



UNAP



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

TESIS

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE DIFERENTES EXTRACTOS DE
Spondias mombin L.

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

ADRIANA DANIELA FLORES REÁTEGUI

CESAR WENJHAU CHU WU

ASESORES:

Ing. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra.

Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG

Blga. JESSY PATRICIA VÁSQUEZ CHUMBE, Mtra.

IQUITOS, PERÚ

2024

ACTA DE SUSTENTACIÓN



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°025-2024-CGT-FFyB-UNAP

En el caserío de Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, departamento de Loreto, a los 30 días del mes de diciembre del 2024, a horas 11:00, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE DIFERENTES EXTRACTOS DE *Spondias mombin* L.", aprobada con Resolución Decanal N°312-2024-FFyB-UNAP, presentado por los bachilleres Adriana Daniela Flores Reátegui y César Wenjhau Chu Wu, para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°271-2024-FFyB-UNAP, está integrada por:

- Ing. CLETO JARA HERRERA, Dr.	Presidente
- Q.F. LILIANA RUIZ VÁSQUEZ, Dra.	Miembro
- Blgo. FELIPE RIOS ISERN, Mtro.	Miembro
- Ing. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA DE REÁTEGUI, Dra.	Asesora
- Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG.	Asesor
- Blga. JESSY PATRICIA VÁSQUEZ CHUMBE, Mtra.	Asesora

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: satisfactoriamente

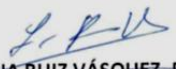
El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:


La sustentación pública de la tesis ha sido aprobada con la calificación muy buena

Estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Siendo las 12:00 se dio por terminado el acto académico de sustentación de tesis


Ing. CLETO JARA HERRERA, Dr.
Presidente


Q.F. LILIANA RUIZ VÁSQUEZ, Dra.
Miembro


Blgo. FELIPE RIOS ISERN, Mtro.
Miembro


Ing. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra.
Asesora


Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG
Asesor



Blga. JESSY PATRICIA VÁSQUEZ CHUMBE, Mtra.
Asesora

JURADOS Y ASESORES



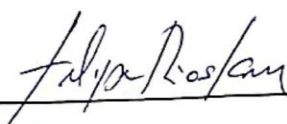
Ing. Cleto Jara Herrera, Dr.

Presidente



Q.F. Liliana Ruiz Vásquez, Dra.

Miembro de jurado



Blgo. Felipe Ríos Isern, Mtro.

Miembro de jurado



Ing. Reyna Gladys Cárdenas Vda. De Reátegui, Dra.

Asesora



Q.F. Henry Vladimir Delgado Wong

Asesor



Blga. Jessy Patricia Vásquez Chumbe, Mtra.

Asesora

RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD






19% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 17%  Fuentes de Internet
- 2%  Publicaciones
- 9%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

A mis padres, quienes, con su esfuerzo y apoyo incondicional en mi educación y crecimiento profesional, me han permitido cumplir mis metas.

ADRIANA DANIELA FLORES REÁTEGUI

A mis padres y hermano por todo el sacrificio que realizan día a día, por la ayuda moral y económica que me brindan desinteresadamente, que sin ese apoyo no hubiese sido posible desarrollar este trabajo de investigación.

CESAR WENJHAU CHU WU

AGRADECIMIENTO

En primer momento a Dios, por darnos salud para poder concluir este trabajo de investigación.

A nuestros asesores Ing. Reyna Gladys Cárdenas Vda. De Reátegui, Dra, Blga. Jessy Patricia Vásquez Chumbe, Mtra y Q.F. Henry Vladimir Delgado Wong, por habernos dedicado su tiempo y conocimiento, por brindarnos acceso en general a los diferentes laboratorios para el desarrollo del proyecto, que a pesar de las dificultades nunca nos dejaron de apoyar.

Un agradecimiento especial al Lic. Alexander Javier Iman Torres, Mgr., por habernos transmitido su conocimiento, y darnos un tiempo para guiarnos paso a paso en la parte experimental de nuestro estudio.

A la Ing. Lastenia Ruiz Mesia, Dra, al Ing. Jorge Antonio Suárez Rumiche, Msc, y Ing. Hivelli Ericka Ricopa Cotrina, por guiarnos todo el proceso de tamizaje fitoquímico.

Al Ing. Juan Celedonio Ruiz por su tiempo y apoyo en todo el proceso de recolección e identificación taxonómica de nuestra especie. Al Q.F. Mario Javier de la Cruz Flores por brindarnos su apoyo en el procedimiento de la extracción de nuestros extractos vegetales.

ÍNDICE

Portada	i
Acta de sustentación	ii
Jurados y asesores	iii
Resultado del informe de similitud	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice	vii
Índice de tablas	ix
Resumen	xi
Abstract	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1 Antecedentes	3
1.2 Bases teóricas	4
1.3 Definición de términos básicos	14
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	15
2.1 Formulación de la hipótesis	15
2.2 Variables y su operacionalización	15
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	18
3.1 Diseño metodológico	18
3.2 Diseño muestral	18
3.3 Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos	21
3.3.1 Técnicas	21
3.3.2 Instrumentos	21

3.3.3 Procedimientos experimentales	22
3.4 Procesamiento y análisis de datos	34
3.5 Aspectos éticos	34
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	35
4.1 Porcentaje de rendimiento de los extractos	35
4.1 Tamizaje fitoquímico	35
4.2 Actividad antibacteriana	37
4.2.1 Kirby Bauer	37
4.2.2 Macrodilución	43
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	47
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	50
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	51
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	52
ANEXOS	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la especie <i>Spondias mombin</i> L.	5
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>Escherichia coli</i>	7
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>Staphylococcus aureus</i>	9
Tabla 4. Clasificación taxonómica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
Tabla 5. Clasificación taxonómica de <i>Salmonella typhimurium</i>	12
Tabla 6. Variable independiente	16
Tabla 7. Variable dependiente	17
Tabla 8. Diseño muestral de los experimentos del extracto etanólico y clorofórmico de la corteza y hoja de <i>Spondias mombin</i> L. por el método de Kirby Bauer.	18
Tabla 9. Diseño muestral de los experimentos del extracto etanólico y clorofórmico de la corteza y hoja de <i>Spondias mombin</i> L. por el método de macrodilución.	19
Tabla 10. Rendimiento de los extractos etanólico y clorofórmico de hojas y corteza de <i>Spondias mombin</i> L.	35
Tabla 11. Tamizaje fitoquímico de extractos etanólico y clorofórmico de hojas y corteza de <i>Spondias mombin</i> L.	36
Tabla 12. Halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas de <i>Spondias mombin</i> L. frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella typhimurium</i> .	38
Tabla 13. Halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de corteza de <i>Spondias mombin</i> L. frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella typhimurium</i> .	39

- Tabla 14.** Halos de inhibición (mm) del extracto clorofórmico de hojas de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. 41
- Tabla 15.** Halos de inhibición (mm) del extracto clorofórmico de corteza de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. 42
- Tabla 16.** Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. 43
- Tabla 17.** Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de corteza de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. 44
- Tabla 18.** Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. 45
- Tabla 19.** Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. 46

RESUMEN

Se evaluó la actividad antibacteriana de extractos etanólico y clorofórmico de hojas y corteza de *Spondias mombin* L. frente a cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. Se utilizó un diseño experimental-analítico descriptivo. Las muestras vegetales fueron recolectadas en la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana, Iquitos - Perú; fueron secadas y maceradas en etanol y cloroformo para obtener los extractos. Estos se sometieron a tamizaje fitoquímico y a pruebas de sensibilidad antibacteriana mediante el método de Kirby-Bauer y macrodilución en caldo. Los resultados mostraron que el extracto etanólico de la corteza presentó una mayor abundancia de flavonoides y triterpenos, mientras que el extracto clorofórmico de las hojas mostró abundancia de esteroides y triterpenos. Sin embargo, ambos extractos mostraron baja actividad antibacteriana frente a las cepas estudiadas, con halos de inhibición menores a 15 mm, siendo *S. aureus* la cepa más sensible al extracto etanólico de hojas en la concentración de 125 mg/mL. El estudio concluye que los extractos de *S. mombin* L. presentan una actividad antibacteriana limitada, sugiriendo la necesidad de investigaciones adicionales para explorar su potencial terapéutico.

Palabras clave: *Spondias mombin* L., actividad antibacteriana, extracto etanólico, extracto clorofórmico, *Staphylococcus aureus*, tamizaje fitoquímico.

ABSTRACT

The antibacterial activity of ethanolic and chloroformic extracts of leaves and bark of *Spondias mombin* L. was evaluated against bacterial strains *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. A descriptive experimental-analytical design was used. The plant samples were collected in the Allpahuayo Mishana National Reserve, Iquitos - Peru; they were dried and macerated in ethanol and chloroform to obtain the extracts. These were subjected to phytochemical screening and antibacterial sensitivity tests using the Kirby-Bauer method and macrodilution in broth. The results showed that the ethanolic extract of the bark presented a higher abundance of flavonoids and triterpenes, while the chloroplast extract of the leaves showed abundance of steroids and triterpenes. However, both extracts showed low antibacterial activity against the strains studied, with inhibition halos of less than 15 mm, with *S. aureus* being the most sensitive strain to the ethanolic extract of leaves at the concentration of 125 mg/mL. The study concludes that *S. mombin* L. extracts present limited antibacterial activity, suggesting the need for further research to explore their therapeutic potential.

Keywords: *Spondias mombin* L., antibacterial activity, ethanolic extract, chloroplast extract, *Staphylococcus aureus*, phytochemical screening.

INTRODUCCIÓN

Desde su descubrimiento hasta la actualidad, los antibióticos han sido un elemento clave en el control y tratamiento de diversas enfermedades provocadas por microorganismos patógenos, desempeñando un papel esencial en la lucha contra las infecciones; sin embargo, muchas veces son usadas de manera innecesaria e inadecuada; generando un problema de resistencia por parte de estos, y cada vez con menos alternativas para los tratamientos infecciosos. De hecho, la resistencia a los antimicrobianos es un problema sanitario mundial cada vez más serio, según lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1).

El incremento de la resistencia a los antimicrobianos tiene serias repercusiones sobre la salud humana, animal, agricultura y medio ambiente. Esta se puede generar bajo condiciones naturales o por el uso inadecuado y excesivo de los antimicrobianos (2). Según la Organización Panamericana de Salud (OPS), los microorganismos patógenos multirresistentes son responsables del aumento de las cifras de morbimortalidad de los pacientes ingresados en los hospitales, causando unas 700 000 muertes al año (3).

La OMS, de acuerdo con el “Informe del Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia y el Uso de los Antimicrobianos (GLASS)” del 2020, cataloga la magnitud de este problema, como una fantasía apocalíptica para el siglo XXI. Reportaron un aumento significativo en la resistencia al ciprofloxacino en las bacterias *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*, con un rango de variación en la tasa de resistencia del 8,4% al 92,9% para *E. coli* y del 4,1% al 79,4% para *K. pneumoniae* en 33 y 34 países, tanto para infecciones intrahospitalarias como comunitarias (4).

En Perú, según el "Plan Nacional para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos 2018-2021", se ha detectado un alto porcentaje de resistencia a bacterias patógenas hospitalarias en los últimos años, específicamente: *S. aureus* muestra resistencia a la meticilina (84%), penicilina (99%), eritromicina (80%) y clindamicina (75%). Para *P. aeruginosa* el porcentaje de resistencia asciende al 30% en todas las familias de antimicrobianos. Para *K. pneumoniae* cefalosporinas de 3ra y 4ta generación cerca del 50% de resistencia. Por lo general, la más aislada a nivel hospitalario es *E. coli*, con una resistencia considerable a la ampicilina mayor al 80%, y mayor al 60% sobre el ácido nalidixico y al ciprofloxacino (5).

La problemática mencionada ha llevado al surgimiento de recursos alternativos provenientes de especies vegetales tal como es el caso de *S. mombin* L., cuyas hojas, corteza y fruto poseen actividad terapéutica (6). Las hojas son utilizadas para tratar diversas afecciones, incluyendo enfermedades diarreicas, disentería, cataplasmas atenuantes de inflamaciones; asimismo, la goma se emplea como expectorante y antiparasitario; de ese modo, se registra su utilidad como antimicrobiano (7).

Alrededor del 80% de los habitantes del planeta, cubren principalmente con medicina tradicional sus necesidades de atención primaria de salud (8). Una gran parte de esta técnica de tratamiento incluye el uso de plantas medicinales o productos herbarios para prevenir y tratar enfermedades. Por consiguiente, con el estudio de *S. mombin* L., se identificó diferentes metabolitos secundarios presentes y, en consecuencia, se validó el conocimiento de estos metabolitos que actúan frente a microorganismos patógenos.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

El 2022, se investigó corteza de *S. mombin* L., recolectadas en la localidad de Planchón, Perú; donde se detectó la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides; y a diferentes concentraciones, específicamente de 5 %, 15 %, 30 % presentó actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis* observando halos inhibitorios de 12,06 mm, 13,56 mm y 17,79 mm, respectivamente. El estudio concluyó que el extracto etanólico de *S. mombin* L. tiene propiedades antibacterianas efectivas contra *S. epidermidis* (7).

El 2022, evaluaron el extracto hidroalcohólico de hojas y corteza de *S. mombin* L. recolectadas en el municipio de Crato, Brasil. Mediante un análisis cualitativo identificaron la presencia de fenoles y flavonoides en ambos extractos; mientras que por HPLC identificaron quercetina, ácido cafeico y catequina como compuestos principales en el extracto acuoso de hojas; y kaempferol y quercetina como compuestos principales del extracto de corteza. El extracto de hojas presentó una actividad eficaz contra las cepas gram-negativas; mientras que, el extracto de corteza inhibió significativamente el crecimiento de la cepa multirresistente (MDR) de *P. aeruginosa* y la cepa estándar de *E. coli*. La investigación concluye que los extractos de hojas y corteza estudiados de *S. mombin* presentan compuestos fenólicos que le atribuyen su actividad antimicrobiana (9).

El 2020, se realizó el ensayo de sensibilidad, CMI y CMB, reportando que el extracto acuoso de *S. mombin* L., recolectadas en el estado de Ogun, Nigera, mostró actividad antimicrobiana significativa ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,0001$) en comparación con el ciprofloxacino, siendo *S. aureus* y *Bacillus*

subtilis más susceptibles al fármaco base, registrándose el mayor halo de inhibición. La investigación concluyó que el extracto acuoso de las hojas de *S. mombin* posee propiedades antibacterianas (10).

El 2018, se desarrolló una investigación que incluyó como muestra la corteza de *S. mombin* L., recolectada en Fazenda Farinha, municipio de Pocinhos-PB. La investigación determinó la presencia de polifenoles (34,60 %) y flavonoides (0,2536 %) siendo eficaz contra *S. aureus* y *E. coli*. El estudio concluyó que la corteza de *S. mombin* L. presenta un potencial antimicrobiano que es efectivo contra las infecciones causadas por *S. aureus* y *E. coli*, así como una toxicidad moderada contra *A. salina* (11).

El 2017, se estudió muestras de hojas frescas de *S. mombin* L., recolectadas en Obingwa del estado de Abia, Nigeria. Determinaron que los componentes fitoquímicos presentes en extractos etanólico y clorofórmico incluyen alcaloides ($5,97 \pm 0,03$ %), flavonoides ($3,00 \pm 0,01$ %), taninos ($3,80 \pm 0,02$ %), saponinas ($7,50 \pm 0,1$ %) y fenoles ($0,9 \pm 0,04$ %). La investigación concluye que ambos extractos presentan actividad inhibitoria contra *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *Salmonella typhimurium* (12).

1.2 Bases teóricas

1.2.1 Especie vegetal



Figura 1. Especie vegetal *S. mombin* L. en su hábitat

La familia Anacardiaceae, con 60 a 75 géneros y 600 especies en regiones tropicales, subtropicales y templadas, es económicamente importante y farmacéuticamente activa. El género tropical *Spondias* abarca entre 14 y 20 especies distribuidas mundialmente, con un rango de 4 a 7 especies presentes en el continente americano (13).

A) Clasificación taxonómica (14).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la especie *Spondias mombin* L.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Orden	Sapindales
Familia	Anacardiaceae
Género	<i>Spondias</i>
Especie	<i>Spondias mombin</i> L.
Nombre científico	<i>Spondias mombin</i> L.

B) Descripción botánica

Árbol caducifolio, con una altura promedio de 25 m. La copa es de ramificación abundante y densa. Posee un tronco voluminoso que va de 0,5 m a 2 m de diámetro, con una corteza áspera, agrietada, con numerosas proyecciones de crestas duras similares a espinas y de color marrón oscuro. Las hojas se muestran compuestas, alternas, imparipinnadas y sin estípulas, con una longitud de 5 a 0 cm de largo y de color verde amarillento. El fruto es una drupa ovoide, con cáscara amarilla vitelino hasta anaranjado, pulpa escasa, jugosa y agridulce (15).

C) Hábitat y distribución

Se encuentra en las áreas tropicales de América. Posee una amplia distribución en la cuenca amazónica de los siguientes países latinoamericanos como: Brasil, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela. En la Amazonía peruana es sembrada en departamentos tales como Loreto, Ucayali, San Martín, Amazonas, Madre de Dios, Huánuco, Pasco, Junín, Cuzco y Apurímac (16). Esta planta es muy común en el suroeste de Nigeria y se utiliza en la medicina popular (17).

D) Usos

Se usa en el tratamiento de infecciones de partes blandas de la piel e hinchazones, antiespasmódico, oftálmico; emético si se ingiere en dosis elevadas. Las hojas se consideran antisépticas, con un amplio espectro antimicrobiano, es utilizado para el tratamiento de enfermedades diarreicas, infecciones vaginales, estomacales y problemas en la piel como la dermatitis. La decocción de la corteza es empleada como anticonceptivo y para aliviar los síntomas causados por infecciones vaginales y estomacales (16,17). Se toma un té elaborado con las flores y las hojas para aliviar el dolor de estómago, la bilis, la uretritis, la cistitis y las inflamaciones de ojos y garganta (17). La cáscara del fruto posee un gran valor nutricional, aporta 26 mg de calcio, 27 mg de fósforo, 2,2 mg de hierro, además de cantidades significativas de ácido ascórbico, vitamina A, tiamina, riboflavina y niacina. Presenta también propiedades astringentes, heméticas, antidisentérico, antiblenorrágico y antihemorroidal (15).

1.2.2 Tamizaje fitoquímico

Es la identificación cualitativa mediante pruebas fitoquímicas de los principales grupos de componentes químicos que se encuentran en las especies vegetales. Estas pruebas fitoquímicas implican extraer los principios activos de la planta con un disolvente apropiado y mediante la aplicación de reacciones de coloración y precipitación (18).

1.2.3 Características de las cepas de estudio

1.2.3.1 *Escherichia coli*

A) Taxonomía (19)

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Escherichia coli*

Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>E. coli</i>

B) Descripción

Se considera la bacteria más común del microbiota intestinal, gramnegativo móvil con flagelo peritricos, anaerobio y anaerobio facultativo, no crean esporas, en cuanto a pruebas de identificación, dan positivo a indol y la descarboxilasa de lisina, produce manitol y gas fermentando azúcares. Son positivos para catalasa, negativos para oxidasa y reducen nitratos a nitritos. Miden de 2 a 3 μm (20).



Figura 2. *Escherichia coli* (21)

C) Patogenia

La infección ocurre cuando se generan leves traumatismos o a causa del uso de catéteres. La infección en las vías urinarias se produce por la unión de las cepas bacterianas a las células epiteliales, mediante la entrada de la bacteria a la vejiga, siendo la *E. coli* uropática (UPEC) las de mayor capacidad patogénica en casos de infección de las vías urinarias. La enterocolitis o diarrea del viajero es causado por la bacteria, mediante diversos mecanismos clasificándose en *E. coli*: enteropatogénica (EPEC), enterotoxigénica (ETEC), enteroinvasiva (EIEC), enterocitotóxica o conocido también como enterohemorrágica (EHEC) enteroagregativa (EAEC), difusamente adherente (DAEC) (20).

D) Resistencia

Debido al sobreuso de ampicilina, las bacterias desarrollaron resistencia a esta, con la producción de betalactamasas como su mecanismo de resistencia, lo que a su vez está ocasionando resistencia a sulfametoxazol con trimetoprima y las fluoroquinolonas, siendo en parte otro responsable de esta resistencia los plásmidos transmisibles (20).

1.2.3.2 *Staphylococcus aureus*

A) Taxonomía (22)

Tabla 3. Clasificación taxonómica de *Staphylococcus aureus*

Reino:	Bacteria
Filo:	Firmicutes
Clase:	Bacilli
Orden:	Bacillales
Familia:	Staphylococcaceae
Género:	<i>Staphylococcus</i>
Especie:	<i>S. aureus</i>

B) Descripción

Es el único de su género que produce coagulasas, son grampositivos, inmóviles, en medios de cultivos adecuados forman colonias redondas de 1 a 3 mm, esta especie se caracteriza de las demás por su tinte ligeramente amarillento, da negativo para oxidasas y positivo para catalasas. Posee una proteína específica de ella, la proteína A que posee propiedades quimiotácticas, anticomplementaria, antifagocítica y activa los linfocitos naturales (NK) (20).



Figura 3. *Staphylococcus aureus* (23)

C) Patogenia

Posee un arsenal de elementos que le otorgan muchos métodos de ataque, tales como: adhesina (permite el anclaje de las bacterias a las membranas citoplasmáticas, coagulasas (forma fibrina a través del fibrinógeno, formando una capa que protege a la bacteria de la fagocitosis), lipasas (permiten a la bacteria distribuirse en áreas de la piel con altas concentraciones de aceites, grasas, ceras), hialuronidasa (permite la difusión celular hacia los tejidos), hemolisina alfa (actúa lesionando las plaquetas), hemolisina delta (lesiona linfocitos, plaquetas y neutrófilos), enterotoxinas (causan intoxicación y envenenamiento por consumo de alimentos contaminados con la cepa), exfoliatina (provoca desprendimiento de piel en colgajos), exotoxinas pirogénicas (capaces de generar fiebre de intensidad variable) (20).

D) Resistencia

El 50 % de las cepas son productoras de betalactamasa. Por lo que se usan dicloxacilina, cefalosporinas de 1^{ra} generación, macrólidos. Actualmente se conoce que también están desarrollando resistencia a estos fármacos, por ello para identificar una cepa resistente a varios antimicrobianos, un buen indicador es la meticilina u oxacilina a los cuales, si son resistentes gracias a la acción del peptidoglucano PBP2a, dejando solo como alternativa la vancomicina (20).

1.2.3.3 *Pseudomonas aeruginosa*

A) Taxonomía (24).

Tabla 4. Clasificación taxonómica de *Pseudomonas aeruginosa*

Reino:	Bacteria
Filo:	Pseudomonadota
Clase:	Gammaproteobacteria

Orden:	Pseudomonadales
Familia:	Pseudomonadaceae
Género:	<i>Pseudomonas</i>
Especie:	<i>P. aeruginosa</i>

B) Descripción

Tiene forma de bastón, con una medida aproximada de 0,6 x 2 um, gramnegativa (20). Es un bacilo aerobio con la versatilidad en cuanto a necesidades energéticas suficientes y de crecimiento, por lo que no necesita de medios enriquecidos para su cultivo y sobreviven a temperaturas entre 20 a 40°C. También es notable por ser productor de los pigmentos exclusivo de esta especie, la piocianina de color azuloso y la fluoresceína de color amarillento que bajo la luz ultravioleta adquiere color fluorescente siendo producidas también por otras *Pseudomonas*. En medios de cultivo produce un olor “afrutado”. Son microorganismos positivos para oxidasas debido a su mecanismo productor de energía mediante oxidación (25).

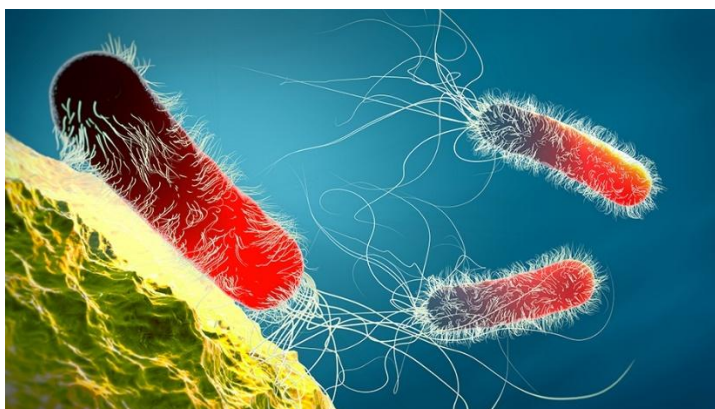


Figura 4. *Pseudomonas aeruginosa* (26)

C) Patogenia

Es patógena cuando las membranas mucosas y la piel se ven afectadas por el daño directo al tejido. La bacteria se adhiere a las membranas mucosas o

la piel colonizándolas, y posteriormente produciendo una enfermedad sistémica (19). Las fimbrias y la capa mucosa son responsables del amarre de la bacteria a las células de los tejidos. Las endotoxinas de la pared causan necrosis focal en el sitio de contagio. Una vez unido en la célula secretan sustancias extracelulares: dos hemolisinas, un glucolípido y el otro, una fosfolipasa, ambos responsables de la destrucción total de los eritrocitos. Además, se libera dos proteasas: exotoxina A, un polipéptido formado por una fracción A y B, siendo la B fijada a las células receptoras, esta exotoxina es causante de necrosis tisular (20).

D) Resistencia

Posee mecanismos como: producción de betalactamasas, carbapenemasas, enzimas modificadoras de aminoglucósidos, bombas de eflujo, impermeabilidad, entre otros mecanismos de resistencia conocidos (20).

1.2.3.4 *Salmonella typhimurium*

A) Taxonomía (24)

Tabla 5. Clasificación taxonómica de *Salmonella typhimurium*

Reino:	Bacteria
Filo:	Pseudomonadota
Clase:	Gammaproteobacteria
Orden:	Enterobacterales
Familia:	Enterobacteriaceae
Género:	<i>Salmonella</i>
Especie:	<i>S. typhimurium</i>

B) Descripción

Se clasifican por serotipos de acuerdo con la complejidad de sus antígenos O, K e H, aquellos de interés para la microbiología médica son: *S. Thyphi*, que

infecta solamente a humanos y *S. Typhimurium*, que infecta a humanos y otros animales. Morfológicamente poseen múltiples pilosidades, de los que destaca uno estructuralmente similar a las de *E. coli* tipo 1 por su unión a receptores de D-mannosa en las células eucariotas (25).

La movilidad de estas se debe a los flagelos peritricos. Produce muy poca fermentación de lactosa o sacarosa, generan ácido H₂S y gases empleando glucosa y D-manosa (27).

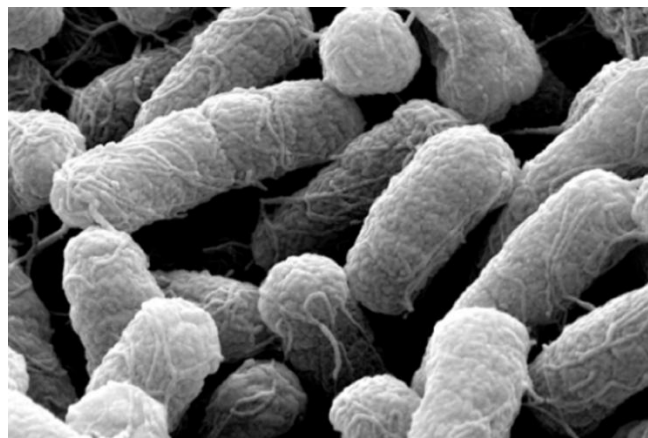


Figura 5. *Salmonella typhimurium* (28)

C) Patogenia.

Gastroenteritis, causado principalmente por la *S. typhimurium*, las células se adhieren a la membrana celular M intestinales creando una “zona fruncida”, por otro lado, en las islas de patogenicidad se halla genes pertenecientes al sistema de excreción. La zona fruncida induce endocitosis, y la bacteria para asegurar la supervivencia produce apoptosis de macrófagos permitiendo llegar a establecerse en la lámina propia. La diarrea ocurre debido a un aumento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos y una respuesta inflamatoria en el cuerpo (25).

D) Resistencia

Para la gastroenteritis se limita el uso de antimicrobianos debido a que prolongan los síntomas, a excepción de recién nacidos. Se emplea ampicilina, trimetoprim sulfametoxazol o cefalosporina de tercera generación. Pero pueden generar resistencia por la transmisión de genes mediante plásmidos de las bacterias entéricas (27).

1.3 Definición de términos básicos

- ❖ **Extracto vegetal:** Sustancia extraída de las distintas partes de una planta por una operación física o química y por la acción de un determinado solvente (29).
- ❖ **Actividad antibacteriana:** Capacidad de inhibir el crecimiento de las bacterias o destruirlas (25).
- ❖ **Microorganismos patógenos:** Agentes infecciosos capaces de ocasionar enfermedades a su huésped (27).
- ❖ **Resistencia bacteriana:** Capacidad específica de los microorganismos para resistir los efectos de los antibióticos destinados a eliminarlos o inhibirlos. (30).
- ❖ **Concentración mínima inhibitoria (CMI):** Se refiere a la menor cantidad de un agente antimicrobiano necesario para evitar el crecimiento de un microorganismo (31).

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1 Formulación de la hipótesis

Los extractos etanólico y clorofórmico de *S. mombin* L. presentan actividad antibacteriana.

2.2 Variables y su operacionalización

2.2.1 Variable independiente

- ❖ Extracto de hojas y corteza de *S. Mombin* L.

2.2.2 Variable dependiente

- ❖ Actividad antibacteriana

2.2.3 Operacionalización de variable

Tabla 6. Variable independiente

Variable independiente	Definición	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categorías	Valores de las categorías	Medio de verificación
Extracto de hojas y corteza de <i>Spondias mombin</i> L.	Extracto obtenido a partir de la maceración de hojas y corteza <i>Spondias mombin</i> L. con cloroformo y etanol.	Cuantitativa	Concentración (mg/mL)	Razón	Masa de los extractos	g o mg	Ficha de registro

Tabla 7. Variable dependiente

Variable dependiente	Definición	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categorías	Valores de las categorías	Medio de verificación
Actividad antibacteriana	Acción que presenta un compuesto para inhibir el crecimiento bacteriano en ensayos <i>in vitro</i> (29).	Cuantitativa	Halo de inhibición (mm)	Razón	Resistente (R) Intermedio (I) Sensible (S)	≤ 12 mm 12 a 14 mm ≥ 15 mm	Ficha de registro
			Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	Razón	Grado de turbidez	Ausencia de turbidez, inhibición del 100% Ligera turbidez, inhibición del 75% Inhibición aparente del crecimiento, inhibición del 50% Ligera inhibición, inhibición del 25% No inhibición	Ficha de registro

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Diseño metodológico

El estudio siguió un enfoque metodológico experimental-analítico, descriptivo, prospectivo y transversal.

Experimental-analítico, dado que se manipularon variables independientes, entre los grupos experimentales y de control para medir las actividades biológicas realizando comparaciones entre las diferentes concentraciones de los extractos, etanólico y clorofórmico de *Spondias mombin* L.

Descriptivo, se describió e interpretó de forma clara y detallada las variables de estudio.

Prospectivo, porque se desarrolló hacia adelante en el tiempo.

Transversal, dado que los datos fueron recolectados en un determinado tiempo.

3.2 Diseño muestral

Kirby bauer

El diseño fue factorial completamente aleatorizada con tres factores, de los cuales F1 (extracto etanólico de la corteza y hoja) = tiene 3 niveles, F2 (extracto clorofórmico de la corteza y hoja) = tiene 3 niveles, las cuales cada nivel es una concentración puesta a prueba. Y el factor F3 (actividad antibacteriana) tiene 1 nivel (el método Kirby Bauer), realizando 3 repeticiones por tratamiento. (Ver tabla 8)

Tabla 8. Diseño muestral de los experimentos del extracto etanólico y clorofórmico de la corteza y hoja de *Spondias mombin* L. por el método de Kirby Bauer.

Extractos	Concentraciones (mg/mL)		
	125	65,2	31,25
Extracto etanólico de la corteza	T1	T2	T3
Extracto clorofórmico de la corteza	T4	T5	T6
Extracto etanólico de la hoja	T7	T8	T9
Extracto clorofórmico de la hoja	T10	T11	T12

Macrodilución

El diseño fue factorial completamente aleatorizada con tres factores, de los cuales F1 (extracto etanólico de la corteza y hoja) = tiene 8 niveles, F2 (extracto clorofórmico de la corteza y hoja) = tiene 8 niveles, las cuales cada nivel es una concentración puesta a prueba. Y el factor F3 (actividad antibacteriana) tiene 1 nivel (el método macrodilución), realizando 3 repeticiones por tratamiento. (Ver tabla 9)

Tabla 9. Diseño muestral de los experimentos del extracto etanólico y clorofórmico de la corteza y hoja de *Spondias mombin* L. por el método de macrodilución.

Extractos	Concentraciones (mg/mL)							
	125	62,5	31,25	15,63	7,81	3,91	1,95	0,98
Extracto etanólico de la corteza	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Extracto clorofórmico de la corteza	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16
Extracto etanólico de la hoja	T17	T18	T19	T20	T21	T22	T23	T24
Extracto clorofórmico de la hoja	T25	T26	T27	T28	T29	T30	T31	T32

3.2.1 Población vegetal

Se realizó la recolección de 4,5 kg de corteza y 2 kg de hojas de *S. mombin* L. en la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana, situada en el kilómetro 23 de la carretera que conecta Iquitos con Nauta.

3.2.1.1 Criterios de selección

Criterios de inclusión

- ❖ Especie vegetal que hayan alcanzado su desarrollo óptimo.
- ❖ Hojas y cortezas sanas y frescas, libres de hongos y moho.
- ❖ Hojas y corteza en un estado óptimo de preservación.

Criterios de exclusión

- ❖ Plantas inmaduras
- ❖ Hojas y corteza infestadas de hongos y moho.
- ❖ Hojas y la corteza que presentan un deterioro significativo.

3.2.2 Población bacteriana

La población bacteriana fue establecida por cepas de *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aureginosa* ATCC 27853 y *S. typhimurium* ATCC 14028.

3.2.2.1 Criterios de selección

Criterios de inclusión

- ❖ Cultivos bacterianos sin contaminantes.
- ❖ Bacterias de colonias jóvenes.
- ❖ Bacterias de colonias aisladas que posean las características morfológicas del microorganismo.

Criterios de exclusión

- ❖ Cultivos bacterianos impuros, con contaminación presente.

- ❖ Bacterias de colonias adultas.
- ❖ Bacterias de colonias no aisladas que no posean las características morfológicas del microorganismo.

3.3 Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos.

3.3.1 Técnicas

Se utilizó la técnica de maceración para obtener los extractos, empleando etanol de 96° y cloroformo como solventes para extraer los compuestos deseados.

3.3.2 Instrumentos

Estos fueron debidamente calibrados, tales como balanza analítica, rotavapor, fiolas, embudos, matraz de Erlenmeyer, incubadoras, contadores de colonias, gradillas, entre otras. Asimismo, los reactivos que se utilizaron fueron el ácido clorhídrico (HCl), etanol (C₂H₆O), cloroformo (CHCl₃), sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄), hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de amonio (NH₄OH), reactivo de Dragendorff, subnitrito de bismuto (Bi₅H₉N₄O₂₂), Reactivo de Wagner, Reactivo Mayer, ácido pícrico (C₆H₃N₃O₇), hidróxido de sodio (NaOH), reactivo sudan (Sudan III), reactivo de Carr-Price, reactivo de Kedde, cloruro de sodio (NaCl), cloruro férrico (FeCl₃), ninhidrina (C₉H₆O₄), hidróxido de potasio (KOH), reactivo de Fehling, sulfato de sodio anhidrido (Na₂SO₄) , sulfato de cobre hidratado (CuSO₄·5H₂O), cloruro de bario (BaCl₂), acetato de magnesio, agar Muller-Hinton, caldo Muller-Hinton, agar nutritivo, y discos de antibiótico ciprofloxacino, gentamicina y amikacina.

3.3.3 Procedimientos experimentales

La **figura 6** muestra un flujograma de todo el proceso experimental desarrollado en esta investigación.

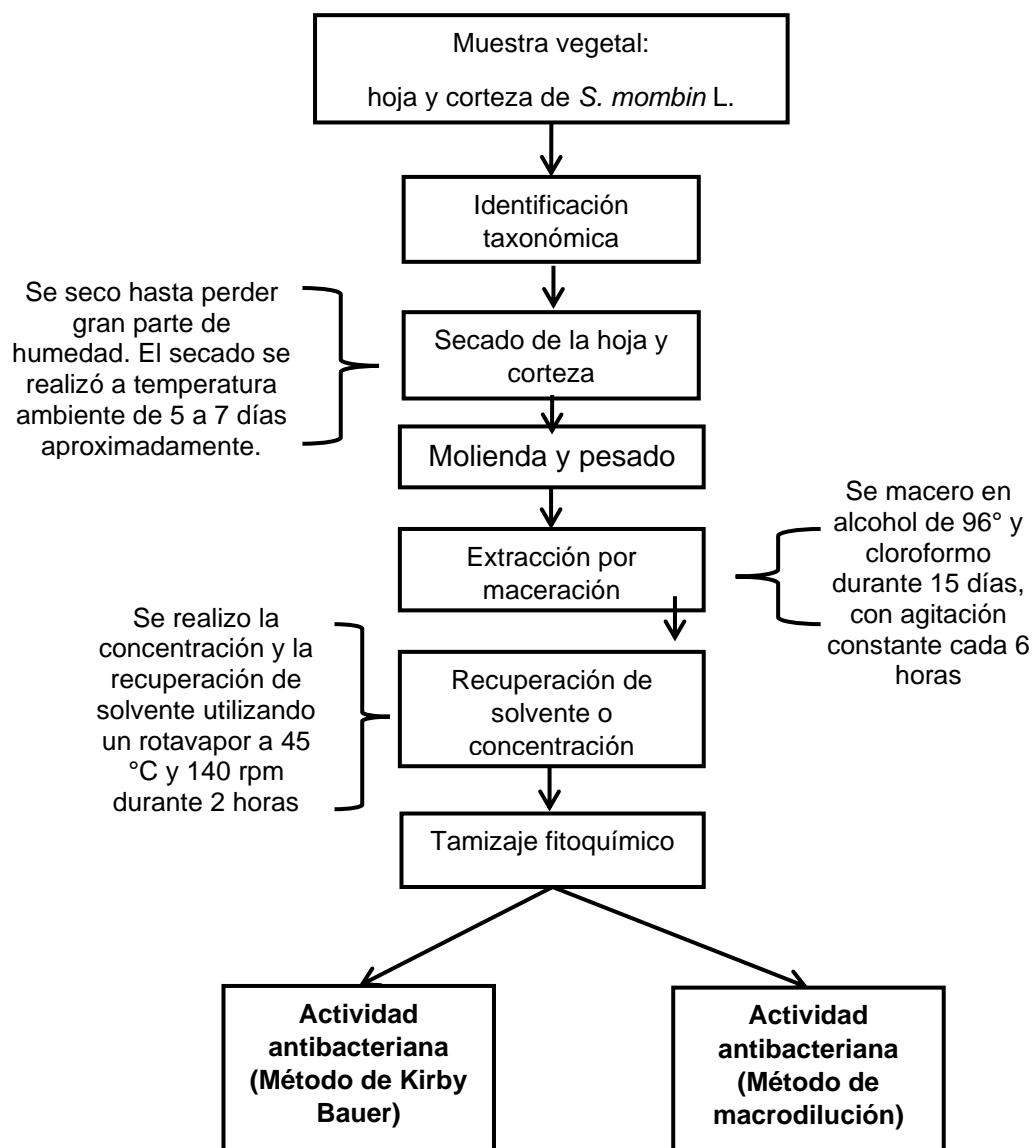


Figura 6. Flujograma del proceso experimental.

A) Obtención de los extractos

Recolección de la especie vegetal

Las hojas y corteza de *S. mombin* L., fueron recolectada a las 07:50 horas del 09 de septiembre del año 2023, en la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana, ubicado en el Km 23 de la Carretera Iquitos-Nauta. Las coordenadas fueron: Sur: 3°57'13.9" y Oeste: 73°25'17.0" (Anexo N° 2).

Identificación de la especie vegetal

Se llevó a cabo en el herbarium de la UNAP, la planta fue identificada taxonómicamente por un experto botánico (Anexo N°1).

Tratamiento de la especie vegetal

Los criterios de inclusión previos guiaron la selección de las muestras de hojas y cortezas. Luego, se sometió la corteza a un lavado con agua corriente para eliminar impurezas, seguido de un enjuague con agua destilada para asegurar una limpieza exhaustiva. Por otro lado, las hojas se limpiaron con una toalla seca para remover el polvo y cualquier residuo extraño

La muestra vegetal (hojas) se secó a temperatura ambiente a la sombra durante 15 días, removiendo tres veces al día.

La corteza se secó durante 20 días a temperatura ambiente después de ser picada en pequeñas fracciones para facilitar la molienda.

Molienda

Las muestras secas de cada órgano se procesaron con un molino manual para reducir el tamaño de la muestra y favorecer la interacción con el solvente. Por último, se pesaron las muestras para establecer un peso inicial.

Maceración

Las hojas y corteza se pesaron en cantidades de 150 gramos cada órgano, para su posterior maceración.

Las muestras se maceraron 1:10. Para ello, se maceraron 150 g de hoja y corteza en 1,5 L de etanol al 96 % y cloroformo en un recipiente de vidrio color ámbar, fueron etiquetadas y almacenadas en un ambiente seco y fresco por 15 días bajo agitación cada 6 horas (Anexo N°3).

Filtrado

Para obtener el producto final, las muestras se filtraron en un matraz con papel de filtro sobre un embudo de vidrio tras 15 días de maceración. El residuo de corteza y hojas se volvió a macerar en 1 L de etanol y cloroformo (Anexo N°3).

Concentración y recuperación de solvente

Los extractos etanólico y clorofórmico se obtuvieron utilizando un evaporador rotatorio a 45 °C y 140 rpm durante 2 horas. Los extractos se separaron y etiquetaron en placas Petri y se secaron a temperatura ambiente durante una semana. Después del proceso de secado, las muestras fueron raspadas y pesadas para obtener el porcentaje de rendimiento, luego se sellaron en contenedores herméticos para preservar su calidad y estabilidad (Anexo N°4).

Obtención del porcentaje de rendimiento

La fórmula siguiente se empleó para calcular el rendimiento porcentual de cada extracto:

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso del extracto}}{\text{Peso de la muestra total}} \times 100$$

B) Tamizaje fitoquímico

La identificación y análisis de metabolitos secundarios se ejecutaron en las instalaciones del Laboratorio de Investigación de Productos Antiparasitarios

Naturales del CIRNA-UNAP. Se utilizaron extractos de etanol y cloroformo de la corteza y hojas de *S. mombin* L., y se realizó mediante reacciones químicas, obteniéndose resultados de cambios de coloración, formación de precipitados, formación de gas, entre otras reacciones, para los cuales se emplearon 6 patrones: etanólico, metanólico, hexánico, clorofórmico, hidroalcohólico (etanol/agua) y HCl 1%. El tamizaje fitoquímico incluyó los siguientes ensayos (32) (Anexo N°5, 6, 7, 8, y 10):

✓ **Ensayo Drangendorff, Mayer, Warner, Hager, CCF Y Vitali-Morrin (alcaloides):** Se pesaron 20 mg de cada extracto, y se disolvió en 4 a 6 mL de HCl al 1 %, luego se filtró en Na_2SO_4 anhidro, posterior al filtrado se repartió equivalentemente en 4 tubos de ensayos, posteriormente se añadió al primer tubo 5 gotas del reactivo de Dragendorff, al segundo tubo se adicionó 5 o 7 gotas del reactivo de Mayer, al tercer tubo se adicionó 5 o 7 gotas del reactivo de Hager, y al cuarto tubo se adicionó 5 o 7 gotas del reactivo de Warner, todos los tubos fueron agitados y puestos en reposo. Para interpretar los resultados para el tubo con el reactivo de Drangendorff, un resultado positivo muestra un precipitado naranja o rojo-ladrillo, el tubo con reactivo de Mayer se forma un precipitado crema, el tubo con reactivo de Hager se forma un precipitado amarillo, y el tubo con el reactivo de Warner se forma un precipitado flucolento de color café, que pueden variar al rojo claro o pardo oscuro (32).

Con respecto a la reacción de Vitali-Morin, se adicionó a la solución de los extractos 10 gotas de ácido nítrico fumante, y se evaporó, después se dejó enfriar, y se adicionó 1 mL de etanol 96 °, 0,5 mL de acetona y una pastilla de KOH, y se agitó. Una coloración violeta alrededor de la pastilla de KOH muestra un resultado positivo (32).

Con respecto a la cromatografía de capa fina, se realizó la marcha alcaloidal (solución a un pH: 9 con hidróxido de amonio), se cortó la placa cromatográfica, se tomó un capilar y se sembró la solución básica en la placa, luego se colocó una celda de elusión, el solvente subió hasta la línea indicada en el sistema de acetato de etilo al 100%, posteriormente se retiró la placa de la celda y se secó; se pulverizó con el reactivo de Dragendorff (32).

- ✓ **Ensayo de Liebermann-Burchard (triterpenos y esteroides):** Se pesó 10 mg de cada extracto en un tubo de ensayo, y se disolvió con 4 mL de cloroformo, luego se filtró. En otro tubo se añadió 1 mL del filtrado más 1 mL de anhídrido acético, y se dejó caer 3 a 4 gotas de ácido sulfúrico concentrado. La detección de color verde-azul indica la presencia de esteroides, mientras que una coloración rosa o púrpura revela la presencia de saponinas y triterpenos (32).
- ✓ **Ensayo de Borntrager (quinonas):** Se pesó 2 mg de cada extracto y se disolvió en un 1 mL de cloroformo. Posteriormente se agitó con 1 mL de hidróxido de sodio al 5 %. Una coloración rosa-rojo indica la presencia de quinonas (32).
- ✓ **Ensayo de Baljet (lactonas y cumarinas):** Se preparó una solución disolviendo 2 mg de cada extracto en 1 mL de etanol, luego se mezcló con una solución recién preparada de ácido pícrico al 1% en etanol e hidróxido de sodio al 10% en agua. La formación de un color o precipitado rojo-naranja o violeta es indicativa de la presencia de estructuras lactónicas (32).
- ✓ **Ensayo de Fehling (azúcares reductores):** Se pesó 2 mg de extracto y se diluyó en 2 mL de agua destilada, luego se añadió 2 mL de reactivo de

fehling y se calentó en baño de maría de 5 a 10 minutos. Si se forma un precipitado de color rojo se considera la presencia de azúcares reductores (32).

- ✓ **Ensayo de Espuma (saponinas):** En un tubo de ensayo, se midieron 10 mg de extracto y se disolvieron en etanol. Luego, se agitó vigorosamente durante 3 minutos y se dejó en reposo. La formación de espuma que persiste por más de 5 minutos indica un resultado positivo (32).
- ✓ **Ensayo de SUDAN III (compuestos grasos):** Se pesó 2 mg de cada extracto y se diluyó con el solvente de extracción (hexano), se añadió 1 mL de solución del colorante de sudan III (diluida en agua) y se calentó en baño maría hasta evaporar el solvente. La formación de película de color rojo en el líquido o paredes del tubo demuestran presencia de compuestos grasos (32).
- ✓ **Ensayo de Ninhidrina (Aminoácidos y aminos):** Se pesó 2 mg de extracto y se diluyó en 2 mL de etanol, se adicionó 1 mL de disolución de ninhidrina al 5 % en etanol, y se calentó en baño maría de 5 a 10 minutos. La aparición de una coloración azul-violeta es indicativa de la presencia de aminos y/o aminoácidos (32).
- ✓ **Ensayo de Borntrager-Kraus (naftoquinonas y antraquinonas):** Se realizó una solución hidroalcohólica (agua:etanol 7:1) con cada extracto, y se adicionó 5 gotas de peróxido de hidrógeno, 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado y se calentó; se extrajo las naftoquinonas antraquinonas con 1 mL de tolueno y se agitó con 1 mL de solución de hidróxido de sodio al 5 % e hidróxido de amonio al 2 % y se dejó reposar para separación de fases. Si la fase inferior se torna de color rosado a rojo intenso se asume la presencia de naftoquinonas y antraquinonas (32).

- ✓ **Ensayo de Shinoda (flavonoides):** Se pesaron 10 mg de cada extracto, y se disolvió en 4 mL de metanol, luego se filtró, y se añadió al filtrado un trozo de magnesio, y añadió 6 a 8 gotas de ácido clorhídricos, y se dejó reaccionar. El color amarillo-rojo, evidencia la presencia de flavonas, rojo-magenta flavonoles, rojo-magenta-violeta-azul flavononas, y sin coloración isoflavonas, chalconas y auronas (32).
- ✓ **Ensayo de Carr-Price (carotenos):** Se pesaron 5 mg de cada extracto y se disolvió en 1 mL de solvente usado en la extracción (hexano), y se adicionó 1 mL de reactivo de Carr-Price. Una coloración verde-azul, indica la presencia de carotenos (32).
- ✓ **Ensayo de Rosenheim (leucoantocianidinas):** Se pesaron 5 mg de cada extracto y se disolvió con una solución hidroalcohólica (agua: etanol 7:1), y se filtró, y el filtrado se pasó a un tubo de ensayo y se añadió 10 gotas de ácido clorhídrico concentrado, se mezcló y se sometió a calentamiento en baño maría hirviendo durante 10 a 15 minutos, se enfrió y se pasó a otro tubo de ensayo, y se añadió 0,4 mL de alcohol amílico, se mezcló y dejó reposar hasta la separación de fases. Si la fase inferior presenta un color carmesí oscuro al rosado débil se evidencia la presencia de leucoantocianidinas (32).
- ✓ **Ensayo de Kedde (glicósidos y cardiotónicos):** Se pesaron 5 mg de cada extracto y se disolvió en 2 mL de etanol; se añadió 0,5 mL de reactivo de Kedde y se agitó. Si aparece una coloración rosa o azul-violeta demuestra la presencia de glicósidos y cardiotónicos (32).
- ✓ **Ensayo de acetato de magnesio (Antraquinonas hidroxiladas):** Se mezclaron 2 mg de cada extracto con 1 mL de metanol, y se añadió 1 gota de solución metanólica con ayuda de un capilar, la mezcla se añadió sobre

una tira de papel filtro y se dejó evaporar el solvente, se pulverizó la muestra con una solución metanólica de acetato de magnesio al 0,5 % dejando secar a 90 °C. La aparición de un color violeta indica la presencia de quinonas, antraquinonas hidroxiladas (32).

- ✓ **Ensayo de catequinas:** Fueron pesados 2 mg de cada extracto, y se diluyó en 2 mL de etanol, con un capilar, se recogió una gota de la dilución y se depositó en un papel filtro, luego se agregó una solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha de color verde carmelita bajo la luz ultravioleta (UV) es indicativa de la presencia de catequinas (32).
- ✓ **Ensayo de cumarinas fijas:** Se pesaron 2 mg de cada extracto y se diluyó en 2 mL de etanol, se añadió 2 gotas separadas en un papel filtro; a una de las gotas se le añade una gota de hidróxido de potasio y se llevó a la luz UV. Si el punto donde se añadió el hidróxido de potasio presenta fluorescencia azul, amarilla, verde o púrpura evidencia la presencia de cumarinas fijas (32).
- ✓ **Ensayo de Cloruro férrico (fenoles y taninos):** Se pesaron 2 mg de cada extracto y se disolvieron en 2 mL de etanol, luego se agregó 0,5 mL de una solución de cloruro férrico al 5% en solución salina al 85%. La formación de un precipitado de color verde, rojo o pardo indica la presencia de compuestos fenólicos, mientras que un precipitado azul sugiere la presencia de taninos hidrolizables. Además, la aparición de un color verde oscuro o negro indica la presencia de taninos condensados (32).

C) Determinación de la actividad antibacteriana

Método de difusión en agar Kirby Bauer. Es la prueba de sensibilidad antimicrobiana que determina si un microorganismo es susceptible o resistente a un antibiótico específico (33).

El procedimiento se llevó a cabo, teniendo en cuenta el manual de procedimientos para pruebas de sensibilidad de antibióticos frente a cepas bacterianas, utilizando el método de difusión en disco (34) (Anexo N°11 y 12), el cual se describe de la siguiente manera:

✓ **Activación de las cepas bacterianas**

Se emplearon cepas de referencia ATCC de *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. typhimurium* frente a concentraciones de 125 mg/mL, 62,5 mg/mL y 31,25 mg/mL del extracto etanólico y clorofórmico de las hojas y corteza de *S. mombin* L. Las cuales fueron activadas inoculando la muestra bacteriana en tubos de ensayo con caldo TSA e incubadas a 37 °C por 24 horas, posterior a ello, se inoculó con ayuda de un asa bacteriológica formando estrías longitudinales en placas petri conteniendo agar TSA, las placas fueron invertidas, y se incubaron en aerobiosis a 37 °C durante 24 horas. (34).

✓ **Dilución de extractos**

Se pesaron 0,25 g de cada extracto en viales Ependorff estériles y se diluyeron en 1 mL de DMSO hasta llegar a 250 mg/mL. Tras homogeneizar con un vórtex, los extractos que no se disolvieron fueron llevado a baño maría a temperatura de 40 °C durante varios minutos y se homogeneizaron de nuevo. Las soluciones madre de cada extracto produjeron concentraciones de ensayo de 125, 62,5 y 31,25 mg/mL (34).

✓ **Preparación de discos impregnados con los extractos**

Con la ayuda de un perforador se formaron los discos de papel Whatman N° 5, los cuales fueron acomodados en placas petri en cantidad de 20 unidades por cada placa, luego las placas con los discos fueron envueltos con papel de Kraft, y llevados a la estufa a 180 °C por 2 horas para su esterilización (34).

Posterior a la esterilización de los discos, estos fueron impregnados con 20 microlitros de cada extracto diluido, respectivamente (34).

✓ **Preparación de controles**

Con respecto a los controles positivos, el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la FIA-UNAP, nos facilitó los discos comerciales de antibióticos gentamicina (10 µg), ciprofloxacino (5 µg) y amikacina (30 µg). Para el control negativo se impregnaron discos estériles de papel Whatman N° 5, con la solución de DMSO (34).

✓ **Preparación del inóculo**

Colonias aisladas en agar TSA de las bacterias en estudio, fueron purificadas en agar Muller Hinton, posteriormente se seleccionaron 3 a 4 colonias, y con la ayuda de un asa bacteriológica estas fueron transferidas a un tubo de ensayo que contenía en su interior aproximadamente 5 mL de una solución de cloruro de sodio al 0,9 %, el procedimiento se realizó hasta alcanzar la turbidez de la escala 0,5 de McFarland, lo que indica que hay $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, la comparación se realizó visualizando en un ambiente con luz clara (34).

✓ **Inoculación de las placas de agar Muller Hinton**

Una vez obtenido el inóculo y ajustado a la turbidez de la escala 0,5 de McFarland, con la ayuda de un hisopo estéril, se sumergió el hisopo en la suspensión, y se procedió a inocular la placa con el agar Muller Hinton, realizando estrías de izquierda a derecha, de arriba abajo, asegurando que el inóculo bacteriano se distribuya por toda la placa; se dejó secar la placa a temperatura ambiente por aproximadamente 5 minutos (34).

✓ **Aplicación de los discos**

Tras inocular placas de agar Muller Hinton con las cepas bacterianas, se aplicaron discos conteniendo los extractos a evaluar. Utilizando pinzas

estériles o una aguja, se colocó cuidadosamente cada disco en la superficie de agar para garantizar un contacto perfecto.

Para la OMS, el diámetro de los discos debe ser de 6 mm, y deben estar distribuidos uniformemente a una distancia mínima de 25 mm, evitando de esta manera la superposición de las zonas de inhibición. El mismo procedimiento se realizó para aplicar los discos de los controles (34).

✓ **Incubación**

Aplicado los discos en las placas con el agar Muller Hinton, estas fueron invertidas e incubadas a una temperatura de 35 °C por 18-24 horas (34).

✓ **Lectura e interpretación de los resultados**

Pasado el periodo de incubación con la ayuda de una regla vernier se procedió a medir los diámetros de las zonas de inhibición considerando el diámetro del disco. La lectura se realizó utilizando un contador de colonias con fondo negro, ubicando el equipo en una zona con buena iluminación (34).

D) Concentración mínima inhibitoria

Se realizó mediante el método de macrodilución en caldo propuesto por el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI) (35) (Anexo N°13).

✓ **Preparación del inóculo bacteriano**

Se suspendió en cloruro de sodio al 0.9% el microorganismo hasta alcanzar una turbidez de 0,5 McFarland. El inóculo de 0,5 de turbidez de McFarland se diluyó en caldo para que cada pocillo o tubo contenga de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. La inoculación con la suspensión normalizada en los 15 minutos siguientes a la preparación evitó la duplicación microbiana. Debe calcularse para cada técnica de inoculación y microorganismo, ya que la concentración de inóculo ajustada varía. Se consiguió una dilución 1:100 disolviendo 0,1 mL de inóculo en 9,9 mL de medio Muller Hinton.

✓ **Dilución del extracto**

Se pesó un total de 0,25 g de cada extracto vegetal y luego se mezcló con 1 mL de DMSO para crear una solución con una concentración de 250 mg/mL. Posteriormente, las muestras se homogeneizaron utilizando un vórtex, y los extractos no disueltos se retuvieron y se sometieron a un baño de agua a una temperatura de 40°C durante unos minutos antes de homogeneizarlos de nuevo. Se preparó una solución de ensayo con una concentración de 125 mg/mL utilizando la solución madre.

Se adquirieron 0,1 mL de la solución de ensayo y se combinaron con 0,9 mL de caldo Mueller Hinton en el tubo N° 01.

A partir del tubo N° 01, se transfieren 0,5 mL y se combinan con el tubo N° 02, que ya contiene 0,5 mL de caldo Mueller Hinton. Este proceso se repite hasta llegar al tubo N° 08. Se recupera un total de 0,5 mL del tubo N° 08, que posteriormente se desecha.

✓ **Colocación del inóculo bacteriano en los tubos con caldo**

Siguiendo este procedimiento, se introdujo un volumen de 0,5 mL de la solución bacteriana en cada uno de los tubos. Cada tubo tendrá una capacidad final mínima de 1 mL. Llegando a concentraciones entre 125 mg/mL y 0,98 mg/mL.

✓ **Incubación**

Para la técnica de macrodilución, el tiempo de incubación fue de 24 horas a 37 °C.

✓ **Lectura e interpretación de la CMI**

La CIM se define como la concentración más baja de extracto que impide el crecimiento de las bacterias, identificada por la falta de turbidez en la solución

y determinada mediante comparación con un tubo de control de crecimiento (Anexo N°14).

3.4 Procesamiento y análisis de datos

Una vez recolectado los datos estos fueron tabulados y procesados en el programa de Microsoft Excel, donde se aplicó una estadística descriptiva mediante tablas.

3.5 Aspectos éticos

Este estudio, al tratarse de un ensayo *in vitro* sobre la actividad antibacteriana de extractos vegetales de *S. mombin* L., los aspectos éticos involucrados son mínimos. Dado que los experimentos no se realizaron con seres humanos ni animales, se redujo significativamente las consideraciones éticas. No obstante, se aseguró la obtención sostenible y responsable de las muestras vegetales. Además, se siguió un manejo adecuado de los microorganismos para minimizar riesgos de contaminación o desarrollo de resistencia bacteriana. Se priorizó la transparencia y la integridad científica de los datos obtenidos en todas las fases de la investigación.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1 Porcentaje de rendimiento de los extractos

Tabla 10. Rendimiento de los extractos etanólico y clorofórmico de hojas y corteza de *Spondias mombin* L.

Nombre científico	Órgano vegetal	Extracto	Peso seco (g)	Peso extracto (g)	Rendimiento %
<i>S. mombin</i> L.	Hojas	Etanólico	150	5,63	3,75%
<i>S. mombin</i> L.	Corteza	Etanólico	150	14,25	9,5%
<i>S. mombin</i> L.	Hojas	Clorofórmico	150	4.88	3,25%
<i>S. mombin</i> L.	Corteza	Clorofórmico	150	2.62	1,75%

En la Tabla 10, se muestran los porcentajes de rendimiento del extracto etanólico de hojas y corteza de *S. mombin* L., observándose que el mayor porcentaje de rendimiento se encuentra en la corteza, con el 9,5%, las hojas presentaron un rendimiento del 3,75%.

Asimismo, se muestran los porcentajes de rendimiento del extracto clorofórmico de hojas y corteza de *S. mombin* L., observándose que el mayor porcentaje de rendimiento se encuentra en las hojas, con el 3,25%, mientras que las hojas tienen un rendimiento del 1,75%.

4.1 Tamizaje fitoquímico

En la tabla 11, se muestra el tamizaje fitoquímico de los extractos etanólico y clorofórmico de la hoja y corteza de *S. mombin* L. Se observa en el extracto etanólico abundancia (+++) de triterpenos y esteroides, fenoles y taninos tanto en el extracto de la hoja como en la corteza. Asimismo, en la corteza se tiene abundante (+++) presencia de flavonoides, encontrándose ausente este

metabolito en el extracto de la hoja. En una concentración moderada (++) se evidencia la presencia de saponinas, lactonas, carotenos.

Con respecto al extracto clorofórmico de la hoja se evidencio abundante (+++) presencia de triterpenos y esteroides, y de forma moderada (++) carotenos.

En el extracto de la corteza solo se evidenció la presencia leve (+) de triterpenos, esteroides, lactonas y cumarinas.

Tabla 11. Tamizaje fitoquímico de extractos etanólico y clorofórmico de hojas y corteza de *Spondias mombin* L.

Metabolito secundario	Extracto etanólico		Extracto clorofórmico		
	Hojas	Corteza	Hojas	Corteza	
Alcaloides	D	-	+	No	No
	M	-	-	No	No
	W	-	-	No	No
	V-M	-	+	No	No
	CCF	-	+	No	No
Triterpenos y Esteroides	(+++)	(+++)	(+++)	(+)	
Antraquinonas Hidroxiladas	-	(+)	-	-	
Naftoquinonas y Antraquinona	-	(+)	-	-	
Flavonoides	-	(+++)	-	-	
Quinonas	-	-	-	-	
Leucoantocianidina	-	(+)	-	-	
Caroteno	(++)	-	(++)	-	
Glicósidos y Cardiotónicos	-	-	-	-	
Fenoles y Taninos	(+++)	(+++)	(+)	-	
Compuestos Grasos	-	-	-	-	
Aminoácidos y Aminas	-	-	-	-	
Saponinas	(++)	(+)	(+)	-	
Lactonas	(++)	-	-	(+)	
Azucares Reductores	-	-	-	-	
Cumarinas Fijas	-	-	-	(+)	
Catequinas	-	-	-	-	

Nota: (+++): Abundante; (++): Moderado; (+): Leve; -: Ausente; D: Dragendorff Wagner, M: Mayer. NO: No se realiza el ensayo para este tipo de extracto.

4.2 Actividad antibacteriana

4.2.1 Kirby Bauer

4.2.1.1 Extracto etanólico

De la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *S. mombin* L., frente a *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* y *S. typhimurium*.

En la tabla 12, se observa que en la concentración "A" (125 mg/mL) para el microorganismo *S. aureus* el extracto presentó una actividad intermedia con halo de inhibición de $12,5 \pm 0,4$ mm. Con respecto a las concentraciones "B y C", se evidenció resistencia de los microorganismos evaluado al extracto.

El extracto etanólico de la corteza no evidenció alguna actividad antibacteriana, siendo los microorganismos utilizados resistentes al extracto.

(Ver tabla 12 y 13).

Tabla 12. Halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

BACTERIA	CONCENTRACIÓN "A"		CONCENTRACIÓN "B"		CONCENTRACIÓN "C"		CIPROFLOXACINO		GENTAMICINA		AMIKACINA	
	125 mg/mL		62,5 mg/mL		31,25 mg/mL		5 µg		10 µg		30 µg	
	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	34,7±0,4	Sensible	-		-	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	12,5±0,4	Intermedio	9,5±0,4	Resistente	8,3±0,2	Resistente	-		19,2±0,2	Sensible	-	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	-		-		16,5±0,4	Sensible
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	30,5±0,4	Sensible	-		-	

* Esquema de los Diámetros de la Zona de Inhibición:

Resistente: < 12 mm

Intermedio: 12 a 14 mm

Sensible: > 15 mm

Fuente: Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud del Perú, 2002, "Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de Disco Difusión"

Tabla 13. Halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de corteza de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

BACTERIA	CONCENTRACIÓN "A"		CONCENTRACIÓN "B"		CONCENTRACIÓN "C"		CIPROFLOXACINO		GENTAMICINA		AMIKACINA	
	125 mg/mL		62,5 mg/mL		31,25 mg/mL		5 µg		10 µg		30 µg	
	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	34,7±0,4	Sensible	-			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	11,1± 0,7	Resistente	8,8±0,2	Resistente	6,8± 0,2	Resistente	-		19,2±0,2	Sensible		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	-				16,5±0,4	Sensible
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	9,5±0,4	Resistente	8,5±0,4	Resistente	7,7±0,2	Resistente	30,5±0,4	Sensible	-		-	

* Esquema de los Diámetros de la Zona de Inhibición:

Resistente: < 12 mm

Intermedio: 12 a 14 mm

Sensible: > 15 mm

Fuente: Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud del Perú, 2002, "Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de Disco Difusión"

4.2.1.2 Extracto clorofórmico

De la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto clorofórmico de hojas y corteza de *S. mombin* L. frente a *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* y *S. typhimurium*, se evidencia que los microorganismos utilizados en el experimento reportaron tener resistencia al extracto a concentraciones de 125 mg/mL, 31,25 mg/mL, 62,5 mg/mL. (Ver tabla 14 y 15).

Tabla 14. Halos de inhibición (mm) del extracto clorofórmico de hojas de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

BACTERIA	CONCENTRACIÓN "A"		CONCENTRACIÓN "B"		CONCENTRACIÓN "C"		CIPROFLOXACINO		GENTAMICINA		AMIKACINA	
	125 mg/mL		62,5 mg/mL		31,25 mg/mL		5 µg		10 µg		30 µg	
	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	34,0±0,7	Sensible	-		-	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	9,7± 0,4	Resistente	8,8±0,2	Resistente	7,5±0,4	Resistente	-		20,3±0,4	Sensible	-	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	-		-		17,2±0,2	Sensible
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	9,5±0,4	Resistente	8,5±0,4	Resistente	7,7±0,2	Resistente	31,0±0,7	Sensible	-		-	

* Esquema de los Diámetros de la Zona de Inhibición:

Resistente: < 12 mm

Intermedio: 12 a 14 mm

Sensible: > 15 mm

Fuente: Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud del Perú, 2002, "Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de Disco Difusión"

Tabla 15. Halos de inhibición (mm) del extracto clorofórmico de corteza de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

BACTERIA	CONCENTRACIÓN "A"		CONCENTRACIÓN "B"		CONCENTRACIÓN "C"		CIPROFLOXACINO		GENTAMICINA		AMIKACINA	
	125 mg/mL		62,5 mg/mL		31,25 mg/mL		5 µg		10 µg		30 µg	
	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	34,3±0,4	Sensible	-		-	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	8,0± 0,0	Resistente	7,3±0,2	Resistente	0,0±0,0	Resistente	-		19,5±0,4	Sensible	-	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	0,0±0,0	Resistente	-		-		16,8±0,5	Sensible
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	9,5±0,4	Resistente	8,5±0,4	Resistente	7,7±0,2	Resistente	31,0±0,0	Sensible	-		-	

* Esquema de los Diámetros de la Zona de Inhibición:

Resistente: < 12 mm

Intermedio: 12 a 14 mm

Sensible: > 15 mm

Fuente: Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud del Perú, 2002, "Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de Disco Difusión"

4.2.2 Macrodilución

4.2.2.1 Extracto etanólico

En la Tabla 16, se presentan los resultados obtenidos de la evaluación de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hoja de *S. mombin* L. frente a *S. aureus*, donde se evidencia que la CMI del extracto evaluado fue de 7,81 mg/mL (tubo 5), considerando al extracto “poco activo”. Con lo que respecta a *P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. typhimurium* se evidenció que la CMI fue de 62,5 mg/mL (tubo 2) y 31, 25 mg/mL (tubo 3) respectivamente, considerando al extracto inactivo a las cepas evaluadas.

Tabla 16. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

BACTERIA EN ESTUDIO	DILUCIÓN POR TUBO	CMI	RESULTADO (*)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	C2	62,5 mg/mL	Inactivo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	C5	7,81 mg/mL	Poco activo
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	C3	31,25 mg/mL	Inactivo
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	C3	31,25 mg/mL	Inactivo

* Actividad antimicrobiana / Valor de CMI

Inactivo: > 16 mg/ml

Poco Activo: 6 - 15 mg/ml,

Moderadamente activo: 1- 5 mg/ml,

Buena Actividad: < 1 mg/ml,

Fuente: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), M07, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 2018 (35).

En la Tabla 17, se presentan los resultados obtenidos de la evaluación de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de corteza de *S. mombin* L. frente a *S. aureus* y *Salmonella typhimurium*, donde se evidencia que la CMI del extracto evaluado fue de 7,81 mg/mL (tubo 5) y 15,62 mg/mL (tubo 4), considerando al extracto “poco activo”. Con lo que respecta a *P. aeruginosa* y *E. coli* se evidenció que la CMI fue de 62,5 mg/mL (tubo 2) y 31,25 mg/mL (tubo 3) respectivamente, considerando al extracto inactivo a las cepas evaluadas.

Tabla 17. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de corteza de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

BACTERIA EN ESTUDIO	DILUCIÓN POR TUBO	CMI	RESULTADO (*)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	C2	62,5 mg/mL	Inactivo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	C5	7,81 mg/mL	Poco activo
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	C3	31,25 mg/mL	Inactivo
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	C4	15,62 mg/mL	Poco activo

* Actividad antimicrobiana / Valor de CMI

Inactivo: > 16 mg/ml

Poco Activo: 6 - 15 mg/ml,

Moderadamente activo: 1- 5 mg/ml,

Buena Actividad: < 1 mg/ml,

Fuente: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), M07, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility

Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 2018 (35).

4.2.2.2 Extracto clorofórmico

En la Tabla 18, se presentan los resultados obtenidos de la evaluación de la concentración mínima inhibitoria del extracto clorofórmico de hojas de *S. mombin L.* frente a *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *S. typhimurium*, donde se evidencia que la CMI del extracto evaluado fue de 7,81 mg/mL (tubo 5) y 15,62 mg/mL (tubo 4) respectivamente, considerando al extracto “poco activo”. Con lo que respecta a *E. coli* se evidenció que la CMI fue de 31,25 mg/mL (tubo 3), considerando al extracto inactivo a las cepas evaluadas.

Tabla 18. Concentración mínima inhibitoria del extracto clorofórmico de hojas de *Spondias mombin L.* frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

BACTERIA EN ESTUDIO	DILUCIÓN POR TUBO	CMI	RESULTADO (*)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	C4	15,62 mg/mL	Poco activo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	C5	7,81 mg/mL	Poco activo
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	C3	31,25 mg/mL	Inactivo
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	C4	15,62 mg/mL	Poco activo

* Actividad antimicrobiana / Valor de CMI

Inactivo: > 16 mg/ml

Poco Activo: 6 - 15 mg/ml,

Moderadamente activo: 1- 5 mg/ml,

Buena Actividad: < 1 mg/ml,

Fuente: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), M07, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility

Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 2018 (35).

En la Tabla 19, se presentan los resultados obtenidos de la evaluación de la concentración mínima inhibitoria del extracto clorofórmico de corteza de *S. mombin* L. frente a *S. aureus*, donde se evidencia que la CMI del extracto evaluado fue de 31,25 mg/mL (tubo 3), considerando al extracto “inactivo”. Con lo que respecta a *P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. typhimurium* se evidenció que la CMI fue de 62,5 mg/mL (tubo 2), considerando al extracto “inactivo” a las cepas evaluadas.

Tabla 19. Concentración mínima inhibitoria del extracto clorofórmico de corteza de *Spondias mombin* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

BACTERIA EN ESTUDIO	DILUCIÓN POR TUBO	CMI	RESULTADO (*)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	C2	62,5 mg/mL	Inactivo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	C3	31,25 mg/mL	Inactivo
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	C2	62,5 mg/mL	Inactivo
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	C2	62,5 mg/mL	Inactivo

* Actividad antimicrobiana / Valor de CMI

Inactivo: > 16 mg/ml

Poco Activo: 6 - 15 mg/ml,

Moderadamente activo: 1- 5 mg/ml,

Buena Actividad: < 1 mg/ml,

Fuente: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), M07, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility

Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 2018 (35).

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

El presente estudio se centró en evaluar la actividad antibacteriana de diferentes extractos de *S. mombin* L., una planta conocida por sus múltiples aplicaciones en la medicina tradicional. A lo largo de la investigación, se realizó un tamizaje fitoquímico para identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos y clorofórmicos de las hojas y corteza de *S. mombin* L., así como una serie de ensayos para determinar la eficacia de estos extractos contra diversas cepas bacterianas.

Los resultados obtenidos proporcionan una visión sobre la composición química de los extractos y su relación con la actividad antimicrobiana observada. Sin embargo, es crucial analizar estos hallazgos en el contexto de estudios previos y compararlos con la literatura existente para comprender mejor el potencial terapéutico de *S. mombin* L. y sus limitaciones. A continuación, se presenta un análisis exhaustivo de los resultados, contrastándolos con investigaciones similares y explorando las implicancias de los hallazgos obtenidos.

El análisis fitoquímico de los extractos etanólicos y clorofórmicos de *S. mombin* L., revela una rica diversidad de metabolitos secundarios, lo que sugiere un considerable potencial bioactivo. La presencia abundante de triterpenos y esteroides, fenoles y taninos en ambos extractos etanólicos, tanto de hojas como de corteza, está en línea con investigaciones previas que han destacado el valor terapéutico de estos compuestos (7, 9). Los triterpenos y esteroides son conocidos por sus propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas, mientras que los fenoles y taninos han sido ampliamente documentados por su actividad antioxidante y antimicrobiana (36).

La corteza mostró una notable abundancia de flavonoides, un hallazgo consistente con estudios anteriores que han identificado flavonoides como quercetina y kaempferol en *S. mombin* L. (9). Sin embargo, la ausencia de flavonoides en el extracto etanólico de la hoja es intrigante y podría estar relacionada con la variabilidad en la distribución de estos metabolitos dentro de diferentes partes de la planta o con la selectividad del proceso de extracción. Por otro lado, la presencia moderada de saponinas, lactonas y carotenos en ambos extractos indica que estos compuestos podrían contribuir a la actividad biológica observada, aunque en menor grado que los flavonoides y fenoles.

Los extractos clorofórmicos, por otro lado, mostraron una menor diversidad y concentración de metabolitos bioactivos, con una abundancia significativa únicamente de triterpenos y esteroides en las hojas. Esto sugiere que el cloroformo, debido a su menor polaridad comparando con el etanol, está limitado en la extracción de bioactivos. A diferencia del etanol, que, al ser un solvente con más polaridad, tiene una mayor capacidad de disolver y extraer compuestos bioactivos, siendo una de las mejores opciones cuando se quiere extraer metabolitos secundarios. Estos resultados subrayan la importancia de seleccionar adecuadamente el solvente de extracción para maximizar la obtención de metabolitos de interés.

Los ensayos revelaron que el extracto etanólico de las hojas de *S. mombin* L., presenta una actividad intermedia contra *S. aureus* a una concentración de 125 mg/mL, con un halo de inhibición de $12,5 \pm 0,4$ mm, mientras que no se observó actividad antibacteriana significativa en las concentraciones menores probadas (31,25 mg/mL y 62,5 mg/mL). Estos resultados son consistentes con la literatura previa que ha documentado la actividad de extractos de *S. mombin*

frente a bacterias grampositivas (10). Sin embargo, la falta de actividad antibacteriana en concentraciones menores sugiere que la eficacia del extracto etanólico es dependiente de la dosis, lo que podría limitar su aplicabilidad clínica a dosis elevadas.

Por otro lado, el extracto etanólico de la corteza no mostró ninguna actividad antibacteriana significativa frente a los microorganismos evaluados, lo que contrasta con estudios anteriores que han reportado la actividad antimicrobiana de la corteza de *S. mombin* L. (11). Esta discrepancia podría deberse a diferencias en las condiciones de extracción, concentración de los compuestos activos, o en las cepas bacterianas utilizadas. Es posible que la corteza de *S. mombin* L. en este estudio no contenga una cantidad suficiente de compuestos bioactivos para inhibir el crecimiento bacteriano, o que los compuestos presentes no sean efectivos contra las cepas evaluadas.

En resumen, los resultados sugieren que, aunque *S. mombin* L., contiene una variedad de compuestos fitoquímicos bioactivos, su potencial antibacteriano es limitado y dependiente de la concentración del extracto y el tipo de bacteria. Los extractos etanólicos, en particular, muestran mayor promesa que los clorofórmicos, pero aún presentan una eficacia limitada que podría restringir su aplicación práctica.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES


- ✓ Los extractos etanólicos obtenidos a partir de las hojas y corteza de *S. mombin* L. presentan una rica composición química, caracterizada por una abundante presencia de triterpenos y esteroides, fenoles y taninos.
- ✓ El extracto clorofórmico de la hoja presenta una abundante presencia de triterpenos y esteroides, y una moderada presencia de carotenos.
- ✓ El extracto etanólico de hojas de *S. mombin* L., muestra una actividad antibacteriana intermedia frente a *S. aureus* a una concentración de 125 mg/mL, con un halo de inhibición de $12,5 \pm 0,4$ mm.
- ✓ El extracto etanólico de la corteza no muestra ninguna actividad antibacteriana frente a los microorganismos evaluados, indicando una posible falta de compuestos bioactivos con capacidad antimicrobiana en la corteza.
- ✓ Los extractos clorofórmicos de hojas y corteza de *S. mombin* L., no presentaron ningún halo de inhibición significativa a las concentraciones evaluadas.
- ✓ De la evaluación de la concentración mínima inhibitoria, el extracto etanólico de la hoja de *S. mombin* L., muestra una actividad antibacteriana "poco activa" frente a *S. aureus* a una concentración de 7,81 mg/mL. Del mismo modo, el extracto etanólico de la corteza exhibe una actividad "poco activa" frente a *S. aureus* y *S. typhimurium* a la misma concentración.
- ✓ La evaluación de la CMI, el extracto clorofórmico de la hoja de *S. mombin* L., muestra una actividad "poco activa" frente a *S. aureus* a una concentración de 7,81 mg/mL, y una actividad leve frente a *P. aeruginosa* y *S. typhimurium* a concentraciones de 15,62 mg/mL.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- ❖ Considerar la exploración de otros métodos de extracción o el uso de diferentes solventes, además del etanol y cloroformo, para determinar si otros extractos podrían tener una mayor actividad antibacteriana.
- ❖ Realizar pruebas con un rango más amplio de concentraciones, especialmente concentraciones más altas, para evaluar si los extractos pueden mostrar una mayor eficacia antibacteriana. Esto podría ayudar a identificar un umbral de concentración a partir del cual los extractos comienzan a ser efectivos.
- ❖ Investigar posibles efectos sinérgicos combinando el extracto etanólico de la hoja o corteza con otros extractos o compuestos antibacterianos conocidos. Esto podría aumentar la efectividad del extracto contra bacterias como *S. aureus* y *S. typhimurium*.
- ❖ Ampliar el estudio para identificar y cuantificar los metabolitos bioactivos presentes en los extractos etanólicos y clorofórmicos, utilizando técnicas avanzadas como la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS), que permitirían obtener información más precisa y detallada sobre los compuestos responsables de la actividad antibacteriana.
- ❖ Extender la evaluación de la actividad antibacteriana a un rango más amplio de microorganismos patógenos, incluyendo bacterias gram-positivas y gram-negativas adicionales, para determinar si los extractos muestran eficacia frente a un espectro más amplio de patógenos.
- ❖ Realizar estudios preliminares de toxicidad para evaluar la seguridad de los extractos en aplicaciones potenciales. Esto es crucial si se consideran usos farmacológicos o como aditivos en la industria alimentaria.

CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Organización Mundial de la Salud. Manual de la OMS para la aplicación de los planes de acción nacionales sobre la resistencia a los antimicrobianos: guía para el sector de la salud humana. 2022. 82 p.
2. Yagui M. Antimicrobial resistance: A new approach and opportunity. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2018;35(1):7–8.
3. OPS/OMS. La resistencia antimicrobiana pone en riesgo la salud mundial [Internet]. [cited 2023 Apr 7]. Available from: <https://www.paho.org/es/noticias/3-3-2021-resistencia-antimicrobiana-pone-riesgo-salud-mundial>
4. World Health Organization. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report 2022. Geneva: WHO. 2022.
5. Ministerio Salud del Perú. Plan Nacional para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos 2017 – 2021. Perú; 2017.
6. Abo KA, Ogunleye VO, Ashidi JS. Antimicrobial potential of *Spondias mombin*, *Croton zambesicus* and *Zygotritonia crocea*. *Phytotherapy Research*. 1999;13(6):494–7.
7. Pérez-guevara E, Motta-machicado LA. Actividad antibacteriana del extracto de la corteza de la *Spondias mombin* L. (ubos) frente a *Staphylococcus epidermidis*. *Revista Biodiversidad Amazónica*. 2022;1(2):1–10.
8. Akerele O. Medicina tradicional Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar. *Foro Mund Salud*. 1993;14:390–5.

9. De Freitas MA, Da Cruz RP, Dos Santos ATL, Almeida-Bezerra JW, Machado AJT, Dos Santos JFS, et al. HPLC–DAD analysis and antimicrobial activities of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae). 3 Biotech. 2022;12(3):1–15.
10. Agbaje EO, Ismail AI, Oguntokun OJ. Antimicrobial and antipyretic activities of aqueous leaf extract of *Spondias mombin* Linn. (Anacardiaceae). Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine. 1970;6:21–9.
11. Chaves TP, Clementino ELC, Felismino D de C, Silva H, Santos JS, Medeiros ACD de. Phytochemical composition and antimicrobial and toxicological activity of *Spondias mombin* L. (jobo). Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2018 Jun 28;23(4).
12. Ahuchaogu A, Obike A, Egedezu C, Ukaogo P, Chukwu O. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Spondias mombin* Leaves. Asian Journal of Chemical Sciences. 2017;3(1):1–6.
13. Araujo G. Gênero *Spondias*: aspectos botânicos, composição química e potencial farmacológico. 2014;(March 2015).
14. Jobo (*Spondias mombin*) · NaturaLista Colombia [Internet]. [cited 2023 Apr 11]. Available from: <https://colombia.inaturalist.org/taxa/85098-Spondias-mombin>
15. Cartay R. ▷ Jobo, ubos o cajá (*Spondias mombin*): fruta, árbol - Del Amazonas  [Internet]. 2020 [cited 2023 Jul 28]. Available from: <https://delamazonas.com/plantas/frutas/jobos-ubos-caja-spondias-mombin/>

16. Flores Paitán S. Diagnóstico de frutales nativos en la Región Loreto: Descripción dendrológica. Explorations in Economic History. Iquitos: Tca-pnud; 1996.
17. Ayoka AO, Akomolafe RO, Akinsomisoye OS, Ukponmwan OE. Medicinal and economic value of *Spondias mombin*. African Journal Biomedical Research. 2008;11(2):129–36.
18. Salazar Cabrera FT, Jaime López MV. Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de laurelillo [*Cordia inermis* (Mill.) I. M. Johnst.]. Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos. UNAN-León. Agosto – Octubre 2010. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; 2010.
19. Riedel SMSA; MTA; MS. Jawetz, Melnick & Adelberg Microbiología Médica. 28th ed. McGraw-Hill; 2020.
20. Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana: bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 4th ed. Ciudad de México: Editorial Médica Panamericana; 2018.
21. Infección por *E. coli* - familydoctor.org [Internet]. [cited 2024 Oct 16]. Available from: <https://es.familydoctor.org/condicion/infeccion-por-e-coli-es/>
22. Foster; Timothy J.; Geoghegan JA. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. Molecular Medical Microbiology. 2015;2:655–74.

23. Conceptos básicos sobre *Staphylococcus aureus* | *Staphylococcus aureus* | CDC [Internet]. [cited 2024 Oct 16]. Available from: <https://www.cdc.gov/staphylococcus-aureus/about/index.html>
24. Parra M, Durango J, Máttar S, De Tema R. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. 2002;7(2):187–200.
25. Kenneth J R, C. George R. Microbiología Médica. 5th ed. México, D.F.: McGraw-Hill; 2011.
26. *Pseudomonas aeruginosa*, principal responsable de la retirada de cosméticos [Internet]. [cited 2024 Oct 16]. Available from: <https://www.condalab.com/int/es/blog/pseudomonas-aeruginosa-principal-responsable-de-la-retirada-de-cosmeticos-n170>
27. Carroll K, Morse S, Mietzner T, Miller S. Microbiología Médica. 27th ed. México, D.F.: McGraw-Hill; 2016.
28. *Salmonella typhimurium* Unlike its close relative *Escherichia coli* | Download Scientific Diagram [Internet]. [cited 2024 Oct 16]. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Salmonella-typhimurium-Unlike-its-close-relative-Escherichia-coli-Salmonella-enterica_fig1_221917307
29. Robledo Torres C. Extractos Vegetales: [concepto, preparación, uso y aplicación] [Internet]. 2022 [cited 2023 Jul 19]. Available from: <https://www.sembrar100.com/extractos-vegetales/>
30. De la Fuente-Salcido, Norma Margarita; Villarreal-Prieto, Jesús; Díaz León, Miguel Ángel; García Pérez AP. Evaluación de la actividad de los

agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana.
Rev Mex Cienc Farm. 2015;46(2).

31. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard. Wayne, PA; 2008.
32. Chhabra SC, Uiso FC, Mshiu EN. Phytochemical screening of Tanzanian medicinal plants. I. Vol. 11, Journal of Ethnopharmacology. 1984.
33. Pruebas de sensibilidad o antibiogramas - Enfermedades infecciosas - Manual MSD [Internet]. [cited 2024 Oct 21]. Available from: <https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/diagn%C3%B3stico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/pruebas-de-sensibilidad-o-antibiogramas?ruleredirectid=758>
34. Ministerio de Salud del Perú, Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. 2002. 67 p.
35. National Committee for Clinical Laboratory Stand. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically [Internet]. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. Available from: www.clsi.org.
36. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales. 3rd ed. Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.

ANEXOS

ANEXO 1. Constancia de identificación taxonómica



UNAP

Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN BOTÁNICA n.º 071-2024 AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRNA), de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentada por **ADRIANA DANIELA FLORES REÁTEGUI** y **CÉSAR WENJHAU CHU WU**, bachilleres de la **Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica** de la **Facultad de Farmacia y Bioquímica** de la **Universidad Nacional de la Amazonía Peruana** pertenece al proyecto de tesis de pre grado titulado **“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE DIFERENTES EXTRACTOS DE *Spondias mombin* L.”**; ha sido **DETERMINADA** en este centro de investigación y enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ-CIRNA-UNAP**, como se indica a continuación:

Nº	FAMILIA	ESPECIE	AUTOR	NOMBRE COMÚN
1	ANACARDIACEAE	<i>Spondias mombin</i>	L.	“uvos”

Determinador: Ing. Juan Celidonio Ruiz Macedo

A los cinco días del mes de agosto del año dos mil veinticuatro, se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,


Richard J. Huaranca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense
CIRNA - UNAP



ANEXO 2. Recolección y secado de hojas y corteza de *S. mombin* L.



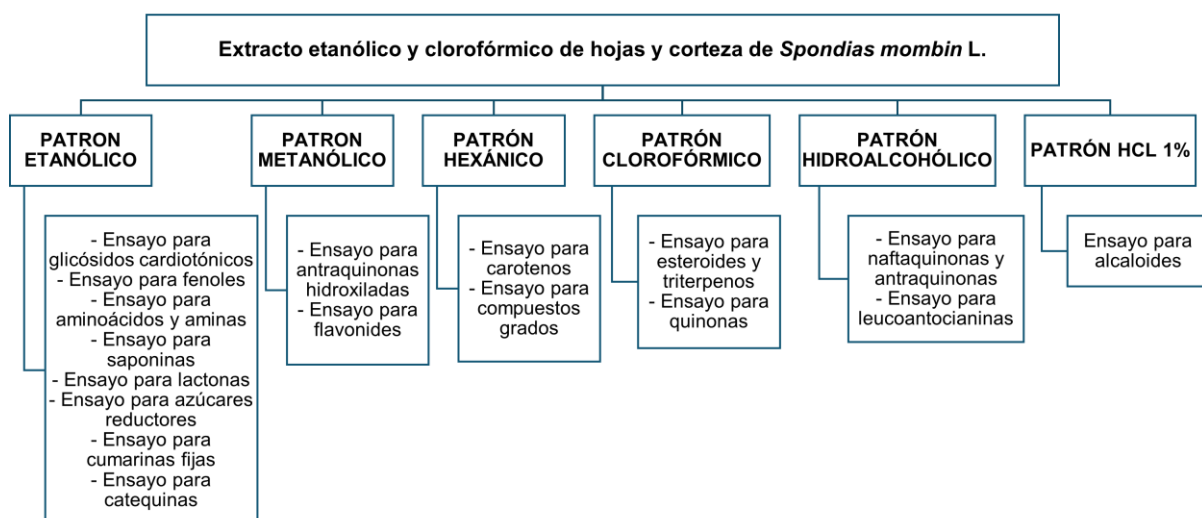
ANEXO 3. Maceración y filtrado de hojas y corteza de *S. mombin* L.



ANEXO 4. Concentrado de los extractos de hojas y corteza de *S. mombin* L.



ANEXO 5. Diagrama de tamizaje fitoquímico



ANEXO 6. Patrones utilizados en el tamizaje fitoquímico de los extractos de hojas y corteza de *S. mombin* L.



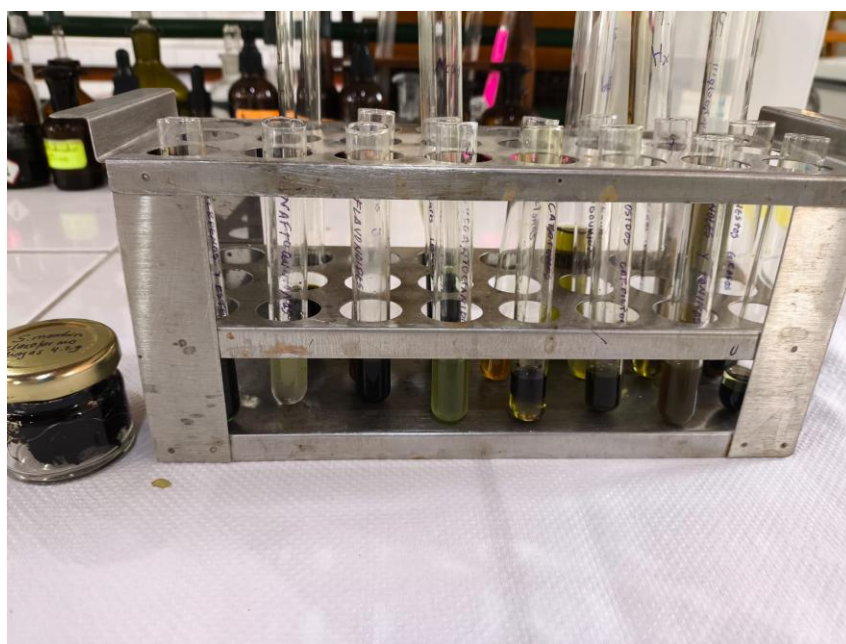
ANEXO 7. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de hojas de *S. mombin*

L.



ANEXO 8. Tamizaje fitoquímico del extracto clorofórmico de hojas de *S.*

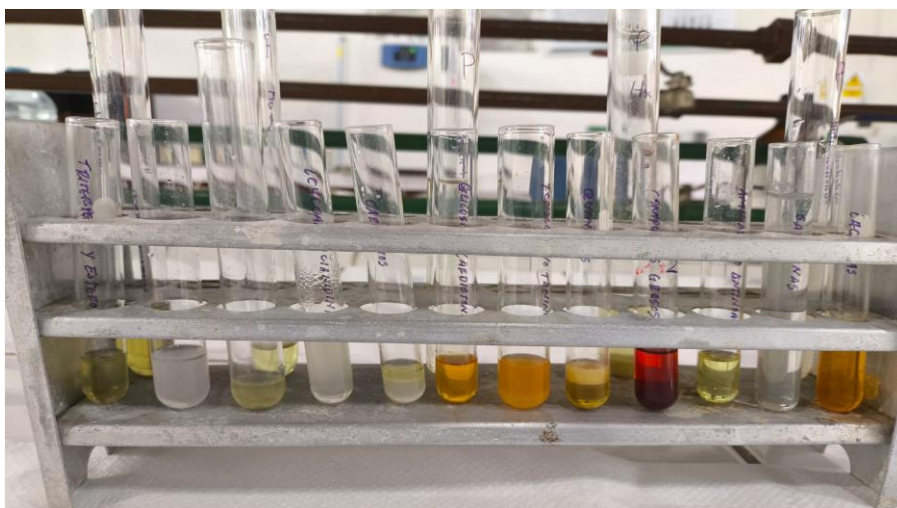
mombin L.



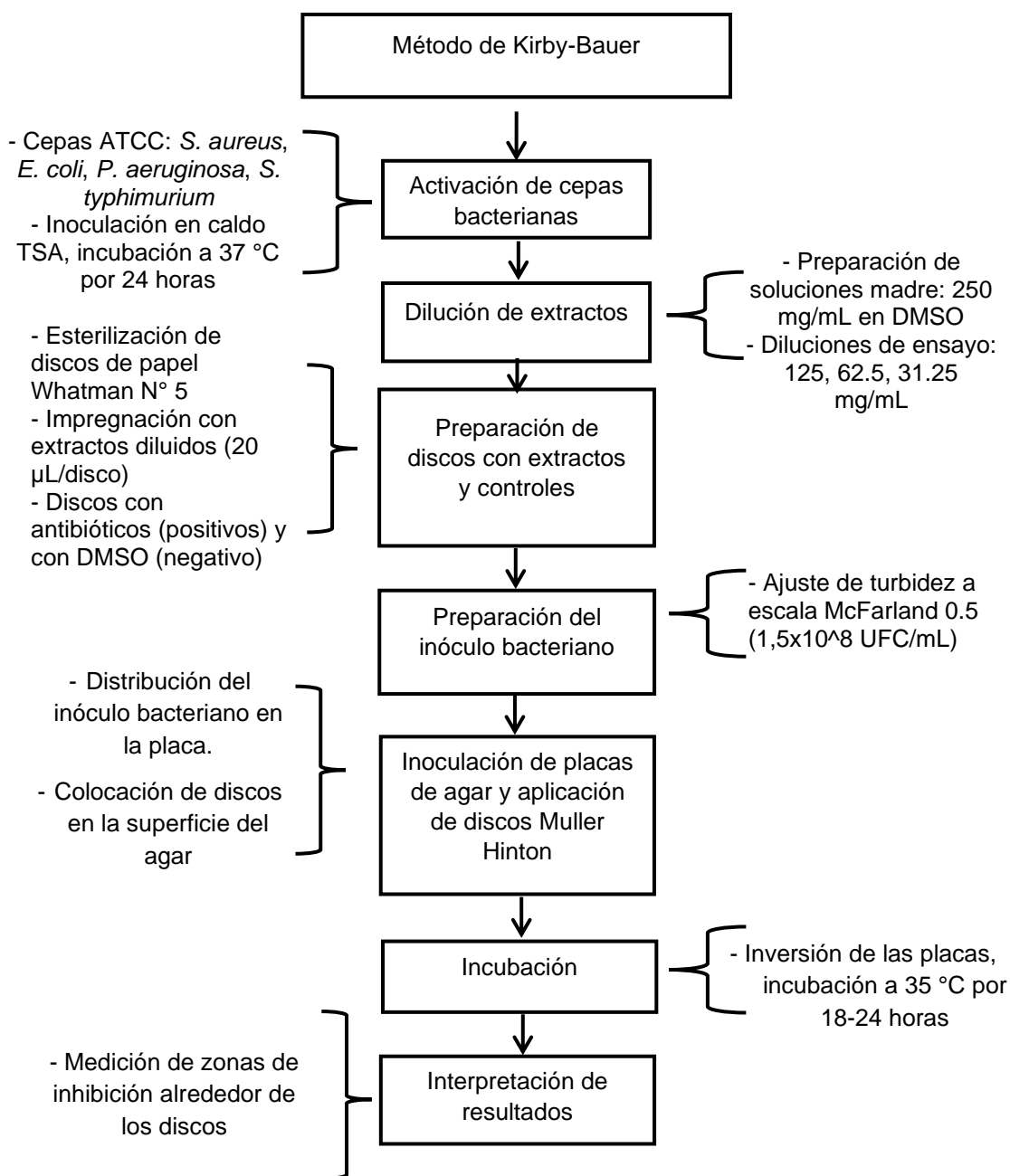
ANEXO 9. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de corteza de *S. mombin* L.



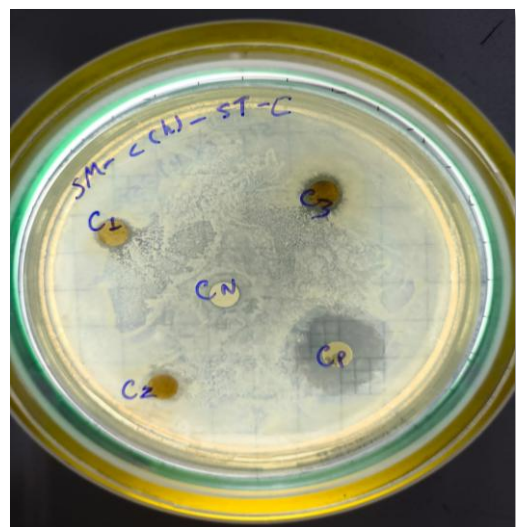
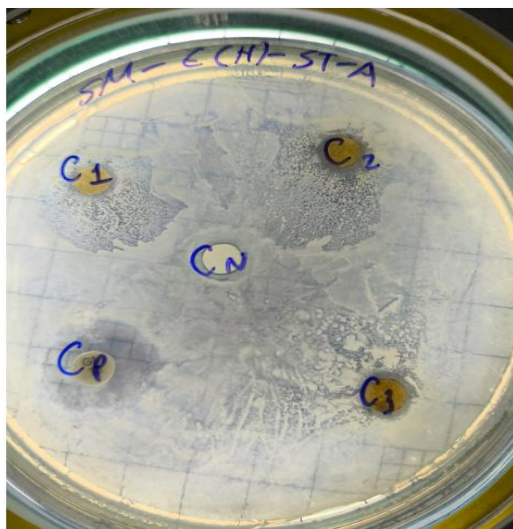
ANEXO 10. Tamizaje fitoquímico del extracto clorofórmico de corteza de *S. mombin* L.



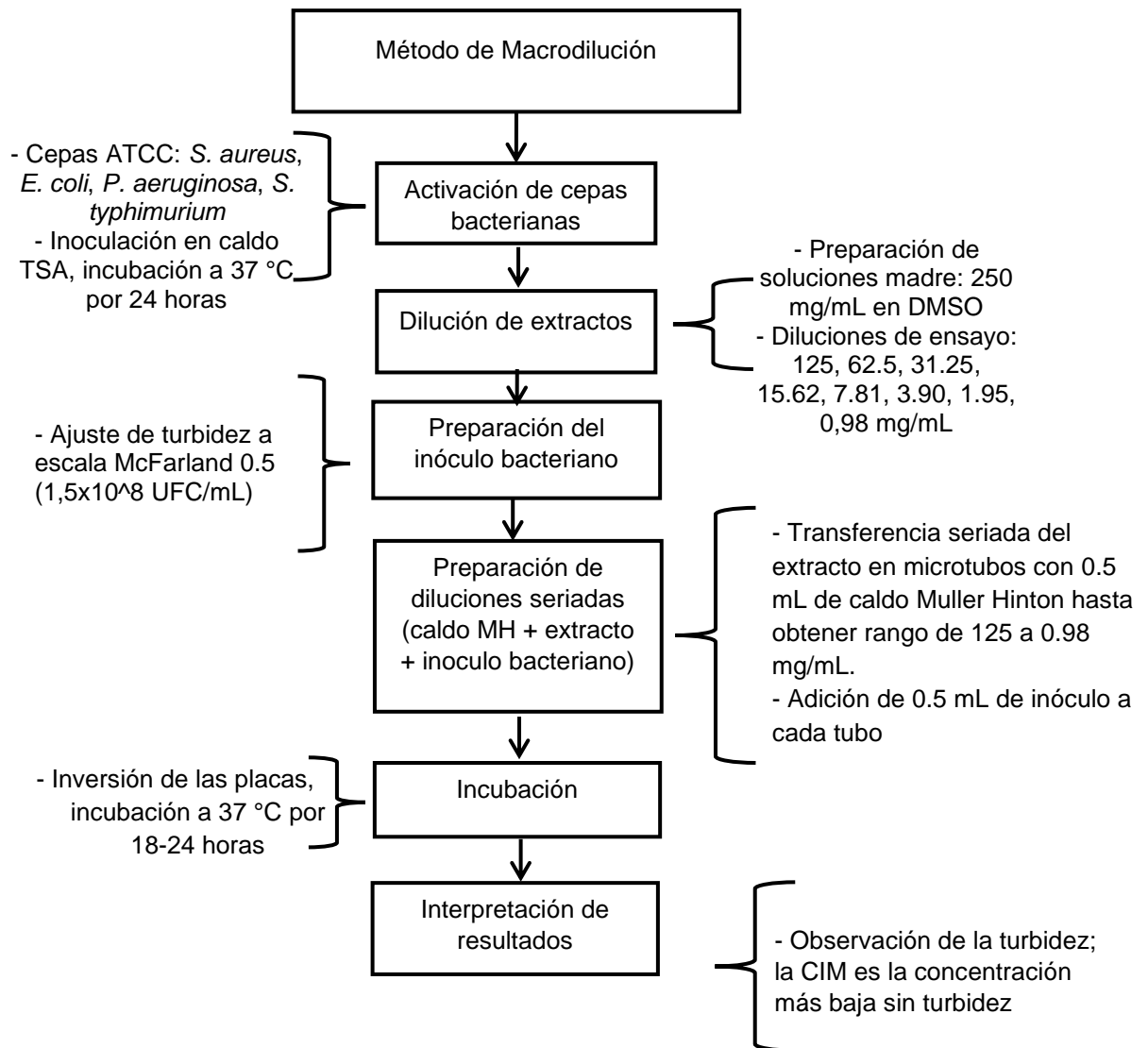
ANEXO 11. Flujoograma del método de Disco Difusión Kirby-Bauer.



ANEXO 12. Panel fotográfico de experimentos desarrollados en la técnica de Disco Difusión Kirby-Bauer.



ANEXO 13. Flujoograma del método de macrodilución.



ANEXO 14. Técnica de macrodilución de los extractos etanólico y clorofórmico de *S. mombin* L.

