. (placa 6)				
E.F. (placa 7)				
E.F. (placa 8)				

Fuente: Actividad antibacteriana de caesalpinia spinosa (tara) sobre porphyromonas gingivalis, 2014

- Anexo 2: Determinación taxonómica de *Mangifera indica* L.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° -302-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (hojas y corteza), recibida de **Victoria Soledad Cárdenas Roque**; estudiante de la Universidad Nacional Federico Villarreal; ha sido estudiada y clasificada como: ***Mangifera indica* L.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ROSIDAE

ORDEN: SAPINDALES

FAMILIA: ANACARDIACEAE

GENERO: *Mangifera*

ESPECIE: *Mangifera indica* L

Nombre vulgar: "Mango"

Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 23 de agosto de 2018




Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

- Anexo 3: Certificado de análisis de cepa de *s. aureus* ATCC 6538

Thermo
SCIENTIFIC

Certificate of Quality

Product Name: *S. aureus* ssp *aureus* ATCC 6538 PK/5
Lot Number: 633937

Product Number: R4607016
Expiration Date: 2019-09-30
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description. Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10(4)

Passage: 3

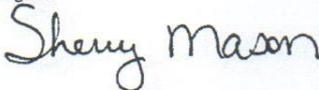
Gram Reaction: Gram Positive Cocci

Biochemical Profile: Vitek 2C GP

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop

pH: N/A

Signed



Product Performance Technologist

- Anexo 4: Protocolo de análisis de extractos etanólico e hidroalcohólico



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROCOLO DE ANÁLISIS N.º00438-CPF-2018

ORDEN DE ANÁLISIS : 005068/2018
SOLICITADO POR : VICTORIA SOLEDAD CÁRDENAS ROQUE
MUESTRA : HOJAS DE MANGO
NÚMERO DE LOTE : --
CANTIDAD : 01 sobre
FECHA DE RECEPCIÓN : 18 de Setiembre del 2018
FECHA DE FABRICACIÓN : ----
FECHA DE VENCIMIENTO : ---

ENSAYO	ESPECIFICACIONES	MÉTODO	RESULTADOS
EXTRACCIÓN ETANÓLICA	---	---	Conforme

Lima, 28 de Setiembre del 2018


QF. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
 (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
 FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
 CENPROFARMA
 CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00439-CPF-2018

ORDEN DE ANÁLISIS : 005068/2018
 SOLICITADO POR : VICTORIA SOLEDAD CÁRDENAS ROQUE
 MUESTRA : HOJAS DE MANGO
 NÚMERO DE LOTE : --
 CANTIDAD : 01 paquete
 FECHA DE RECEPCIÓN : 18 de Setiembre del 2018
 FECHA DE FABRICACIÓN : ----
 FECHA DE VENCIMIENTO : ---

ENSAYO	ESPECIFICACIONES	MÉTODO	RESULTADOS
EXTRACCIÓN HIDROALCÓHOLICA	---	---	Conforme

Lima, 01 de Octubre del 2018



[Firma]
 QF. Gustavo Guerra Brizuela
 Director del Centro de Control Analítico

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
 ☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
 E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



- Anexo 5: Informe de laboratorio y cálculos



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00580-CPF-2018

ORDEN DE ANÁLISIS : 005179/2018
SOLICITADO POR : VICTORIA SOLEDAD CÁRDENAS ROQUE
MUESTRA : EXTRACTO DE MANGO
NÚMERO DE LOTE : --
CANTIDAD : 03 frascos x 10 mL c/u
FECHA DE RECEPCIÓN : 05 de Diciembre del 2018
FECHA DE FABRICACIÓN : ---
FECHA DE VENCIMIENTO : ---

MICROORGANISMOS	DIAMETRO DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS							
	Control		Blanco Alcohol 96°		Extracto hidroalcohólico 100%		Extracto hidroalcohólico 50%	
<i>Staphylococcus aureus</i>	24	27	6	6	33	33	24	25
	24	27	6	6	34	35	25	25
	24	27	6	6	32	35	24	25
	24	26	6	6	32	34	24	25
MICROORGANISMOS	Control		Blanco Alcohol 96°		Extracto etanólico 100%		Extracto etanólico 50%	
<i>Staphylococcus aureus</i>	24	27	6	6	25	23	21	21
	24	27	6	6	25	24	22	21
	24	27	6	6	25	23	21	21
	24	26	6	6	24	24	22	22

*El tamaño de los pocillos es de 6mm, por lo tanto cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halo de inhibición.

*Concentración del inóculo: 1×10^8 UFC/mL

Lima, 19 de Diciembre del 2018

Gustavo Guerra

QF. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe



- Anexo 6: Matriz de consistencia

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE DIFERENTES EXTRACTOS DE HOJAS DE *Mangifera indica linn* (MANGO) SOBRE CEPA DE *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

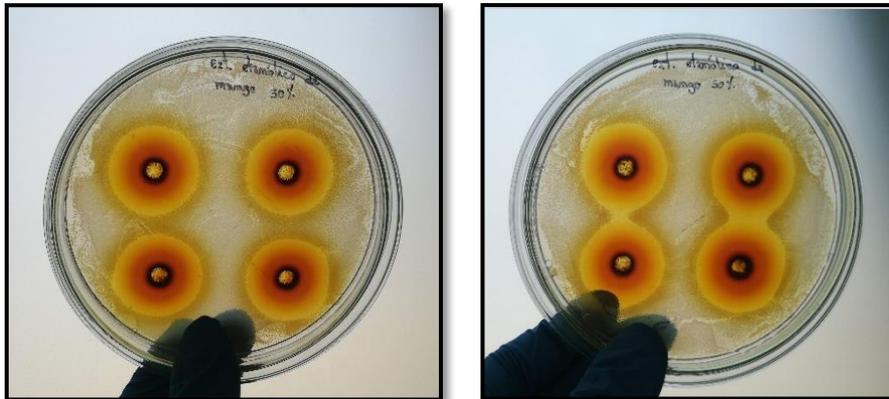
Problema	Objetivo	Hipótesis	Variables e indicadores	Instrumento	Diseño	Análisis estadístico
<p>Objetivo general:</p> <p>Evaluar la actividad antibacteriana in vitro de diferentes extractos de hojas de <i>Mangifera indica linn</i> (mango) sobre cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Evaluar el halo de inhibición de los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50% y 100%, control positivo (clorhexidina 0.12%) y control negativo (alcohol 96%) a las 24 horas frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538. - Comparar el halo de inhibición de los extractos etanólico e hidroalcohólico al 50% y 100% a las 24 horas frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538. - Comparar el halo de inhibición entre el grupo de estudio frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538. - Comparar el halo de inhibición entre el grupo de estudio y el control positivo (clorhexidina al 0.12%) a las 24 horas frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538. - Comparar el halo de inhibición entre el grupo de estudio y control negativo (alcohol 96%) a las 24 horas frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538. 	<p>Hipótesis general:</p> <p>Si las hojas de mango contienen compuestos fenólicos, los cuales poseen actividad antibacteriana, entonces es probable que inhiban el crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 en una placa de agar.</p>	<p>Variable 1:</p> <p>Actividad antibacteriana</p> <p>Indicador:</p> <p>Halo de inhibición</p> <p>Variable 2:</p> <p>Tipo de extracto</p> <p>Indicador:</p> <p>Composición química</p>	<p>Ficha de recolección de datos</p>	<p>Tipo de estudio:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Diseño experimental - In vitro 	<p>Se elaboró una base de datos en Excel v2010 y para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico Stata v15.0.</p> <p>Descriptivo: Se calcularon las medidas de tendencia central (media aritmética y mediana) y dispersión (desviación estándar, mínimo y máximo) para describir el comportamiento de la variable dependiente estudiada y se elaboraron tablas de doble entrada y gráficas de barra con sus líneas de error.</p> <p>Inferencial: Para la prueba de hipótesis se utilizó las pruebas paramétricas t de Student para la comparación entre dos grupos y la prueba F a través de la técnica de análisis de varianza (ANOVA) para comparar los cuatro extractos. Luego para evaluar entre que extractos había diferencias significativas se utilizó la prueba de comparación múltiple de Bonferroni. El nivel de significancia que se usó fue de 0.05 con un nivel de confianza de 95%.</p>	

- Anexo 7: Fotos

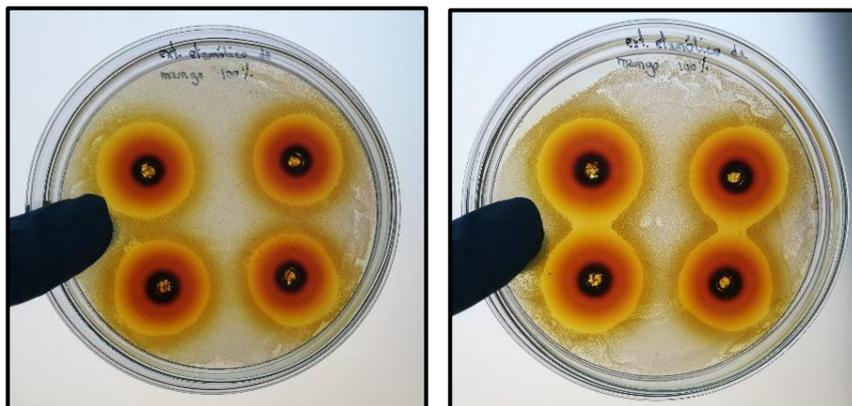




Extracto etanólico 50%



Extracto etanólico 100%



Extracto hidroalcohólico 50%



Extracto hidroalcohólico 100%



Control positivo (clorhexidina 0.12%)



Control negativo (alcohol 96°)

