



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *Tamarindus indica* EN CULTIVOS DE
*Pseudomona aeruginosa***

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORA

CALDERON SANCHEZ, LILIBETH JAQUELINE

ORCID: 0000-0003-5278-7237

ASESORA

ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA

ORCID: 0000-0003-2547-9831

TRUJILLO – PERÚ

2022

**EFEECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL EXTRACTO
ETANÒLICO DE *Tamarindus indica* EN CULTIVOS DE
*Pseudomona aeruginosa***

EQUIPO DE TRABAJO

AUTORA

Calderón Sánchez, Lilibeth Jaqueline

ORCID: 0000-0001-5278-7237

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Bachiller, Trujillo, Perú

ASESOR

Zevallos Escobar, Liz Elva

ORCID: 0000-0003-2547-9831

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de La Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote, Perú

JURADO

RODAS TRUJILLO, KAREM JUSTHIN

ORCID: 0000-0002-8873-8725

CLAUDIO DELGADO, ALFREDO BERNARD

ORCID: 0000-0002-1152-5617

MATOS INGA, MATILDE ANAÍ

ORCID: 0000-0002-3999-8491

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Mgr. Karem Justhim, Rodas Trujillo
Presidente

Mgr. Alfredo Bernard Claudio Delgado
Miembro

Mgr. Matilde Anais Matos Inga
Miembro

Dra. Liz Elva Zevallos Escobar
Asesor

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme salud, fortaleza y la confianza de seguir adelante para concluir con mis estudios.

Agradezco a mis padres por su gran apoyo, por creer en mí y estar en cada etapa importante de mi

A mis maestros que me guiaron para ser cada día una mejor profesional y a mis verdaderos compañeros por los momentos que compartimos durante toda la carrera, siempre los recordare.

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos por su dedicación y porque siempre me motivaron a ser cada día mejor y quienes me enseñaron que con esfuerzo y perseverancia se puede lograr el éxito profesional. A Jorge que estuviste a mi lado brindándome tu apoyo y compromiso. A todos ellos se los dedico de todo corazón porque han contribuido para lograr mis objetivos.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas *Tamarindus indica* (tamarindo) en cepa de *Pseudomonas aeruginosa*. El estudio es de enfoque cuantitativo, de tipo básico, con un nivel explicativo, de diseño experimental. Se realizó mediante el método Kirby-Bauer, difusión en agar. En el extracto etanólico de las hojas de *Tamarindus indica*, se evaluaron concentraciones al 50%, 75% y 100% diluidos en etanol de 70°, se utilizó en cultivo de *Pseudomonas aeruginosa*. Para evaluar el efecto antibacteriano se emplearon los parámetros de la escala Duraffourd, se realizó la estandarización hasta alcanzar una turbidez similar a la escala de Mc Farland, a una concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL; se hizo una lectura de los halos de inhibición pasado las 48 horas. En los resultados se observan los halos de inhibición de las muestras de *Tamarindus indica*, al 50% obtuvo un promedio de 10.6 mm, al 75% un promedio de 12 mm y al 100% se obtuvo un promedio 15.2 mm, en la amikacina de 19.7 mm. Se concluye que el extracto etanólico de *Tamarindus indica* tiene efecto antibacteriano *in vitro*.

Palabras claves: antibacteriano, *Pseudomonas aeruginosa*, *Tamarindus indica*.

ABSTRACT

The present research work, aimed at objective of the research work was to determine the *in vitro* antibacterial effect of the ethanolic extract of *Tamarindus indica* (tamarind) in the *Pseudomonas aeruginosa* strain. The study has a quantitative approach, of a basic type, with an explanatory level, of experimental design. It was carried out using the Kirby-Bauer method, diffusion in agar. In the ethanolic extract of the leaves of *Tamarindus indica*, concentrations of 50%, 75% and 100% diluted in 70° ethanol were evaluated, strains of *Pseudomonas aeruginosa* were used. To evaluate the antibacterial effect, the parameters of the Duraffourd scale were used, standardization was carried out until reaching a turbidity similar to the McFarland scale at a concentration of 1.5×10^8 UFC/mL; a reading of the inhibition halos of the *Tamarindus indica* samples are observed, at 50% an average of 10.6 mm was obtained, at 75% an average of 12 mm and at 100% an average of 15.2 mm was obtained, in the amikacin of 19.7 mm. It is concluded that the ethanolic extract of *Tamarindus indica* has an *in vitro* antibacterial effect.

Keywords: antibacterial, *Pseudomonas aeruginosa*, *Tamarindus indica*

ÍNDICE

EQUIPO DE TRABAJO	ii
JURADO EVALUADOR DE TESIS	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
CONTENIDO	viii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. Antecedentes	5
2.2. Bases Teóricas	8
III. HIPOTESIS	12
IV. METODOLOGÍA	12
4.1. Diseño de la investigación.....	12
4.2. Población y muestra	13
4.3. Definición y operación de las variables	15
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	16
4.5. Plan de análisis	18
4.6. Matriz de consistencia	19
4.7. Principios éticos.....	19
V. RESULTADOS	20
5.1 Resultados	20
5.2 Análisis de resultados	23
VI. CONCLUSIONES	25
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXOS	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas *Tamarindus indica* (tamarindo) a concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre *Pseudomona aeruginosa* a concentraciones

Tabla 2 Efecto antibacteriano del extracto etanolico de *Tamarindus indica* (tamarindo) a concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre cultivos de *Pseudomona aeruginosa* según la escala de Duraffourd.

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas son provocadas por microorganismos patógenos. La infección alude en la que un microorganismo patógeno se establece en el hospedador susceptible atravesando las barreras defensivas, difundiéndose y colonizando los tejidos, produciendo lesiones y alterando el organismo ⁽¹⁾.

Las especies bacterianas ejercen actividades necesarias para la naturaleza que están relacionadas a las plantas o los animales mediante relaciones provechosas; sin embargo, existe otra variedad de especies patógenas que dan origen a una serie de enfermedades en el ser humano ⁽²⁾.

Las infecciones causadas por bacterias Gram negativas es un problema de salud mundial porque tienen una elevada multiresistencia, esto se define cuando estas bacterias tienen resistencia a 3 o más familias de antimicrobianos, como la *Pseudomonas aeruginosa*; esta bacteria está implicada en infecciones dérmicas, oculares, neumonía y en infecciones nosocomiales, sobre todo en el ámbito hospitalario, UCI y en oncohematológicos; asimismo, es la causa principal de infecciones respiratorias crónica en fibrosis quística ⁽³⁾.

La *Pseudomonas aeruginosa*, perteneciente a la familia *Pseudomonadaceae*, bacilo Gram negativo aerobio, es considerado un patógeno oportunista. Puede subsistir a una temperatura de 4 a 42°C. Su reservorio está distribuido en ríos, lagos, piscinas, en zonas húmedas. Su temperatura óptima para su crecimiento es de 37°C, aunque también puede soportar temperaturas de 45°C a 50°C ^(3,4).

El empleo de las plantas medicinales viene desde hace millones de años atrás, cuando nuestros antepasados las usaban como un único tratamiento a sus dolencias y enfermedades. Conforme pasaba el tiempo, los avances tecnológicos surgieron, la medicina se actualizó mejorando así los tratamientos que sean más completos para las diferentes patologías y con ello trajo la disminución del uso de plantas medicinales, además, el uso desmesurado que se le ha otorgado a la medicina actual ha generado resistencias ⁽⁵⁾.

La resistencia ante los antibióticos es un problema público a nivel mundial y que está presente en diferentes bacterias, por causa de las mutaciones y la gran posibilidad de transferir su material genético, en consecuencia, supone un mayor padecimiento humano, produciendo pérdida en la productividad y mortalidad ⁽⁶⁾.

En el Perú, la comprobación de la resistencia se lleva a cabo in vitro por medio de métodos fenotípicos, donde se determina la sensibilidad o la resistencia antibiótica, los estudios de investigación son muy pocos en la indagación de genes de resistencia antibiótica ⁽⁷⁾.

Cada vez es más común la agrupación de diferentes mecanismos de resistencia para la misma familia de antibióticos en una misma cepa. Esto hace que el perfil fenotípico sea complicado de interpretar y el tratamiento sea dificultoso de plantear. Es decir, los patógenos bacterianos significativos para el hombre ha evolucionado en la resistencia y la multiresistencia concordando con la utilización intensa de los antibióticos ⁽⁸⁾.

Por este motivo, las grandes naciones están incorporando como medicina coadyuvante a las plantas. constituyendo así una vía para contrarrestar los efectos

adversos. En la actualidad, se le está dando importancia a la medicina natural, generando así abundantes estudios ⁽⁹⁾.

Las hojas de tamarindo se sugieren tiene efecto hepatoprotector asociada a un mecanismo antioxidante, dicho mecanismo se debe a las fracciones de fenoles y flavonoides. Esta propiedad antioxidante se considera una alternativa terapéutica en el estrés oxidativo y no solo eso podría ser responsable de la actividad antimicrobiana que presenta esta planta ⁽⁹⁾.

La planta *Tamarindus indica* (tamarindo) es nativa del continente de África. Esta planta crece en territorios con un clima cálido semi seco, es de lento crecimiento y puede alcanzar entre 24 a 30 metros de altura. Posee una variedad de propiedades terapéuticas, la cual la hace un importante objeto de estudio ⁽¹⁰⁾.

Las partes de esta planta tienen diferentes aplicaciones, por ejemplo, las flores y los frutos lo emplean como cataplasma para aliviar las inflamaciones articulares, torceduras y quemaduras, para tratar la conjuntivitis, como antiséptico, etc. La corteza se usa como astringente, febrífugo, cólicos; las semillas con un potencial antidiabético ^(10, 11).

Por ello, se llevará a cabo una evaluación del efecto antibacteriano in vitro en los cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* usando un extracto etanólico de tamarindo para saber si tiene efecto o no en este tipo de bacteria. Por lo tanto, los resultados de esta investigación servirán como aporte para futuras investigaciones y para el manejo de procesos infecciosos relacionado a este agente patógeno de interés clínico.

Sobre lo ya mencionado se aborda la siguiente proposición: ¿El extracto etanólico de *Tamarindus indica* (tamarindo) tendrá efecto antibacteriano *in vitro* frente a cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*?

OBJETIVOS:

Objetivo general:

- Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del *Tamarindus indica* (tamarindo) en cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*.

Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto antibacteriano de *Tamarindus indica* (tamarindo) en cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* a concentraciones de 50%, 75% y 100%.
- Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Tamarindus indica* en cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* a concentraciones de 50%, 75% y 100% frente a la amikacina.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

Internacionales

Idu M et al en el año 2020 en USA. En su investigación titulada "Tamizaje fitoquímica y propiedades antimicrobianas de la raíz del extracto etanolico de *Tamarindus indica L.*". Utilizo métodos analíticos espectro métricos GC-MS, infrarrojo y UV para el análisis el tamizaje fitoquímico cuantitativo en el extracto y para la determinación del halo de inhibición se utilizó el método de difusión de agar en las siguientes bacterias: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis* y *Pseudomonas aeruginosa*. El resultado del análisis reveló la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides, esteroides, compuestos fenólicos y glucósidos cardíacos. Entre estos fitoquímicos, los taninos y los glucósidos cardíacos fueron los más altos con concentraciones de 175,21 mg / kg y 167,82 mg / kg respectivamente, mientras que el más bajo fue el flavonoide con una concentración de 0,076 mg / kg. Con 5,00 mg / ml de extracto, *S. aureus* fue el más susceptible al extracto etanólico de raíz de *T. indica*, mientras que el menos susceptible fue *E. coli*. Concluyo que la raíz de *T. indica L.*, tiene propiedades antimicrobianas como lo demuestra su actividad en cepas bacterianas de prueba ⁽¹¹⁾.

Castillo A. en el año 2018 en Ecuador. Realizo un trabajo experimental con el objetivo de medir la actividad antimicrobiana de los extractos de subproductos de mango y tamarindo en *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* con la técnica de microdilución en caldo para evaluar la acción de distintas concentraciones y determinar la mínima cantidad

necesaria para conseguir la inhibición microbiana, dando como resultado que el extracto de mango presenta una mayor actividad antimicrobiana que el tamarindo, concluyendo así que los subproductos de mango en comparación con el tamarindo tienen mayor efecto antimicrobiano ⁽¹³⁾.

Osan B et al en el año 2016 en Arabia. Actividad antimicrobiana de varios extractos de plantas en especies de *Pseudomonas* asociadas con el deterioro del pescado refrigerado. El estudio realizado tiene como objetivo comprobar la actividad antimicrobiana de varios extractos de plantas, guayaba, henna, flor de cepillo botella, tamarindo, canela, betel silvestre, galanga, ajo, cebolla, java, mango, menta y tomillo, sobre la bacteria *Pseudomonas*, el método que utilizó fue por difusión de agar y los resultados muestran que solo dos muestras de plantas tienen efecto inhibitorio; corteza de árbol de guayaba (16.83 mm) y la flor de cepillo de botella (17.67 mm) y en las demás observaron actividades antimicrobianas moderadas en extractos de clavo, hoja y piel de tamarindo, corteza de canela, hoja de betel silvestre y tomillo fresco. Concluyó que la potencial actividad inhibitoria solo se obtuvo de tres extractos el cepillo de botella, corteza de guayaba y henna ⁽¹⁵⁾.

Nacional

Untol E. en el año 2018 en Perú, Evaluó el efecto in vitro de extractos etanolicos de *Mngifera indica*, *Tamarindus inidica* y *Cassia angustifolia* sobre el crecimiento de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* ATCC 25922. El método que utilizo fue Kirby-Bauer. Los resultados muestran las diferencias significativas entre el efecto de los extractos teniendo mayor efecto el extracto etanólico de M. indica con un halo de

inhibición de 16.5 mm para *S. typhi* de 15.2 para *E. coli* ATCC 25922. Concluyó que el extracto de las hojas de el mango tuvo mayor efecto que los otros extractos sobre el crecimiento de la *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* ⁽¹⁴⁾.

Local

Tisoc P. en el año 2019 en Trujillo, evaluó el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la pulpa del tamarindo sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparada con oxacilina a 1 µg, Utilizo el método de Mueller-Hinton en 6 grupos de experimentación y las diluciones del extracto etanolico de tamarindo a las concentraciones de 100, 75, 50, 25%, con oxacilina 1ug como grupo control, y como resultado obtuvo que el halo de inhibición el extracto al 100% (19,4 mm); 75% (14,3 mm); 55% (9,7); 25% (7,9 mm) y de la oxacilina fue de 30,7 mm, de acuerdo a los resultados concluyo que la concentración de tamarindo al 100% no supera al tratamiento de elección, la oxacilina ⁽¹²⁾.

2.2 Bases Teóricas

Plantas medicinales

Las plantas medicinales son cualquier especie vegetal que abarca algunos de sus órganos, principios activos, que al ser administrados a una dosis adecuada producen efectos terapéuticos ⁽¹⁶⁾.

Droga vegetal

Es una fracción de la planta medicinal que contiene los principios activos y es empleada para un beneficio terapéutico. ⁽¹⁷⁾.

Maceración

Extracción que se ejecuta a temperatura ambiente y consiste en que la muestra vegetal se sumerge en un solvente, almacenándolo hasta un período de 2 a 14 días con agitación continua ⁽¹⁸⁾.

Extracto etanólico

Sustancia adquirida desde una materia prima de origen vegetal, por medio de un proceso de maceración unida a un solvente (agua, etanol, metanol) sucesivo a su eliminación ⁽¹⁹⁾.

***Tamarindus indica* (tamarindo)**

a) Origen

El árbol de tamarindo es oriundo de las Sabanas secas del oriente de África tropical. Fue incluido en la India por los comerciantes árabes, donde se adaptó al estado

agroecológicas de las llanuras costeras del país. El fruto fue extensamente conocido por los griegos y egipcios en el siglo IV antes de la era cristiana ⁽⁷⁾.

b) Taxonomía:

Reino: Vegetal

División: Tracheophyta

Subdivisión: Spermatophitina

Clase: Angiospermae

Subclase: Dicotiledóneas

Orden: Rosales

Familia: Leguminosae (Fabaceae)

Subfamilia: Caesalpinioideae

Género: Tamarindus

Especie: indica

c) Usos medicinales del tamarindo

El tamarindo se usa en la medicina alternativa tradicional para emplearlo como antimicrobiano, digestivo, inmunológico, antiinflamatorio, la pulpa es empleada como pomada para suprimir parásitos en animales domésticos, quemaduras, hemorroides, antioxidante, entre otros ⁽²⁰⁾.

Escala de McFarland

Es un estándar de turbidez, que utiliza el cloruro de bario y el ácido sulfúrico, a partir de ellos se prepara la suspensión de sulfato de bario para establecer el conteo de bacterias ⁽²¹⁾.

Escala de Duraffourd

Esta escala se emplea para la determinación cualitativa del grado de sensibilidad según su diámetro de inhibición ⁽²²⁾.

- Nula (-): El diámetro es menor a 8 mm.
- Sensible (= +): El diámetro es $>8\text{mm} \leq 14\text{mm}$
- Muy sensible (++) : Diámetro de $>14 \leq 20\text{mm}$
- Sumamente sensible (+++): El diámetro es mayor a 20 mm.

Pseudomonas aeruginosa

a) Características generales

Microorganismo patógeno del orden *Pseudomonas*les son bacilos Gram negativos ligeramente curvado, el metabolismo respiratorio aerobio, frecuentemente móviles por flagelos polares, catalasa y oxidasa positivos ⁽²³⁾

b) Taxonomía:

Reino: Bacteria

Filum: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: *Pseudomonas*les

Familia: *Pseudomonas*daceae

Género: *Pseudomonas*

Especie: *P. aeruginosa*

c) Patogénesis

Es una bacteria oportunista, necesita de una alteración significativa en las líneas de defensa primarias por ejemplo por heridas o una vía para esquivarlas como una solución contaminada o una sonda endotraqueal para que comience a infectar ⁽²⁴⁾.

d) Manifestaciones clínicas

La *P. aeruginosa* coloniza las partes que están expuestas como heridas, lesiones y quemaduras puede causar septicemia y meningitis. Los pacientes con fibrosis quística, politraumatizados, inmunodeprimidas están predispuestos a infecciones progresivas graves ⁽²⁵⁾.

e) Multirresistencia

La bacteria se vuelve multirresistente es ocasionada por el desarrollo de mecanismos de mutación en genes cromosómicos o adquiriendo genes localizados en estructuras genéticas móviles (plásmidos, transposones e integrones), es decir, la bacteria ya no es sensible a más de tres familias de antibióticos ⁽²⁶⁾.

III. HIPÓTESIS

H₁: El extracto etanólico de *Tamarindus indica* tiene efecto antibacteriano en cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*.

H₂: El extracto etanólico de *Tamarindus indica* no tiene efecto antibacteriano en cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación

El presente trabajo de investigación es de enfoque cuantitativo, de tipo básico, con un nivel explicativo y de diseño experimental, consta de 5 grupos: grupo control, farmacológico, grupo experimental 1, grupo experimental 2 y grupo experimental 3.

Grupo control:

Conformado por cinco placas con cultivo *Pseudomona aeruginosa* en agar Mueller-Hinton y discos con el diluyente DMSO al 0.2%.

Grupo farmacológico:

Conformado por nueve placas con cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* y discos de amikacina 10µg.

Grupo experimental 1:

Conformado por nueve placas de cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* y discos con 50µl de extracto etanólico de *Tamarindus indica* al 50%.

Grupo experimental 2:

Conformado por nueve placas de cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* y discos con 50µl de extracto etanólico de *Tamarindus indica* al 75%.

Grupo experimental 3:

Conformado por nueve placas de cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* y discos con 50µl de extracto etanólico de *Tamarindus indica* al 100%.

4.2 Población y muestra**Población vegetal**

La planta *Tamarindus indica* (tamarindo), crece en el distrito de Casa Grande, departamento La Libertad.

Muestra vegetal:

Se utilizó 800 g de hojas *Tamarindus indica* (tamarindo) obtenidas en el distrito de Casa Grande, departamento La Libertad, fueron seleccionadas bajo dos criterios.

Criterios de inclusión:

Las hojas de *Tamarindus indica* sean frescos.

Las hojas de *Tamarindus indica* buen estado y sin contaminantes.

Criterios de exclusión:

Las hojas expuestas a fumigación.

Las hojas estén contaminadas.

Población microbiológica

Constituido por el microorganismo *Pseudomona aeruginosa*, se obtuvo en el área de microbiología en la Universidad Nacional de Trujillo.

Criterios de inclusión:

Se empleó colonias rejuvenecidas

Criterios de exclusión:

Se excluyeron las otras especies de *Pseudomonas*

4.3 Definición y operación de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA
Extracto etanólico de <i>Tamarindus indica</i> (independiente)	Producto obtenido de una planta definida botánicamente como <i>Tamarindus indica</i>	Se obtuvo por el método de maceración y se utilizó tres concentraciones además del fármaco de referencia para el efecto antibacteriano	50% 75 % 100 %	Cualitativa De razón
Efecto antibacteriano (dependiente)	Sustancia antibacteriana capaz de impedir el crecimiento de la bacteria al cabo de 18 a 24 horas de incubación	Se determinó por medio de los halos de inhibición de cultivos del microorganismo de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y su sensibilidad a través de la escala de Duraffourd	mm Sensibilidad Nula (< a 8mm) Límite (8-14 mm) Medio (15-20 mm) Sumamente sensible (>20 mm)	Cuantitativa De razón

4.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos

Recolección de *Tamarindus indica*

La recolección de la muestra se realizó en el distrito de Casa Grande en el departamento La Libertad, en el mes de agosto. La recolección fue de forma parcial (hojas y fruto) con la intención de obtener la certificación.

Preparación del extracto

Se seleccionaron 800 g de hojas en buen estado físico, la muestra seleccionada se lavó con agua destilada, donde se realizó a desinfectar con hipoclorito de sodio al 0.5%. Luego se procedió a enjuagar para retirar lo restante del hipoclorito con agua destilada. Después se colocó la muestra a secar a temperatura ambiente sobre papel absorbente por 24 horas, luego se llevó a la estufa por 48 horas. En la pulverización de la muestra se llevó a cabo con la ayuda de un molino hasta obtener un polvo fino, este polvo se guardó en un frasco de vidrio de color ámbar.

La maceración se realizó con 50 g de muestra, luego se añadió 200 mL de alcohol a 70°, dejándose macerar por siete días. Luego se filtró el macerado en papel filtro Whatman. Después se llevó a secar en la estufa la muestra en capsulas de porcelana.

Preparación de las concentraciones. Se agito la muestra para homogenizar la disolución. Luego a partir de la muestra se preparó las concentraciones de 50%, 75% y 100% disueltas en etanol de 70°. Después cada concentración del extracto se esterilizo, finalmente las concentraciones se colocaron en frascos ámbar y luego fueron almacenadas hasta su utilización.

Cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*

Obtención del cultivo

La *Pseudomonas aeruginosa* fueron obtenidos en el área de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, el cual fue aislado y tratado docente microbiólogo.

Preparación de la bacteria

En la preparación del cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* se usó el agar Mueller-Hinton, la cual se procedió a incubar por 24 horas a 37° para obtener colonias jóvenes. Luego del tiempo estimado, se tomó una muestra de cada cultivo y se preparó una suspensión con Mueller-Hinton estéril a partir de colonias jóvenes hasta que alcance una turbidez semejante al estándar de McFarland 1.5×10^8 UFC/mL.

Preparación de los discos

Se inocularon con 50 ul de cada una de las concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Tamarindus indica* (50%, 75%, 100%); y se utilizó como grupo control el agua destilada estéril, se dejaron reposar por 5 minutos para luego ser utilizados en la prueba de susceptibilidad.

Determinación de la susceptibilidad

Para la determinación de susceptibilidad se usó el método de Difusión Kirby-Bauer, los discos estériles se sumergieron por una hora en los grupos experimentales (25%, 75% y 100%) del extracto etanolico, luego de que paso el tiempo estimado se colocan los cuatro discos a cada placa. En el grupo farmacológico se usó discos de amikacina y para el grupo control se usó discos de dimetilsulfóxido al 2%. Después que fueron incubados por 24 horas a 37°C, finalmente se procedió a hacer la

medición de los halos de inhibición en mm, para la determinación del efecto inhibitorio según la escala de Duraffourd ⁽²²⁾.

4.5 Plan de análisis

Para determinar los resultados de los análisis estadísticos se realizó el Análisis de Varianza (ANOVA), que permitió la prueba de hipótesis entre grupos e intergrupos; para el cálculo de esta prueba se utilizó el programa informático Microsoft Office Excel 2016 para comparar los resultados de la inhibición del crecimiento de la cepa *Pseudomonas aeruginosa* en diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Tamarindus indica*.

4.7. Matriz de consistencia

Título de investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Tipo de investigación	Metodología	Plan de Análisis
Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de <i>Tamarindus indica</i> en cultivos de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	¿El extracto etanólico de <i>Tamarindus indica</i> (tamarindo) tendrá efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente en cultivos <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ?	<p>Objetivo general Determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico del <i>Tamarindus indica</i> (tamarindo) en cultivos de <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p>Objetivos específicos Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Tamarindus indica</i> a concentraciones de 50%, 75% y 100% Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de <i>Tamarindus indica</i> en cultivos de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a concentraciones de 50%, 75% y 100% frente a amikacina.</p>	El extracto etanólico de <i>Tamarindus indica</i> (tamarindo) tiene efecto antibacteriano sobre cultivos de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<p>Independiente: Concentraciones del extracto etanólico de <i>Tamarindus indica</i> (tamarindo)</p> <p>Dependiente: Inhibición del crecimiento bacteriano de <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	Experimental de nivel cuantitativa	Población a trabajar en cultivos de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Prueba estadística ANOVA

4.7. Principios éticos

El presente trabajo de investigación se tuvo en cuenta las acciones lesivas a la naturaleza y la biodiversidad. Por este motivo, el manejo y la eliminación de desechos biológicos que se produjeron en la investigación (cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*) que corresponde a un nivel de bioseguridad 2 siguiendo las normas técnicas N 18 INS ⁽²⁷⁾.

También se tuvo presente los principios éticos de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote descritos en el código de ética, tales como:

Cuidado del medio ambiente y respeto a la biodiversidad. Toda investigación debe respetar la dignidad de los animales, el cuidado del medio ambiente y las plantas, por encima de los fines científicos ⁽²⁸⁾.

Integridad científica: el investigador tiene que evitar el engaño en todos los aspectos de la investigación; evaluar y declarar los daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación ⁽²⁸⁾.

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

Tabla 1

Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanolico de las hojas de *Tamarindus indica* a concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre *Pseudomona aeruginosa*, expresados mm de diámetro de inhibición.

Grupos de Tratamiento	\bar{X} Halos de inhibición (\pm D.S en mm.)	Significancia P
<i>DMSO</i>	6.0 \pm 0.0	
<i>Amikacina</i>	19.7 \pm 1.2	
T. indica 50%	10.6 \pm 1.5	0.000
T. indica 75%	12.1 \pm 0.8	
T. indica 100%	15.2 \pm 1.2	

Fuente: Datos obtenidos de la investigación

Tabla 2

Efecto antibacteriano del extracto etanolico de *Tamarindus indica* (tamarindo) en concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* según la escala de Duraffourd

Escala	<i>Tamarindus indica</i> (tamarindo)			Amikacina
	50%	75%	100%	10ug
Nula (< a 8mm)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
Límite (8-14 mm)	9(100%)	9(100%)	2(22,22%)	0(0%)
Medio (15-20 mm)	0(0%)	0(0%)	7(77.77%)	3(33.33%)
Sumamente sensible (>20 mm)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	6(66.67%)
Total de placas	9	9	9	9

Fuente: Datos obtenidos de la investigación.

4.2 Análisis de resultados

El presente trabajo de investigación tuvo como finalidad determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Tamarindus indica* en cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*. Esta planta tiene una variedad de fito constituyentes de usos terapéuticos a diversas enfermedades. De los tantos efectos que ejerce, se eligió el efecto antibacteriano, en la cual se midió los halos de inhibición mostrándose en la tabla de resultados.

En la Tabla 1 se realizó la prueba de ANOVA, donde se muestra que en las concentraciones de 50%, 75% y 100% si hubo actividad inhibitoria, sobre todo en las dos últimas concentraciones obteniendo un diámetro de disco entre 12.1 ± 0.8 y 15.2 ± 1.2 milímetros de inhibición, sin embargo, en el diámetro del halo de inhibición de la amikacina está en un promedio de 19.7 ± 1.2 milímetros de inhibición, siendo este diámetro mayor a las concentraciones del extracto de *Tamarindus indica*.

Según Untol P. et al, usaron las hojas de *T. indica* al 25% y 50 % de extracto hidroalcohólico sobre *Salmonella typhi* y *Echerichica coli*, las cuales no hubo efecto inhibitorio, es decir, a diferencia de los resultados hallados, donde si hubo efecto inhibitorio leve a una concentración de 50% de extracto etanólico de hojas de *T. indica* en la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* ⁽¹³⁾.

Con respecto a la prueba ANOVA el valor de p es menor que 0.05 lo que indica que hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de tratamiento del extracto etanólico de *Tamarindus indica* con un nivel de significancia de 0.000, es decir se acepta la hipótesis alternativa: El extracto etanólico si tiene efecto antibacteriano en *Pseudomonas aeruginosa*.

En la tabla 2 se muestra la escala de duraffourd y la cantidad de discos que son sensibles a la bacteria. El extracto etanólico al 50% y 75% indica que es sensible a la *P. aeruginosa*, en cambio, el extracto de T. indica al 100% muestra un 77,7 % (placas) de ser muy sensible según la escala mencionada. Según el estudio de Osan, tanto la cascara y la hoja de tamarindo presentan una actividad antimicrobiana moderada en *Pseudomonas* spp. Por lo cual hay una similitud con lo encontrado en los resultados descritos ⁽¹⁴⁾.

Según Paéz las responsables de la capacidad antibacteriana que presenta las hojas de T. indica se debe a la presencia de compuestos fenólicos y los aceites esenciales. En su estudio donde estudió la actividad antimicrobiana en extractos acuosos y alcohólicos de pulpa, hueso y cáscara, en la cual inhibió el crecimiento de *E. coli* y *C. albicans*, lo cual le da un efecto positivo al tamarindo porque a nivel de pared celular contra *E. coli* y contra otras bacterias Gram negativas, específicamente del grupo Enterobacteriaceae debido a los posibles mecanismos de daño a la membrana celular por el incremento de su permeabilidad generando una desestabilización de la capa bilipídica por la interacción de los ácidos grasos presentes en el tamarindo. Los estudios mencionados demuestran que planta de tamarindo se puede emplear como alternativa terapéutica para tratar problemas de salud de forma natural y disminuir las posibles reacciones adversas ⁽²⁸⁾.

VI. CONCLUSIONES

- El extracto etanolico de las hojas de *Tamarindus indica* (tamarindo) a concentraciones de 50%, 75% y 100% presento efecto antibacteriano in vitro en cultivos de *Pseudomona aeruginosa*.
- La concentración que presento mayor tamaño de halo de inhibición promedio de 15.2 mm fue del extracto etanolico de *Tamarindus indica* al 100%, sin embargo, este efecto no fue mayor al grupo farmacológico de la amikacina.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- Realizar investigaciones in vivo con los resultados del estudio realizado para sugerir mayores trabajos de investigación, para demostrar la seguridad y eficacia en humanos.
- Realizar estudios del extracto etanólico de *Tamarindus indica* para determinar las concentraciones mínimas bactericida (MBC).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodríguez Ferri E. Infecciones emergentes y enfermedades nuevas [internet] España, Universidad de León, 2008 [citado 1 de mayo 2020]. Disponible en: <http://www.saber.es/web/biblioteca/libros/infecciones-emergentes-enfermedades-nuevas-gripe-del-pollo-tuberculosis/infecciones-emergentes-enfermedades-nuevas-gripe-del-pollo-tuberculosis.php?idLibro=163>
2. Espadalé R. Prevención del riesgo biológico en el laboratorio: trabajo con bacterias. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, España [internet]; 2001 [citado 1 de mayo 2020]. Disponible en: https://www.insst.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/501a600/ntp_585.pdf
3. Fariñas M, Martínez L. Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. Elsevier; España [internet]; 2013; [citado 1 de mayo 2020] 31(6). Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-infecciones-causadas-por-bacterias-gramnegativas-S0213005X13000955>
4. Montero M. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos. Universidad Autónoma de Barcelona, España [internet]; 2012; [citado 1 de mayo 2020]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/107902/mmm1de1.pdf?seque>
5. Mendoza S. Efecto antimicrobiano del extracto oleoso de *Cinnamomum zeylanicum* “canela” sobre cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* comparado con Ceftazidima, estudio in vitro.

[tesis] Trujillo; Universidad César Vallejo, 2016 [citado 10 de mayo 2020]. Disponible en: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/576/mendoza_ps.pdf?sequence=1&isAllowed=y

6. Mosquito S, Ruíz J, Bauer J, Ochoa T. Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. Rev. Perú Med Esp [internet]; 2011 [citado 10 de mayo 2020]; 28(4). Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v28n4/a13v28n4.pdf>
7. Alós J. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. Elsevier; España [internet]; 2015; [citado 10 de mayo 2020]; 33(10). Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-resistencia-bacteriana-los-antibioticos-una-S0213005X14003413>
8. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Scielo [internet]; 2016; [citado 1 de mayo 2020] 77(4). Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a02v77n4.pdf>
9. Escalona J. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de *Tamarindus indica* L. como premisa para su introducción en la medicina complementaria [tesis] Cuba, Universidad de Oriente; 2011 [citado 1 de mayo 2020]. Disponible en: http://tesis.sld.cu/FileStorage/000251-4145-Julio_C%C3%A9sar_Escalona.pdf

10. Orozco M. El cultivo de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) en trópico seco de México [internet] México; 2001 [citado 1 de mayo 2020]. Disponible en: <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/2186/61michoacan.pdf>
11. Idu, M, Osadolor S. Phytochemical screening and antimicrobial properties of the ethanolic root extract of *Tamarindus indica* L. USA [internet]; 2020 [citado 1 de mayo 2020]. Disponible en: <https://chemrj.org/download/vol-5-iss-3-2020/chemrj-2020-05-03-14-23.pdf>
12. Castillo A. Actividad antimicrobiana de extractos de subproductos de mango *Mangifera indica* L. y tamarindo *Tamarindus indica* L [tesis] Repositorio institucional UTPL; Ecuador 2018 [citado 27 de mayo 2020]. Disponible en: <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/20.500.11962/21904>
13. Osan B, Rosma A, Noryati I, Frederick A, Shaida. Antimicrobial Activity of Various Plant Extracts on *Pseudomonas* Species Associated with Spoilage of Chilled Fish [internet] Turkey; 2016 [citado 27 de mayo 2020]. Disponible en: <http://www.agrifoodscience.com/index.php/TURJAF/article/view/668/388>
14. Untol E. Efecto in vitro de extractos etanólicos de *Mangifera indica*, *Tamarindus indica* y *Cassia angustifolia* sobre el crecimiento de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* ATCC 25922. [internet] Universidad Nacional de Trujillo: Perú; 2019 [citado 27 de mayo 2020]. Disponible en: <http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/346183>

15. Tisoc P. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de la pulpa del *Tamarindus indica* “tamarindo” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25933, comparado con oxacilina a 1 µg, estudio in vitro [tesis] Trujillo, Universidad César Vallejo; 2019 [citado 22 de junio 2022]. Disponible en: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/40326/Tisoc_GPF.pdf?sequence=5&isAllowed=y
16. Cosme I. El uso de las plantas medicinales. Rev. Inter. [internet] 2008 [citado 14 de junio 2020] p. 23-26. Disponible en: <https://cdigital.uv.mx/handle/123456789/8921>
17. Guillen P, Sarmiento G. Validación de las metodías aplicadas a los procesos de selección, lavado, secado y almacenamiento para plantas medicinales a través de aplicación de técnicas oficiales basadas en la farmacopea de la Organización Mundial de la Salud [internet] Ecuador, Universidad de Cuenca; 2011 [citado 14 de junio 2020]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/2457>
18. Carrión A, García C. Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metodía [internet] Universidad de Cuenca; Ecuador:2010 [citado 14 de junio 2020]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>
19. González A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas [internet] Universidad Nacional de Colombia; 2004 [citado 17 de setiembre 2019]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1173/1/angelaandreagonzalezvilla.2004.pdf>
20. Granados C, Torrenegra M, Pajaro N, Granados E, León G. Caracterización química y determinación de la actividad antioxidante de la pulpa de *Tamarindus indica* L. (tamarindo)

Rev. Cub de Pla. Med [internet] 2017 [citado 17 de setiembre 2020] 22(2). Disponible en:
<http://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/509/283>

21. Avilés D, Delgado K, Gómez A. Correlación de suspensiones estandarizadas de microorganismos por el método turbimétrico vs escala de McFarland [tesis] Nicaragua, Universidad Autónoma de Nicaragua ; 2010 [citado 23 de agosto 2022]. Disponible en:
<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/895/1/216220.pdf>

22. Castillo C. Efecto inhibitorio *in vitro* de *Myrciaria dubia* “camu-camu” sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* [tesis] Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Medicina; 2013 [citado 23 de agosto 2022]. Disponible en:
https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/232/CastilloCarranza_C.pdf?sequence=1&isAllowed=y

23. Martínez J. Estudio de metiltransferasas involucradas en la resistencia a antibióticos en cultivos de bacilos Gram negativos no fermentadores de origen clínico [internet] México; Instituto Politécnico Nacional; 2010 [citado 17 de setiembre 2020]. Disponible en:
<https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/9317/172.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

24. Delgado S, Morales Torres FA. Detección de *Pseudomonas aeruginosa* y bacterias heterótrofas de aguas envasadas en botellas y bolsas destinadas al consumo humano, comercializadas en la ciudad de Managua en el período diciembre 2014 a enero 2015 [internet] Managua; Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; 2015 [citado 14 de noviembre 2020]. Disponible en: <http://repositorio.unan.edu.ni/1029/1/58359.pdf>

25. Barberán J. Actualización en patología infecciosa 2016. Rev. Esp. de Quimio. [internet] España; 2016 [citado 14 de noviembre 2020]. Disponible en: https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq_0214-3429_29_sup1_completo.pdf#page=26
26. MINSA. Bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos [internet] Perú: 2005 [citado 14 de noviembre 2020]. Disponible en: <https://web.ins.gob.pe/sites/default/files/Archivos/Manual%20de%20bioseguridad%20-%20INS.pdf>
27. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Código de ética para la investigación versión 003 [internet] 2020 [citado 14 de mayo 2021]. Disponible en: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/codigo%20de%20%C3%A9tica%20para%20la%20investigaci%C3%B3n.pdf>
28. Páez M, Mercado G, Blancas F, Villegas R, Sáyago S. Compuestos bioactivos y propiedades saludables del tamarindo (*Tamarindus indica* L.). Rev. Cien. Bio. Sal.; México [internet]; 2015 [citado 14 de noviembre 2020] 18(1), p. 10-21. Disponible en: <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/241>

ANEXOS

Certificación de la planta

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Rosanae
- Orden: Fabales
- Familia: Fabaceae
- Género: *Tamarindus*
- Especie: *T. indica* L.
- Nombre común: "tamarindo"

Muestra alcanzada a este despacho por LILIBETH JAQUELINE CALDERÓN SÁNCHEZ, identificado con DNI: 70692947, con domicilio legal en Urbanización Miguel Grau Etapa 2, Mz. D, Lote 2- Casa Grande. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: EFECTO ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE *Tamarindus indica* "TAMARINDO" EN *Pseudomona aeruginosa*.

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 11 de octubre del 2019


Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT



Fig. 1 Maceración de las hojas de *Tamarindus indica*.



Anexo 2 Cálculo del promedio de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Tamarindus indica* en cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*

Extracto etanólico	Amikacina	50%	75%	100%
Promedio	19.7	10.6	12.1	15.2
Mediana	19	10	12	15
Varianza	1.5	2.36	0.69	1.4
Desv. tip.	1.2	1.5	0.8	1.2
Valor mínimo	18	9	10	14
Valor máximo	21	12	14	16

EXTRACTO_ETANOLICO_CALDERON_SANCHEZ_LILIBETH.docx

INFORME DE ORIGINALIDAD

0%

INDICE DE SIMILITUD

0%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 4%

Excluir bibliografía

Activo