



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

**TESIS**

**“EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ETANOLICO DE  
*Azadirachta indica* (neem) SOBRE SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA”**

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

**PRESENTADO POR:  
ALCÁNTARA OSORES ARACELI**

**ASESOR:  
MG. JUANA DEL CARMEN CALDERÓN SÁNCHEZ**

**LIMA – PERU, ENERO 2018**

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a Dios, quien nos ilumina y guía día a día. A mis padres César y Olinda por toda su confianza, amor y apoyo incondicional que me brindan. A Brussey por su apoyo moral, por su motivación y constante interés para realizar la presente investigación.

## **AGRADECIMIENTO**

Mis agradecimientos a la Mg. Juana del Carmen Calderón Sánchez, por su tiempo de asesoría que permitió la realización de dicha investigación y a la Mg. Cecilia Ignacio Punin por su apoyo en el desarrollo metodológico.

## ÍNDICE

	Pág.
<b>CARÁTULA</b>	i
<b>DEDICATORIA</b>	ii
<b>AGRADECIMIENTO</b>	iii
<b>ÍNDICE</b>	iv
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	viii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	ix
<b>RESUMEN</b>	xi
<b>ABSTRACT</b>	xii
<b>INTRODUCCIÓN</b>	xiii
<b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	
<b>1.1 Descripción de la realidad problemática</b>	15
<b>1.2 Problemas de investigación</b>	16
1.2.1 Problema General	16
1.2.2 Problemas Específicos	16
<b>1.3 Objetivos de la investigación</b>	17
1.3.1 Objetivo General	17
1.3.2 Objetivos Específicos	17
<b>1.4 Justificación, importancia y limitaciones de la Investigación</b>	18
1.4.1 Justificación de la investigación	18
1.4.2 Importancia	19
1.4.3 Limitaciones de la investigación	20
<b>CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLE DE LA JUSTIFICACIÓN</b>	
<b>2.1 Hipótesis de la investigación</b>	21

2.1.1 Hipótesis General	21
2.1.2 Hipótesis Específicas	21
<b>2.2 Variables de la investigación</b>	<b>22</b>
2.2.1 Identificación y clasificación de variables	22
2.2.2 Operacionalización de variables	23
<b>CAPÍTULO III: MARCO TEÓRICO</b>	
<b>3.1 Antecedentes de la investigación</b>	<b>24</b>
3.1.1 A nivel nacional	24
3.1.2 A nivel internacional	24
<b>3.2 Bases teóricas</b>	<b>28</b>
3.2.1 Recurso vegetal	28
3.2.2 Familia meliaceae	29
3.2.3 <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem)	30
3.2.3.1 Clasificación Taxonómica	30
3.2.3.2 Generalidades	31
3.2.3.3 Descripción botánica	31
3.2.3.4 Composición química	35
3.2.3.5 Propiedades medicinales	38
3.2.3.6 Otras propiedades	39
3.2.4 Bacterias	40
3.2.4.1 Estructuras bacterianas	41
3.2.4.2 Clasificación de las bacterias según su pared Celular	44
3.2.5 <i>Escherichia coli</i>	46
3.2.5.1 Taxonomía	46
3.2.5.2 Generalidades	46
3.2.5.3 Patogenicidad	47
3.2.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	49
3.2.6.1 Taxonomía	49

3.2.6.2 Generalidades	49
3.2.6.3 Patogenicidad	50
3.2.7 Determinación de la actividad antimicrobiana	51
3.2.7.1 Determinación de la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar en discos según Kirby-Bauer	51
3.2.7.2 Técnica de Microdilución	52
3.2.8 Los Extractos	52
3.2.9 Marcha Fitoquímica	54
<b>3.3 Definición de términos</b>	<b>54</b>
<b>CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN</b>	
<b>4.1 Tipo y nivel de investigación</b>	<b>56</b>
4.1.1 Tipo de investigación	56
4.1.2 Nivel de investigación	56
<b>4.2 Método y diseño de la investigación</b>	<b>57</b>
4.2.1 Método de la investigación	57
4.2.2 Diseño de la investigación	57
<b>4.3 Población y muestra de la investigación</b>	<b>57</b>
4.3.1 Población	57
4.3.2 Muestra	57
<b>4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos</b>	<b>57</b>
4.4.1 Técnicas	57
4.4.2 Instrumentos	58
<b>4.5 Procedimiento de recolección de datos</b>	<b>58</b>
4.5.1 Identificación taxonómica	58
4.5.2 Método de extracción del vegetal	58
4.5.3 Determinación de la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar en discos según Kirby-Bauer	61

4.5.4 Perfil fitoquímico del extracto etanólico	64
<b>CAPITULO V: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</b>	
5.1 Análisis de cuadros	66
5.2 Discusión de los resultados	71
<b>CONCLUSIONES</b>	73
<b>RECOMENDACIONES</b>	74
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	75
<b>ANEXOS</b>	84

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
<b>Cuadro 1:</b> Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem) al 100% frente a cepas ATCC	66
<b>Cuadro 2:</b> Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem) al 60% frente a cepas ATCC	67
<b>Cuadro 3:</b> Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem) al 30% frente a cepas ATCC	68
<b>Cuadro 4:</b> Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem) al 15% frente a cepas ATCC	69
<b>Cuadro 5:</b> Marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem).	70



## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1:</b> Arbol de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem)	32
<b>Figura 2:</b> Flores de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem)	33
<b>Figura 3:</b> Hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem)	34
<b>Figura 4:</b> Fruto de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem)	35
<b>Figura 5:</b> Diferencia estructural entre bacterias Gram positivas y Gram negativas	45

## RESUMEN

En nuestro país encontramos abundantes recursos vegetales, algunos de ellos poseen propiedades medicinales y otros aún no han sido estudiados, es el caso de *Azadirachta indica* A. Juss conocida como Neem, especie que para el presente estudio fue recolectado en el distrito de Chulucanas, en el departamento de Piura, Perú.

El objetivo de la investigación fue determinar el efecto de la concentración del extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) sobre la actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Para la preparación del extracto se utilizó hojas secas, las cuales fueron maceradas en alcohol al 96%, al cual se realizó una marcha fitoquímica y se determinó su actividad antimicrobiana a diferentes concentraciones, empleando la técnica de difusión en agar en discos.

El resultado indico que el extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) presenta alcaloides, esteroides, saponinas, taninos, triterpenos, azúcares reductores y fenoles. Y que a las concentraciones de 100%, 60% y 30% presento actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 evidenciándose halos de inhibición con un promedio de 12mm, 10mm y 8mm; sin embargo para *Escherichia coli* ATCC 8739 y concentraciones menores para ambas cepas patógenas no presento actividad antimicrobiana.

Concluyendo que el extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss a concentraciones iguales y mayores al 30% presento actividad antimicrobiana frente a las cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, la cual se le atribuye a los fitoconstituyentes encontrados y reportados en investigaciones anteriores.

**Palabras clave:** *Azadirachta indica* A. Juss, extracto etanólico, actividad antimicrobiana

## ABSTRACT

In our country we find abundant natural resources, some of them have medicinal properties and others have not yet been studied, is the case of *Azadirachta indica* A. Juss known as Neem, species that for the present study was collected in the district of Chulucanas, in the department of Piura, Perú.

The objective of the investigation was to determine the effect of the concentration of the ethanolic extract of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) on the antimicrobial activity against strains of *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

For the preparation of the extract, dried leaves were used, which were macerated in 96% alcohol, to which a phytochemical march was carried out and their antimicrobial activity was determined at different concentrations, using the disc diffusion technique in agar.

The result indicated that the ethanolic extract of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) present alkaloids, steroids, saponins, tannins, triterpenes, reducing sugars and phenols. And that at concentrations of 100%, 60% and 30% showed antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 evidencing halos of inhibition with an average of 12mm, 10mm and 8mm; however for *Escherichia coli* ATCC 8739 and lower concentrations for both pathogenic strains did not present antimicrobial activity.

Concluding that the ethanolic extract of *Azadirachta indica* A. Juss at concentrations equal to and greater than 30%, it presented antimicrobial activity against the strain *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 which is attributed to the phytoconstituents found and reported in previous investigations.

**Keywords:** *Azadirachta indica* A. Juss, ethanolic extract, antimicrobial activity

## INTRODUCCION

Desde tiempos muy remotos el hombre ha utilizado lo que encuentra a su alrededor para sobrevivir logrando así poder identificar diferentes especies naturales con diferentes fines: como alimentos, para la construcción, para vestir y para la salud. Es ahí que desde tiempos muy antiguos los recursos vegetales han sido de mucha importancia en el área terapéutica con la única finalidad de brindarnos una mejor calidad de vida.

Actualmente gracias a los grandes descubrimientos, avances tecnológicos y científicos hemos podido analizar los compuestos presentes en cada una de ellas, obteniéndose así grandes propiedades curativas que a determinadas dosis han tenido un efecto importante en la salud.

Cada vez las enfermedades infecciosas son más frecuentes en nuestro país, siendo uno de los microorganismos causantes las bacterias que con el transcurrir del tiempo se vuelven difíciles de combatir porque muchas veces la población prefiere la automedicación, volviéndolas cada día más resistentes a los tratamientos con antibióticos, por ello vemos la alternativa de utilizar productos de origen natural ya que a través de los extractos naturales se están evaluando su efecto antimicrobiano, antimicótico y antioxidante por medio de pruebas in vitro.

Teniendo en cuenta la gran variedad de flora que tenemos en nuestro país cada día se está impulsando la investigación de los recursos vegetales, como la *Azadirachta indica* A. Juss la cual es conocida como Neem; un arbusto que podría constituir una fuente de principios activos con propiedades medicinales. Es por ello que el objetivo del presente estudio fue determinar la concentración del extracto etanólico de *Azadirachta indica* A.

Juss sobre su actividad antimicrobiana frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

## **CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1 Descripción de la realidad problemática**

Nuestro país presenta abundantes recursos vegetales, en el cual podemos encontrar varias especies con propiedades curativas propias para cubrir las necesidades del hombre, se podría decir que la naturaleza es tan perfecta que nos provee todo lo que necesitamos para la alimentación y curación de las enfermedades. Los conocimientos sobre las propiedades medicinales de estos recursos vegetales fueron transmitidos de generación en generación, en un comienzo se desarrollaron en forma empírica y con el pasar del tiempo se han realizado estudios científicos con diversas técnicas, que nos permiten determinar e identificar los diversos principios activos contenidos en estas especies con la finalidad de poder brindar a la sociedad nuevas alternativas de origen natural para la curación y prevención de diversas patologías.

Actualmente se están realizando estudios a los extractos vegetales los que presentan efectos antibacterianos, antimicóticos y biocidas, tal

es el caso de *Azadirachta indica* A. Juss conocida como Neem, motivo por el cual se realizará el presente estudio científico.

En nuestra sociedad el estudio de las plantas medicinales tiene como finalidad encontrar una nueva opción para actuar contra aquellos patógenos que con el transcurrir del tiempo se están volviendo más resistentes a los tratamientos de antibióticos.

## 1.2 Problemas de investigación

### 1.2.1 Problema General

¿Cuál es el efecto de la concentración del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana?

### 1.2.2 Problemas Específicos

P.E.1: ¿Cuál es el efecto de la concentración al 100% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?

P.E.2: ¿Cuál es el efecto de la concentración al 60% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?



P.E.3: ¿Cuál es el efecto de la concentración al 30% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?

P.E.4: ¿Cuál es el efecto de la concentración al 15% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?

### **1.3 Objetivos de la investigación**

#### 1.3.1 Objetivo General

Determinar el efecto de la concentración del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) sobre la actividad antimicrobiana.

#### 1.3.2 Objetivos Específicos

O.E.1: Evaluar el efecto de la concentración al 100% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

O.E.2: Evaluar el efecto de la concentración al 60% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss

(neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

O.E.3: Evaluar el efecto de la concentración al 30% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

O.E.4: Evaluar el efecto de la concentración al 15% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

## **1.4 Justificación, importancia y limitaciones de la investigación**

### 1.4.1 Justificación de la investigación:

En nuestro país no se tiene suficientes estudios científicos sobre las propiedades medicinales del árbol de *Azadirachta indica* A. Juss, aunque se tiene como referencia que diversas partes de este recurso vegetal tiene acciones medicinales de gran importancia.

Distintas investigaciones nos han reportado que sus propiedades se deben a diversos compuestos químicos que se encuentran presentes en los extractos naturales, siendo los

alcaloides, saponinas, taninos, triterpenos y fenoles los responsables de sus propiedades medicinales.

El presente estudio tiene una justificación teórica ya que determino la concentración del extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss procedente de Chulucanas que presenta actividad antimicrobiana, de esta manera enriquecer los estudios científicos ya existente, así mismo tuvo una justificación social porque de esta manera nos brindara una nueva alternativa terapéutica ya que nos permitirá reducir el uso indiscriminado de los antibióticos.

#### 1.4.2 Importancia

El presente trabajo de investigación es importante porque nos permite corroborar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss, la cual puede ser una alternativa para la prevención y tratamiento de diversas patologías que se presentan en nuestro país y así disminuir el uso de antibióticos o la automedicación, mediante la elaboración de fitofármacos a base de *Azadirachta indica* A. Juss, a una concentración establecida. A partir de la producción de estos productos se podría mejorar la calidad de vida de muchas personas, debido a que los costos de estos productos no son muy elevados y serian de un fácil acceso, ya que en la actualidad el costo de los antibióticos se elevan constantemente y a la larga ocasionan efectos secundarios en nuestro organismo, a diferencia de los fitofármacos que actúan directamente hacia la patología, sin comprometer ningún otro órgano de nuestro cuerpo.

Además esperamos contribuir para que se puedan desarrollar cultivos de esta planta medicinal, ya que en la actualidad crece de manera silvestre sin tener en cuenta todas las propiedades curativas que nos puede brindar.

#### 1.4.3 Limitaciones de la investigación

La presente investigación se encontró con algunas limitaciones las cuales se resumen en:

- Escasez bibliográfica de información científica en nuestro país, referente a los beneficios que presenta el extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss (neem)
- Dificil obtención del recurso vegetal, debido a que no hay una distribución amplia, ya que se trata de una especie introducida a nuestro país.
- Debido a que se trata de un estudio “ in vitro “ no permite reproducir exactamente lo que ocurre en condiciones “ in vivo “.

## CAPITULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLE DE LA JUSTIFICACIÓN

### 2.1 Hipótesis de la Investigación

#### 2.1.1 Hipótesis General

La concentración del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) modifica su actividad antimicrobiana.

#### 2.1.2 Hipótesis Específicas

H.E.1: La concentración al 100% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) modifica su actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

H.E.2: La concentración al 60% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) modifica su

actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

H.E.3: La concentración al 30% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) modifica su actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

H.E.3: La concentración al 15% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (neem) modifica su actividad antimicrobiana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

## 2.2 Variables de la Investigación

### 2.2.1 Identificación y clasificación de variables

Variable independiente	Concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss
Variable dependiente	Efecto antimicrobiano

Fuente: Elaboración propia

## 2.2.2 Operacionalización de variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA
<b>Concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss</b>	Producto que contiene los principios volátiles que han sido extraídos de las hojas del recurso vegetal	Concentración	100 % 60 % 30 % 15 %	mg/mL
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA
<b>Efecto antimicrobiano</b>	Capacidad de inhibir el crecimiento o desarrollo bacteriano.	Halo de inhibición	Diámetro del halo de inhibición	mm

Fuente: Elaboración propia

## CAPITULO III: MARCO TEÓRICO

### 3.1 Antecedentes de la investigación

#### 3.1.1 A nivel nacional:

Pese a que se ha realizado una búsqueda exhaustiva no se evidencia estudios científicos en nuestro país

#### 3.1.2 A nivel internacional:

La investigación realizada por Uwimbabazi Francine, Uwimana Jeannette, Rutanga Jean Pierre (2015), **EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE *Azadirachta indica* (NEEM) SOBRE *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli***. Se realizó dicha investigación con el objetivo de evaluar la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos y acuosos de hojas y cortezas frescas y secas frente a cepas de *E. coli* y *S. aureus*. Para lo cual se trabajó con diferentes diluciones ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ) empleando el método de Kirby y Bauer. El estudio reveló que ambos extractos presentan efecto antibacteriano frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*, mientras que para la cepa de *Escherichia coli*



no presento halo de inhibición. Concluyendo que los extractos etanólicos de hojas y cortezas frescas y secas presentaron mayor actividad antibacteriana en comparación con el extracto acuoso, esto se debe a que sus compuestos activos son libremente solubles a compuestos orgánicos. Para ambos casos en estado fresco presentaron un halo de inhibición mayor que los secos, esta ineficiencia se puede deber que al momento del proceso de secado son expuestas a altas temperaturas ocasionando la pérdida de alguno de los componentes que inhiban el crecimiento bacteriano.<sup>1</sup>

La investigación fue realizada por: Prashanth G.K, G.M. Krishnaiah (2014) **COMPOSICION QUIMICA DE LAS HOJAS DE *Azadirachta indica* (NEEM)**. Se realizó dicho estudio con el objetivo de identificar los fitocomponentes que se encuentran presentes en los extractos acuosos y etanólicos de las hojas de *Azadirachta indica*. Para la obtención del extracto se utilizó 20 gr de las hojas en polvo y un equipo de soxhlet, a los cuales se les realizó la marcha fitoquímica para poder conocer los compuestos que se tienen en ambos, realizando las pruebas de: Wagner, Mayer, Molish, Fehling, Benedict, acetato de plomo, Borntrager, Legal, Keller, cloruro férrico, ninhidrina, Biuret y Liebermann-Burchard. Para el extracto etanólico en paralelo se realizó la prueba de cromatografía de gases/masas (GC-MS), que nos permite conocer los compuestos químicos que se encuentran presentes. La investigación demostró la presencia de diferentes fitocomponentes en la marcha fitoquímica, hallándose alcaloides, carbohidratos, flavonoides, taninos, compuestos fenólicos y saponinas para ambos extractos, no se encontró triterpenoides, esteroides, proteínas y aminoácidos en ninguno de los dos extractos y se encontró la presencia de glúcidos solo para el extracto etanólico de hojas; la cromatografía de gases/masas reveló la presencia de ácido

acético y acetato entre otros. Concluyendo que ambas pruebas nos indican la presencia de diferentes fitocomponentes los cuales pueden ser de gran utilidad para poder explorar los aspectos farmacológicos que posee este recurso vegetal.<sup>2</sup>

La investigación realizada por Doris Reyes de Fuentes, Rafael Fernández da Silva (2013), **EFFECTO BIOCIDA IN VITRO DEL EXTRACTO FOLIAR DE *Azadirachta indica* (NEEM) en *Staphylococcus sp* y *Pseudomonas sp***. Se realizó dicha investigación con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico foliar de *Azadirachta indica*. Para lo cual el extracto se trabajó a diferentes concentraciones con la finalidad de poder determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), bactericida (CMB) y fungicida (CHF), las cepas evaluadas fueron el complejo *Candida albicans*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*; el estudio se realizó a intervalos de 24 y 48 horas a 37°C. La investigación demostró que a las 24 horas, las concentraciones al 30%, 40% y 45% determinaron la CMI y al 35%, 45% y 50% determinaron la CMB, en las cepas de *S. aureus*, *S. mutans* y *P.aeruginosa* respectivamente; mientras que para el complejo *C. albicans* no se pudo observar un efecto fungicida pero si fungistático parcial. Después de 48 horas de exposición en *S. mutans* no se observó ningún tipo de crecimiento y la concentración al 5% determino la CMB, mientras que las concentraciones al 25%, 30% y 35% determinaron la CMI en las cepas de *S. aureus*, complejo de *C. albicans* y *P. aeruginosa*, para la determinación de la CMB se dio por las concentraciones al 30% para *S. aureus* y 40% para *P.aeruginosa*, en el caso del complejo *C. albicans* la concentración al 35% determinó CMF ( concentración mínima fungicida ). Concluyendo que el mayor efecto biocida del extracto etanólico de *Azadirachta*

*indica* se puede observar a las 48 horas de exposición a bajas concentraciones.<sup>3</sup>

La investigación fue realizada por: Maragathavalli S, Brindha S, kaviyarasi N.S, B. Annadurai B, Gangwar S.K. (2012) **ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN EXTRACTO DE LAS HOJAS DE *Azadirachta indica* (NEEM)**. Se realizó dicha investigación con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico y metanólico de las hojas de *Azadirachta indica*. Se trabajó ambos extractos a las concentraciones de 200mg/ml, 150mg/ml, 100mg/ml, 50mg/ml y 25mg/ml, para luego determinar la concentración mínima inhibitoria, para lo cual se utilizó cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* y *Bacillus pumillus*, mediante el método de difusión en agar y realizando una comparación con gentamicina 200mg y 10mg. Este estudio demostró que el extracto etanólico presento mayor halo de inhibición sobre las cepas de *Bacillus pumillus* en comparación con gentamicina de 200mg y 10mg; respecto a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* se observó un halo de inhibición menor en comparación con el antibiótico utilizado; en caso del extracto metanólico también presento halo de inhibición sobre las cepas de *Bacillus pumillus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* aunque fue en menor tamaño en comparación con el antibiótico, a excepción de la cepa de *Staphylococcus aureus* donde se observó un crecimiento mayor del halo de inhibición en comparación con gentamicina de 10mg; en las cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* no se observó crecimiento de halo de inhibición en ninguno de los dos extractos. Concluyendo así que las hojas de *Azadirachta indica* presenta una buena actividad antibacteriana para las cepas de *Staphylococcus aureus*,

*Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus pumillus*; atribuyéndole dicha acción a los fitoconstituyentes que posee como los flavonoides, alcaloides y saponinas.<sup>4</sup>

## **3.2 Bases teóricas**

### 3.2.1 Recurso vegetal

Los recursos vegetales constituyen el patrimonio natural de nuestro país. Perú posee una variedad de recursos naturales y esto se debe en parte a su gran ubicación geográfica. Obteniendo así una gran variedad de recursos vegetales con propiedades medicinales.<sup>5</sup>

- Recurso vegetal medicinal: Son aquellas partes del recurso vegetal que contiene sustancias activas, las cuales van a brindar un beneficio terapéutico a las persona. La parte que será utilizada con un fin terapéutico se le conoce como droga vegetal, la cual va estar constituida con un principio activo que es el componente responsable de la acción farmacológica. El recurso vegetal medicinal a diferencia de los fármacos con sustancias químicas tienen una acción un poco más lenta pero no es muy común los efectos de rebote, efectos secundarios o algún tipo de adicción luego de consumirlos.<sup>6</sup>
- Fitomedicamento: Son aquellos medicamentos que constan de una sustancia activa la cual proviene de un extracto de una determinado recurso vegetal medicinal, diferenciándola de un fármaco químico la cual está constituida por moléculas químicamente sintetizadas, su utilización terapéutica está basada

a los resultados obtenidos de los diferentes estudios clínicos que fueron diseñados según criterios internacionales.<sup>7</sup>

- Fitoterapia: Es la utilización de aquellos recursos vegetales medicinales en terapéutica, las cuales se basan de conocimientos científicos que han sido brindados por aquellos estudios que se realizó.<sup>6,7</sup>

### 3.2.2 Familia meliaceae

Arboles pequeños o grandes, pero generalmente arbustos. Hojas compuestas pinnadas, raramente trifoliadas o unifolioladas, sus foliolos son enteros o aserrados contiene unos puntos o glándulas secretoras transparentes o nectarios extraflorales. Inflorescencias terminales o axilares. Flores bisexuales y unisexuales (plantas monoicas, dioicas ambas flores estaminadas y pistiladas con buen desarrollo de los órganos del sexo opuesto); contiene entre cuatro a cinco sépalos, que casi siempre se encuentran libres o ligeramente fusionados en un vertilicio; entre tres a siete pétalos, libres o fusionados; androceo usualmente con cinco o diez estambres fusionados en un tubo, raramente libres. El fruto es como una cápsula, rara vez drupa. Semilla secas y aladas o carnosas, con un tegumento envolvente delgado; endosperma comúnmente ausente.<sup>8</sup>

- Distribución:  
Se distribuye mayormente en regiones tropicales y sub tropicales del mundo, también se observa en zonas templadas pero en menor porcentaje. En Perú se encuentran ubicadas en las regiones del nor oriente, en los bosques húmedos, mesoandinas y

bosques secos, las cuales se halla entre los 100 y 1700 m de altitud.<sup>8-9</sup>

- Diversidad:

Consta de 51 géneros y alrededor de 800 especies en el mundo. En Perú presenta 10 géneros y 75 especies todas son árboles o arbustos.<sup>9</sup>

- Importancia:

De esta familia se obtiene maderas importantes como la caoba y el cedro, es una madera muy sencilla para trabajarla y tiene muchas aplicaciones para los trabajos de carpintería, mueblería y construcciones navales, poseen la presencia de canales oleíferos, gracias a los cuales tienen un aroma muy especial. Otros productos que se pueden obtener de esta familia son jabones e insecticidas.

También por los estudios realizados a esta familia se conoce que diversas partes de este recurso vegetal presentan distintas acciones farmacológicas<sup>10</sup>

### 3.2.3 *Azadirachta indica* A. Juss (neem)

#### 3.2.3.1 Clasificación Taxonómica

Según sistema de clasificación de Cronquist (1981)

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub Clase: Rosidae

Orden: Sapindales

Familia: Meliaceae

Género: *Azadirachta*

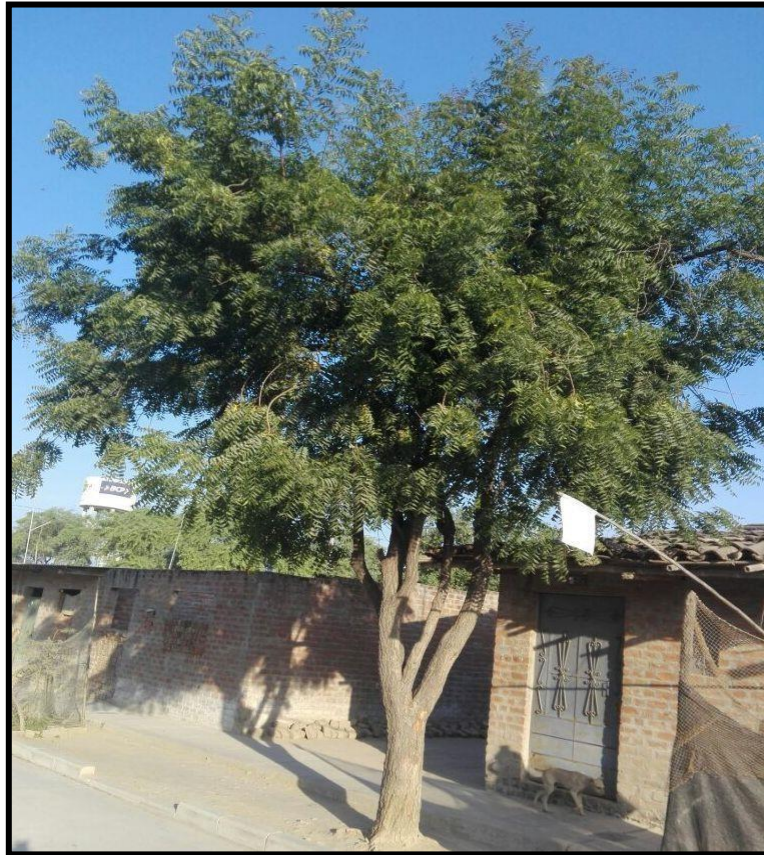
Especie: *Azadirachta indica* A. Juss

### 3.2.3.2 Generalidades

Es nativo del subcontinente Indú y de los países del suroeste asiático, donde le han dado tradicionalmente durante siglos una utilidad múltiple, otros también lo ubican en el Subcontinente Indo-Pakistaní, en las zonas secas del Sur y Sureste Asiático incluyendo Pakistán, Sri Lanka, Birmania, Tailandia e Indonesia. El origen de este recurso vegetal medicinal es totalmente incierto.<sup>11</sup>

### 3.2.3.3 Descripción botánica

Árbol mediano de rápido crecimiento que puede alcanzar entre 15 a 30 m. de altura Tiene abundante follaje todas las temporadas del año, pero en condiciones severas se deshoja, incluso casi completamente. El tronco es corto, recto, alcanza un grosor de 2.5 m. La corteza es dura, agrietada y presenta un color gris rojizo. Las ramas presenta unos tallos entre dos y cinco metros y la unión de todos estos dan la forma de una corona redonda y ovaleada.<sup>12</sup>



**Figura 1: Arbol de *Azadirachta indica* A. Juss**

Fuente: Elaboración propia

Las flores son de color blancas, crema o amarillentas, están dispuestas axialmente, normalmente como panículas colgantes que miden más de 22 cm de longitud. Las inflorescencias, que se ramifican en tercer grado tiene 150 a 250 flores, cada una mide 5 a 6 milímetros de longitud y de 8-11 de ancho. Se caracterizan por su dicogamia, es decir, puede haber flores femeninas y masculinas en el mismo árbol pero en periodos diferentes. Según el tipo de suelo y clima que tenga cada región va a depender la floración y su fecundidad va a depender de la humedad del suelo así como de la iluminación.<sup>11</sup>





**Figura 2: Flores de *Azadirachta indica* A. Juss**

Fuente: Elaboración Propia

Su hoja presenta una forma aserrada con un largo de 7 a 10 cm, ancho de 3 a 4 cm, en un comienzo presenta un color rojo cobrizo mientras q van madurando cogen un color verde oscuro. La caída de las hojas se da cuando hay extrema sequias o después de que se dieron las heladas.<sup>11-12</sup>



**Figura 3: Hojas de *Azadirachta indica* A. Juss**

Fuente: Elaboración propia

Su fruto es una drupa parecida a la aceituna en forma que varía desde un ovalo elongado hasta uno ligeramente redondo, y cuando madura mide 14 a 28 mm de longitud y 10 a 15 mm de ancho, su coloración es entre un amarillo verdoso a amarillo. Su epicarpio es delgado, el mesocarpio es blanco amarillento, fibroso y sabe dulce, pero es desagradable al gusto. El endocarpio es blanco, duro y almacena una semilla, en raras ocasiones dos o tres semillas elongadas con una corteza de color castaño. El fruto presenta una maduración desuniforme, no simultanea (en una misma rama se puede observar flores, frutos maduros y frutos inmaduros), debido al frote secuencial de flores, usualmente maduran entre los meses de junio a agosto.<sup>11-13</sup>



**Figura 4: Fruto de *Azadirachta indica* A. Juss**

Fuente: Elaboración propia

La semilla tiene forma elipsoidal, mide alrededor de 1.4cm de largo y 6.5 mm de ancho, esta se encuentra envuelta por una cascara de color café, muchas veces presenta solo una sola semilla o hasta dos semillas.<sup>11</sup>

#### 3.2.3.4 Composición química

La *Azadirachta indica* A. Juss contiene cientos de compuestos químicos, los cuales están determinados por los genes, cabe resaltar que estos al verse afectados por los factores ambientales, pueden modificar la producción de los metabolitos. Los cuales de mayor interés son los terpenoides (tetranortriterpenos, diterpenos, triterpenos, sesquiterpenos) siendo el más activo la azadiractina; también se puede aislar moléculas como flavonoides, polifenólico llamado quercetina,

un b-sitosterol y nimbina; limonoides como lanimocinolida, Nimbolina y isonimocinolida; Taninos, compuestos sulfurosos, alcaloides como margosina, carbohidratos, proteínas (aproximadamente 10%), carbohidratos (22,9%), minerales (9,8%), calcio, fósforo, magnesio y resina.<sup>12</sup>

### Terpenoides

También conocidos como isoprenoides, está conformado por un grupo de sustancias que constituye uno de los metabolitos de mayor abundancia e importancia en las plantas, estos derivan de unidades de isopreno (C5) unidas en cadena.<sup>14</sup>

Los terpenoides se comercializan con frecuencia para brindar el aroma y fragancia en alimentación y cosmética, en el campo medicinal tiene propiedades antiulcerosas, anticarcinogénicas y antimicrobianas.<sup>14-15</sup>

- Monoterpenoides: Terpenoide de 10 carbonos, estos son considerados como la unidad base, porque a partir de ellos se realizaron las otras nomenclaturas. Algunas resinas están compuestas por monoterpenos y los cuales tendrán una acción como insecticidas.<sup>15</sup>
- Sesquiterpenoides: Están conformados por 15 carbonos y tres unidades de isopreno, muchos cumplen una acción como las fitoalexinas, que son antibióticos producidos en las plantas como una reacción del ataque microbiano.<sup>15</sup>
- Diterpenoides: Está conformado por 20 carbonos, algunas de sus funciones son de protección en la

planta, estimuladores del crecimiento vegetal y formando parte de la estructura de la clorofilas<sup>16</sup>

- Triterpenoides: Está conformado por 30 carbonos, muchos se encuentran en las plantas como saponinas triterpenóides, dentro de este grupo tenemos a los brassinoesteroides, son fitoesteroles componentes de la membrana.<sup>16</sup>

### Flavonoides

Son un grupo numeroso que se encuentran ampliamente distribuidos en casi la mayoría de los vegetales, todos contienen en su esqueleto quince átomos de carbono y están arreglados bajo un sistema C6-C3-C6 en el cual se encuentran dos anillos aromáticos, un anillo a la cual deriva de la cadena del policétido y un anillo b que deriva del ácido shikímico y los cuales se encuentran unidos por un puente de tres carbonos cabe la probabilidad que puedan o no formar un tercer anillo.<sup>15-</sup>

17

Los flavonoides se encuentran distribuidos en cualquier parte de la planta, algunas en mayor proporción que otras, pero entre las más principales tenemos a las flavonas y flavonoles y un poco restringidas pero igual presentes son las isoflavonas. Los flavonoides actúan como defensa y protección en las plantas; a nivel comercial son utilizados como colorantes en las lanas y gracias a sus propiedades antioxidantes lo están utilizando en la conservación de grasas y jugos de frutas; a nivel farmacológico actúan contra la fragilidad capilar, para calmar los espasmos y también se puede destacar la acción antimicrobiana.<sup>15-16</sup>

## Alcaloides

Es el grupo de metabolitos secundarios más grande que se encuentra en las semillas, cortezas, raíces y hojas de las plantas. Estos contienen átomos de nitrógeno la cual forma parte de un anillo heterocíclico y son sintetizados de aminoácidos como la lisina, triptófano y tirosina, pero algunos contienen un componente que provienen de la ruta de los terpenos.<sup>16</sup>

El papel que cumplen los alcaloides en las plantas no está muy definido se pensó que estos eran desechos nitrogenados o como almacenamiento de nitrógeno, aunque se reporta que intervienen como reguladores del crecimiento, repelentes, atractores de insectos o que actúan como defensa ante aquellos ganados que la ingieren ocasionándoles su muerte. Muchos de ellos tienen una acción fisiológica como es el caso de la atropina que actúa como un analgésico, la codeína que tiene una acción de sedante y analgésico, la morfina que actúa como narcótico, la tubocurarina como relajante muscular, la reserpina como control de la presión alta de la sangre, la efedrina que es un vasoconstrictor.<sup>16-18</sup>

### 3.2.3.5 Propiedades medicinales

En medicina tradicional, la corteza de *Azadirachta indica* también se utiliza para aliviar inflamaciones e irritaciones cutáneas y curar heridas, hemorroides y encías sangrantes. La savia, por su parte, se emplea para curar diversas dermatosis incluidas hasta hace poco las tremendas úlceras de la lepra. La goma, similar a la arábica, se utiliza como emulgente para el dolor de garganta. Las flores como vermífugos, para aliviar la

tos y varias dolencias oculares, entre ellas las cataratas. Los frutos, también con poder vermífugo, sirven para tratar los trastornos urinarios, purificar la sangre y curar los granos sangrantes.<sup>11</sup>

El aceite, que hasta hace unas décadas se empleaba como un fortaleciente infantil en el sur de la India, se considera todavía como un remedio óptimo para los eccemas, asbcesos, lesiones lepróticas, para la psoriasis y la caspa, para matar piojos y para aliviar comezones. Asimismo ideal para combatir el reumatismo y los dolores articulares.<sup>19</sup>

Las hojas, por su parte, se emplean en la inducción del parto y el tratamiento de los trastornos posteriores, para la higiene íntima (por sus propiedades antiinflamatorias y antisépticas), para inducir la lactación (propiedad que también se utiliza a veces en la industria láctica), para combatir distintas afecciones cutáneas y para tratar la diabetes. Las hojas del neem se empleaban para aliviar los síntomas de la viruela, del sarampión y para tratar las úlceras.<sup>12,19</sup>

#### 3.2.3.6 Otras propiedades

Se empleaba como cepillo para la higiene bucal, la cual era formado con los tallitos de las hojas, sus aceites se utilizó para la preparación de jabones, también se pudo observar con el pasar del tiempo que tenía una acción insecticida utilizándose para la fabricación de pesticidas orgánicos, repelente de insectos; para la producción de leña y para la fabricación de muebles.<sup>19</sup>

### 3.2.4 Bacterias

Las bacterias son microorganismos unicelulares, tienen un diámetro que oscila entre 0,5 a 1,0  $\mu\text{m}$ . Usualmente las bacterias presentan tres tipos: las formas esféricas que son llamadas cocos, las que son en forma de bastoncillos denominadas bacilos y las que son en forma de espiral llamados espirilos.<sup>20</sup>

Los cocos pueden estar como células individuales, unidos de dos en dos o en agrupaciones las cuales son útiles para que se puedan identificar a las bacterias. Los diplococos se forman cuando la célula al ser dividida en un plano se junta de dos en dos para constituir pares; y cuando se dividen en un mismo plano y no se separan permaneciéndose unidas dando la formación de cadenas se les denomina *Streptococcus*. Otras también reciben el nombre de tétradas y es cuando los cocos son divididos en dos planos perpendiculares y se mantienen unidas formando paquetes cuadrados de cuatro células. En caso las células se dividan en tres planos dando la formación de unos cubos se le denominara sardinas.

<sup>20</sup>

Los bacilos son las formas más comunes de las bacterias, no son tan complejas como los cocos, pueden estar en pares o en cadenas, un ejemplo de esta forma de bacteria es el *Bacillus megaterium* la cual presenta una forma de bastoncillo. La forma del extremo del bacilo va a variar dependiendo de la especie algunas pueden ser redondas o planas dependiendo de esto para su diferenciación.<sup>21</sup>

Los espirilos tienen un parecido a un bacilo largo pero retorcido adoptando la forma de un espiral, siendo el número de vueltas del espiral la que nos va a diferenciar entre una y otra especie. Las bacterias espirales pueden ser de dos tipos con espira rígida o con



espira flexible. Al conjunto de las formas espirales flexibles se les conoce como espiroquetas. La clasificación y diferenciación de las espiroquetas patógenas se basa en criterios morfológicos tales como la longitud de vueltas, el ángulo en los extremos de la célula, la presencia de una vuelta externa y la composición del filamento axial, tenemos dentro de este grupo a *Treponema pallidum*.<sup>21,22</sup>

#### 3.2.4.1 Estructuras bacterianas

Las células bacterianas presenta distintas estructuras, las cuales son muy importante para su crecimiento, reproducción y viabilidad, todas las bacterias no presentan las mismas estructuras pero algunas de ellas son las más comunes.

- Estructuras externas

Los flagelos son apéndices fusiformes, la cual está formado por miles de flagelina que es una proteína responsable de la forma del hélice del flagelo y de la reconstitución de estos en caso sean eliminados. Depende de esta estructura el movimiento activo de la bacteria, la cual se puede unir a ella por medio de estructuras denominadas gancho y un cuerpo basal, según la localización de los flagelos van a tener una determinada clasificación, si estos se presentan en un extremo o en ambos extremos se denominaran flagelos polares, si tiene solo uno se llamara monotrica, si tiene solo en uno de los extremos uno o dos flagelos se denominara lofotrica; si tiene en ambos extremos se llamara anfitricas y en caso de que presenten flagelos alrededor de toda la superficie de la celula se llamara peritricas.<sup>21,23</sup>

Los pili o fimbrias son apéndices pequeños también filamentosos pero rectos, los cuales están formados por estructuras denominadas pilinas, pueden estar ubicados en los extremos de la célula o en toda la superficie celular, dependiendo del tipo de pili que se encuentre presente en una bacteria tendrá una determinada función, un tipo conocido es el pilus sexual el cual se encargará de transmitir el material genético de una bacteria a otra conociéndose a este proceso como conjugación bacteriana, otros realizarán el papel de anclaje, la cual servirá para que las bacterias puedan adherirse a la superficie o a otros tipos de células.<sup>20-23</sup>

La capsula se encuentra alrededor de la bacteria, la cual no tiene forma y está constituida por una sustancia viscosa que es segregada por la bacteria; las funciones de esta estructura son de protección frente a la desecación y a sustancias tóxicas, también contribuye a la capacidad de invasión de las bacterias patógenas, esto quiere decir que cuando la bacteria se encuentra encapsulada no puede ser fagocitada por los glóbulos blancos de la sangre, lo cual es una forma de defenderse de nuestro organismo frente a los ataques bacterianos.<sup>23</sup>

- La pared celular  
Es una estructura rígida que se encuentra presente en casi todas las bacterias y mayormente se encuentran fuera de la membrana citoplasmática, es muy importante para las células si en caso esta se destruye

o se impide su formación, la célula pierde su viabilidad. Tiene como principal componente al peptidoglucano una molécula compleja que está constituido por unidades repetidas de monómero formado por dos derivados de carbohidratos, N-acetil Glucosamina y N-acetil Murámico, unidas por enlaces beta 1-4 las cuales están asociados a cadenas cortas peptídicas por medio del N-acetil Murámico, dependiendo del peptidoglucano se van a diferenciar entre bacterias gram negativas y gram positivas, ya que estas son las responsables de retener el tinte durante la tinción de gram.<sup>20-23</sup>

- **Protoplastos y esferoplastos**  
En el caso de aquellas bacterias Gram positivas que han perdido su pared celular por enzimas que degradan el peptidoglucano o por medio de hidrólisis con lisozimas pueden adoptar una forma esférica denominado protoplasto. En el caso de las bacterias Gram negativas debido a su composición, la capa externa de la pared es más resistente, por lo tanto cuando son atacadas con las enzimas se transforman en un cuerpo esférico, la cual mantiene la capa lipídica denominada esferoplastos.<sup>23</sup>
- **Estructuras internas**  
La membrana citoplasmática es una estructura delgada que rodea a la célula, delimita el interior del exterior celular y regula el flujo de sustancias disueltas hacia adentro y hacia afuera de la célula, por lo tanto se le conoce que es una membrana con permeabilidad selectiva solo ingresan los nutrientes y se eliminan los

desechos, está constituida por 50% de fosfolípidos y 50% de proteínas. La estructura en tres capas de la membrana, consiste en una doble capa de fosfolípidos, con grupos hidrófobos mirando hacia el centro y los grupos hidrofílicos hacia la parte externa de la bicapa lipídica. Las proteínas se encuentran flotando en la bicapa lipídica con sus terminaciones penetrando en ambas superficies de la membrana, es así que se le conoce como el modelo del mosaico fluido, que fue propuesto por Singer y Nicolson.<sup>21,23</sup>

- El citoplasma

Tiene una consistencia viscosa y está compuesto de una mezcla heterogénea de proteínas y es el lugar donde ocurren importantes reacciones metabólicas, como la glucólisis. Se encuentra ubicada entre el núcleo y la membrana plasmática, su función principal es la de albergar a todos los orgánulos celulares para que puedan realizar sus funciones determinadas<sup>21</sup>.

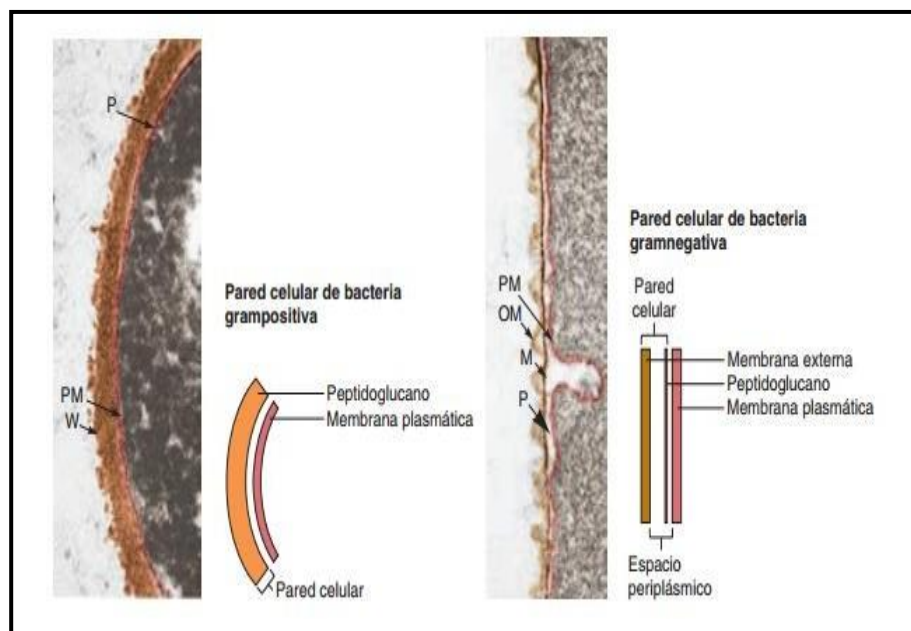
El material nuclear la célula de las bacterias no tienen un núcleo motivo por el cual su ADN está situada cerca al centro de la célula, denominándose nucleóide o región nuclear.<sup>21-23</sup>

Las esporas son estructuras ovaladas con una pared gruesa las cuales son muy resistentes a los ácidos, las altas temperaturas, la desecación y otros agentes.<sup>21</sup>

### 3.2.4.2 Clasificación de las bacterias según su pared celular

Debido al método de tinción desarrollada por Christian Gram en 1884 se pudo clasificar a las bacterias en dos grupos. Las

bacterias Gram positivas las cuales adquieren un color morado y las Gram negativas que adquieren un color rosa a rojo, esto se debe a las diferencias que existen en su estructura y la composición de la pared celular. La pared celular de las Gram positivas es más fuerte porque está constituida por una capa de peptidoglucano o mureina teniendo un grosor de 20 a 80 nm, en cambio las Gram negativas poseen una capa de peptidoglucano de 2-7 nm de grosor rodeada por una membrana externa, siendo más débil. 21-24



**Figura 5: Diferencia Estructural entre Bacterias Gram Positivas y Gram Negativas**

Fuente: Romero, 2007

### 3.2.5 *Escherichia coli*

#### 3.2.5.1 Taxonomía: Según Linneo <sup>23</sup>

Dominio: Bacteria

Filo: Proteo bacteria

Clase: Escotobacteria

Orden: Eubacteria

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Escherichia*

Especie: *E. coli*

#### 3.2.5.2 Generalidades:

Pertenece a los bacilos Gram negativos, no esporulante, producción de indol a partir de triptófano. Su cubierta consta de tres elementos: la membrana citoplasmática, la membrana externa y, entre ambas, un espacio periplásmico constituido por péptido-glucano. Otorgándole rigidez y forma a la bacteria<sup>25</sup>

Es una bacteria mesófila, su desarrollo óptimo se encuentra en el entorno de la temperatura corporal de los algunos animales (35-43 °C). Sin embargo, es sensible a temperaturas que son superiores a 70 °C, facilitando así la muerte de la bacteria.<sup>26</sup>

La actividad de agua, temperatura y el pH pueden influir en su crecimiento. A pH extremo (inferiores a 3,8, o superiores a 9,5) ocasiona que la bacteria pueda detener su crecimiento. Es por eso que el grado de acidez de los alimentos actúa como protección y seguridad. Estas bacterias son colonias

fermentadoras de glucosa, son planas con reflejo iridiscente.<sup>25,26</sup>

### 3.2.5.3 Patogenicidad

Podemos encontrar diferentes cepas de *Escherichia coli* en diversas patologías humana, son agentes responsables de ocasionar la gastroenteritis en niños, y se manifiesta en mayor porcentaje en países en vías de desarrollo, ocasionando la deshidratación y otras complicaciones como parte de esta patología estimándose así la muerte de cerca de un millón de niños cada año.

#### *E. coli enterotoxígena (ETEC)*

Es la que ocasiona la conocida “Diarrea del viajero”, la cual se presenta más en los lactantes que se encuentran en países en vías de desarrollo. Se estima que 2800 millones de infecciones por ETEC se presentan en los niños que son menores de los cuatro años, de los cuales entre 300.000 y 500.000 mueren y un porcentaje de 40 millones son asintomáticos, los síntomas que presentan pueden ser leves, algunas veces no se observa presencia de moco o sangre, en otros casos puede ser tan fuerte que ocasiona la deshidratación de las personas. Aquellas personas que habitan en lugares donde estos microorganismos son muy frecuentes pueden generar anticuerpos y ya no son propensas a generar otra vez esta diarreas cuando se expone a esta bacteria.<sup>27,26</sup>

#### *E. coli productora de toxina Shiga (STEC)*

Se le denomina de esta manera porque produce unas toxinas citotóxicas, la STEC se relaciona con la colitis hemorrágica la

cual está dada por la toxina Stx, con el pasar del tiempo puede ocasionar una colitis gangrenosa, en donde se puede observar perforación del intestino, peritonitis o sepsis y el síndrome hemolítico urémico que puede provocar insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia. En Latinoamérica, se observa más en el país de Argentina presentando unos 500 casos por año y una incidencia de 12 a 14 casos por cada 100.000 en niños menores de cinco años, presentándose el mayor número de casos de SHU en el mismo grupo etario, con una mortalidad entre 3 y 5%.<sup>27</sup>

#### *E. coli enteropatógena (EPEC)*

Mayormente se observa la EPEC en niños menores de dos años, los brotes se dan en aquellos lugares que son cerrados como los hospitales y las guarderías. La EPEC se adhiere a las células de las mucosas del intestino, provocando la pérdida de las microvellosidades dando la formación de pedestales de actina. La infección por EPEC puede ocasionar una diarrea líquida la cual se relaciona por los tipos de serotipos que tiene esta bacteria, el tiempo de incubación es de 3 a 24 hs la cual puede estar acompañada de vómitos y fiebre. Se han notificado un total 121.455 muertos por este año.<sup>26</sup>

#### *E. coli enteroinvasiva (EIEC)*

Es similar a shigelosis, los síntomas que presenta son diarreas acuosas, con sangre, moco y dolor abdominal, se puede transmitir de persona a persona, por ingerir alimentos contaminados, por el agua, presentándose así con frecuencia en niños sobre los seis meses de edad.<sup>2</sup>



### 3.2.6 *Staphylococcus aureus*

#### 3.2.6.1 Taxonomía

Dominio: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Staphylococcaceae

Género: *Staphylococcus*

Especie: *S. aureus*

#### 3.2.6.2 Generalidades

Son bacterias anaerobias facultativas, gram positivas, de 0,5 a 1,5  $\mu\text{m}$  de diámetro, las cuales se agrupan en forma de racimos, productoras de coagulasa, catalasa positiva y esta prueba permite diferenciarlos de *Streptococcus* y de algunos otros géneros de cocos Gram positivos, inmóvil y no esporulada. Son resistentes al calor y desecación adaptándose a crecer en medios con elevada salinidad (7,5% cloruro de sodio), debido a esta propiedad se puede explicar el aspecto epidemiológico de esta bacteria. Su pared celular está conformada por peptidoglucano y ácidos teicoicos. El primero proporciona forma y estabilidad al microorganismo, además presenta actividad de tipo endotoxina, interviniendo de forma importante en la patogenia de la infección.<sup>28</sup>

La cepas están recubiertas por proteína A, con la cual se identifica esta bacteria por medio de prueba de aglutinación con anticuerpos monoclonales, mientras que la coagulasa

ligada es capaz de convertir directamente el fibrinógeno en fibrina produciendo así la coagulación del plasma, por otro lado la coagulasa libre requiere unirse a la protrombina para poderse activar y catalizar la conversión del fibrinógeno en fibrina.<sup>29</sup>

La membrana citoplasmática está formada por un complejo de proteínas, lípidos e hidratos de carbono, cumpliendo la función de barrera osmótica para la célula.

Algunas cepas de los *Staphylococcus aureus* están recubiertas por una cápsula mucoide brindándole mayor capacidad de adherencia y aumento del efecto antifagocítico<sup>28,29</sup>

#### 3.2.6.3 Patogenicidad

Un aproximado del 20% de la población es portadora permanente del *Staphylococcus aureus* en las fosas nasales y un 30% de manera intermitente. Este patógeno puede estar presente en otras áreas como la piel y el tracto gastrointestinal, pueden alcanzar los tejidos más profundos produciendo patologías, mayormente se produce la infección por las mismas cepas que se encuentran en las fosas nasales. La colonización también permite la transmisión entre individuos tanto en el ambiente hospitalario como en la comunidad.<sup>29</sup>

Para una adecuada supervivencia e invasión del huésped, todo este sistema complejo de factores de virulencia tiene que estar coordinado por un sistema de comunicación célula – célula que se conoce con el nombre de Quórum Sensing (QS). El QS está mediado por pequeñas proteínas producidas por las bacterias

que se denominan auto inductores y que dependiendo de distintos factores ambientales, activan distintos números de genes incluyendo factores de virulencia. Este sistema se denomina regulador de genes accesorios o agr, el que cumple un papel importante en las fases de producción de infección y especialmente en la formación de biocapas.<sup>29-30</sup>

### 3.2.7 Determinación de la actividad antimicrobiana

En la actualidad se conocen muchos recursos vegetales con acción medicinal, pero para corroborar su efecto antimicrobiano existen diversos métodos como las siguientes:

#### 3.2.7.1 Determinación de la actividad antimicrobiana por el Método de difusión en agar en discos según Kirby Bauer

Para el tratamiento de una enfermedad infecciosa es importante conocer el agente causal de la enfermedad con el objetivo de realizar un control terapéutico específico para una determinada bacteria. Por estas razones los médicos deben tener un buen conocimiento de los aspectos clínicos, que conozcan los antimicrobianos, su farmacología y que ordenen el aislamiento del agente patógeno para que se realice un estudio en el que se obtiene su sensibilidad frente a dichos microbianos, de esta manera poder brindar un tratamiento seguro y evitar el uso indiscriminado de los antibióticos, evitando así muchas consecuencias negativas para nuestro organismo. El método de Kirby-Bauer es empleado con la finalidad de poder determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico o quimioterápico, es una prueba fácil de realizar, no es muy costosa, no requiere de

equipos especiales para la realización de esta prueba y los resultados obtenidos son muy fáciles para poderlos interpretar.<sup>31</sup>

#### 3.2.7.2 Técnica de Microdilución

Con esta técnica podemos determinar la CMI y CMB, para esta técnica se parte de una concentración madre la cual va a depender del tipo de antibiótico que vamos a utilizar para la realización de la prueba, a comparación de la prueba anterior esta requiere de mucho tiempo y trabajo para poder realizarla.<sup>31</sup>

#### 3.2.8 Los Extractos

Los extractos son preparaciones concentradas de origen vegetal que han sido obtenidos mediante la extracción, que implica la separación de los componentes activos de tejidos vegetales de componentes inactivos o inertes utilizando solventes selectivos. Los cuales pueden ser de consistencia líquidos, semisólidos o polvo relativamente impuros para uso oral o externo.<sup>32</sup>

Algunos métodos de extracción:

- La Maceración

Es la operación en la cual los componentes sólidos son colocados en un recipiente cerrado y se deja reposar como mínimo un período de tres días, agitando con frecuencia sin renovación del líquido extractor, posteriormente se filtra la mezcla y el residuo que se encuentra en el filtro es lavado con una determinada cantidad del solvente.<sup>33</sup>

- **Digestión**  
Se realiza todo el proceso de maceración, pero al momento de la extracción se calienta con suavidad.<sup>32,33</sup>
- **Infusión**  
Es una solución diluida de los componentes que son fácilmente solubles de las drogas crudas.<sup>32,33</sup>
- **Decocción**  
Este proceso se realiza hirviendo la droga cruda en agua durante 15 minutos para realizar la extracción de los componentes hidrosolubles y termoestables, luego se deja enfriar y se filtra pasando suficiente agua fría a través de la droga, y así completar el volumen que se requiere.<sup>34</sup>
- **Percolación**  
La droga triturada se mezcla con el solvente adecuado, se deja reposar por 15 minutos y luego la mezcla se transfiere a un percolador, en donde se transfiere una cantidad adecuada de solvente para saturar la droga. Se deja que la droga macere por 24 horas o según el tiempo especificado.<sup>32-34</sup>

Se reconoce tres formas de extractos: semi-líquidos o líquidos, sólidos y polvos secos; los extractos sólidos y los extractos secos, son intercambiables con fines medicinales, aunque cada uno posee sus propias ventajas farmacéuticas. Los extractos sólidos son adecuados para ser utilizados en pomadas y supositorios. Los extractos en polvo son utilizados en cápsulas, polvos o comprimidos. Los extractos semilíquidos, se utilizan para la elaboración de preparaciones farmacéuticas.<sup>33,34</sup>

### 3.2.9 Marcha Fitoquímica

Actualmente se utilizan cientos de recursos vegetales en la medicina, pero la ciencia moderna, por medio de diferentes estudios, quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, para conocer los principios activos presentes responsables de aliviar, cortar o curar distintas enfermedades.<sup>35</sup>

Se ha desarrollado una serie de métodos para la detección preliminar de los distintos constituyentes químicos presentes en los recursos vegetales, basados en la extracción de éstos con diferentes solventes y en la aplicación de pruebas de coloración. Uno de estos métodos es el tamizaje fitoquímico o screening fitoquímico, permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en un recurso vegetal y apartir de allí, orientar la extracción o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. Debe permitir una evaluación rápida, con reacciones sensibles y de bajo costo, los resultados obtenidos en un tamizaje fitoquímico nos sirven como orientación o nos proporciona datos preliminares sobre los fitoconstituyentes presentes en un recurso vegetal que junto con los resultados de un tamizaje farmacológico, nos puede orientar para poder continuar con los estudios.<sup>35,36</sup>

### 3.3 Definición de términos

- Fitofármacos:  
Es aquel medicamento que contiene uno o varios principios activos de un vegetal la cual puede ser utilizada para el tratamiento curativo de diversas enfermedades.

- **Cepas:**  
Sub grupo taxonómico de una especie. Cultivo puro formado de bacterias descendientes de un solo aislamiento.
- **Concentración mínima bactericida:**  
Es la mínima cantidad de antibiótico capaz de destruir el 99,9% de una muestra inoculada en condiciones estandarizadas.
- **Concentración mínima inhibitoria:**  
Es la medida de la sensibilidad de una bacteria a un antibiótico. Corresponde a la concentración más débil de un antibiótico capaz de inhibir el crecimiento visible de una cepa bacteriana al cabo de 18 – 24 horas de incubación.
- **Inóculo:**  
Alícuota de un cultivo bacteriano transferido a un medio de cultivo.
- **Medio de Cultivo:**  
Son una mezcla de nutrientes, que en concentraciones adecuadas y en condiciones físicas óptimas permiten el crecimiento de los microorganismos.
- **Extracto etanólico:**  
Sustancia obtenida por extracción de una parte de la materia prima, usando como solvente el etanol.

## CAPITULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

### 4.1 Tipo y nivel de investigación

#### 4.1.1 Tipo de Investigación:

Analítico: Porque trata de demostrar la relación que existe entre las variables.

Prospectivo: Porque se obtendrán datos luego de concluida toda la investigación.

Longitudinal: Porque las variables que es la concentración del extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss es medida en momentos diferentes.

#### 4.1.2 Nivel de Investigación :

Explicativo: Porque expresamos la acción antimicrobiana que realizara las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) sobre las cepas *Escherichia coli* ATCC 9739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538



## **4.2 Método y diseño de la investigación**

### 4.2.1 Método de la Investigación

Deductivo: Porque va de lo general a lo específico

### 4.2.2 Diseño de Investigación

Experimental: Porque se pueden manipular las variables y pueden ser controladas

## **4.3 Población y muestra de la investigación**

### 4.3.1 Población:

*Azadirachta indica* A. Juss (Neem) obtenida del distrito de Chulucanas, departamento de Piura.

### 4.3.2 Muestra

Extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem)

## **4.4 Técnicas e Instrumentos de recolección de datos**

### 4.4.1 Técnicas

- Maceración: Es la técnica utilizada para la obtención del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss que nos va a permitir la extracción de la mayor cantidad de principios activos.
- Método de difusión en agar en discos según Kirby Bauer: Se utilizó el método de difusión en disco en

agar para determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

- Perfil fitoquímico del extracto etanólico: Para la marcha fitoquímica se utilizó la técnica estandarizada que permitió determinar cualitativamente los metabolitos presentes en el extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem), mediante cambios de color o formación de precipitados.

#### 4.4.2 Instrumentos

Se utilizó una ficha para realizar la recolección de los datos obtenidos en este estudio (ver anexo n°2).

### 4.5 Procedimiento de Recolección de Datos

#### 4.5.1 Identificación taxonómica

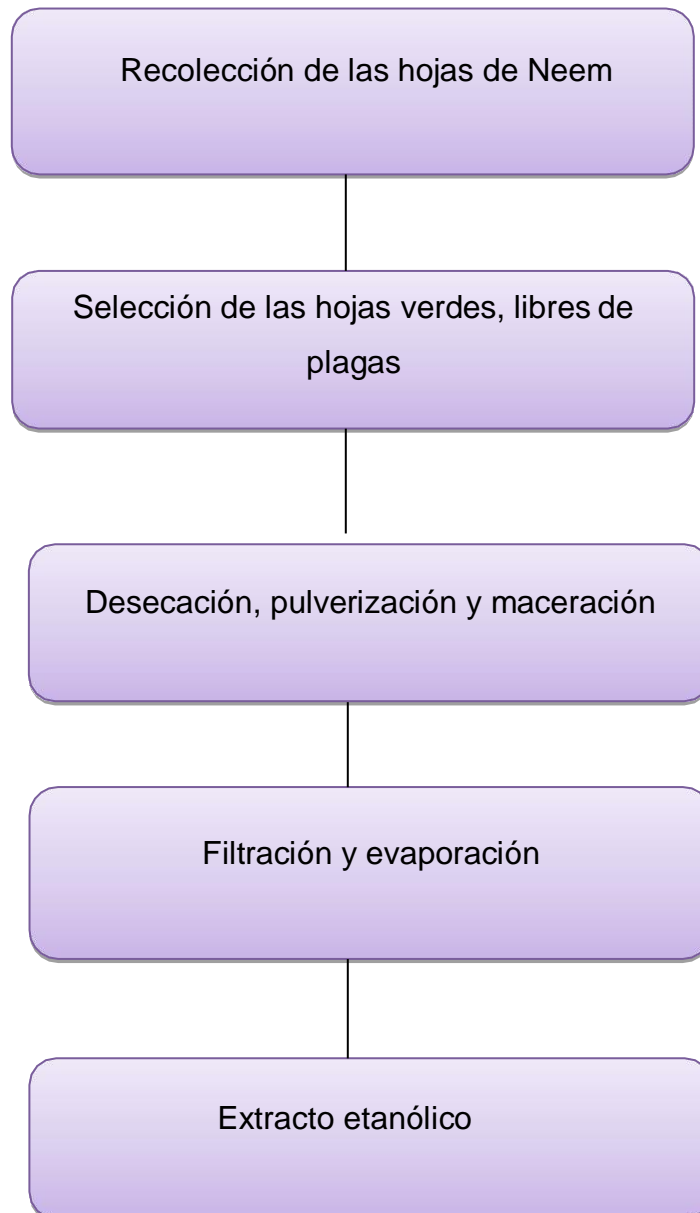
La constancia de identificación taxonómica del recurso vegetal fue dada por el herbario de San Marcos, del Museo de Historia Natural (ver anexo n°3)

#### 4.5.2 Método de preparación del extracto etanólico

Este proceso se realizó en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica CENPROFARMA Centro de Control Analítico.

- a) Recolección: Se recolectaron hojas del árbol de *Azadirachta indica* A. Juss en el distrito de Chulucanas, ciudad de Piura.
- b) Selección: Luego de recolectar las hojas se escogieron entre las más verdes y libres de plagas para el proceso de extracción, éstas fueron lavadas y se dejaron secar sobre papel kraft a temperatura ambiente.
- c) Desecación: El proceso de secado se realizó colocando las hojas sobre el papel karft, en estufa a temperatura de 50°C, verificándose hasta que estén completamente secas.
- d) Pulverizado: Se pulverizó hasta obtener una muestra completamente molida con un aspecto de polvo.
- e) Maceración: El pulverizado se colocó en un frasco ámbar con etanol al 96% y se colocó en la oscuridad por un periodo de dos semanas, agitándose mecánicamente cada 6 horas.
- f) Extracción: Después de dos semanas de maceración con etanol de 96% el producto fue filtrado a través de papel filtro Whatman.
- g) Evaporación: Después del filtrado se realizó la concentración del extracto, llevándolo a la estufa a temperatura de 40°C, para la vaporización de los compuestos volátiles y de ese modo obtener un extracto puro, cuya concentración fue de 1000mg/ml, considerado nuestro 100 %, a partir de la cual se prepararon las diferentes diluciones.

**DIAGRAMA DE FLUJO N°1**  
**PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA EL ESTUDIO**  
**MICROBIOLÓGICO**



Fuente: Elaboración propia

#### 4.5.3 Determinación de la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar en discos según Kirby-Bauer

Este proceso se realizó en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica CENPROFARMA Centro de Control Analítico, para lo cual se procedió:

a) Activación y preparación de las cepas Bacterianas:

En este estudio se utilizaron las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Para la activación de los microorganismos se aislaron las bacterias en agar nutritivo preparado según especificaciones de la casa matriz y esterilizados. El procedimiento se realizó por la técnica de agotamiento de la muestra por estría, en placas de Petri servidas con agar nutritivo e incubadas por un tiempo de 18-24 h. a 37°C. Después del tiempo de incubación, con ayuda de una asa estéril se tomaron 2 a 5 colonias morfológicamente similares y se suspendieron en solución salina NaCl al 0.9% hasta alcanzar la turbidez comparable con el patrón 0.5 de Mcfarland de manera cualitativa, la solución resultante tendrá una concentración de  $1 \times 10^8$  ufc/ml.

b) Preparación del Agar Mueller Hinton

Debe ser preparado con agua destilada de acuerdo a las instrucciones del fabricante, autoclavar el agar a 121°C Y 15Lb/pg<sup>2</sup> durante 15 minutos. Inmediatamente después de autoclavar dejar enfriar en Baño María a 45-50°C. Una vez temperado verter el preparado fresco y tibio a placas Petri de vidrio estériles, para dar un fondo aproximadamente de 4mm, esto significa de 25-30ml para placas Petri de 100mm de

diámetro. El agar debe enfriarse a temperatura ambiente. El pH de cada lote de agar Mueller Hinton debe ser entre 7,2-7,4.

c) Inoculación en las placas

Agregar 100ul del inóculo bacteriano preparado  $1 \times 10^6$  ufc/ml a cada una de las placas y con la ayuda de una espátula de Drigalsky, esparcir el inóculo por toda la placa para obtener un crecimiento homogéneo. Dejar secar de 3 a 5 minutos antes de colocar los discos.

d) Colocación de los discos a las placas inoculadas

Deben ser colocados con dispensador o pinza estéril. Luego de estar sobre el agar se debe presionar los discos levemente para que puedan quedar adheridos, deben estar distribuidos de tal manera que no haya superposición de los halos de inhibición.

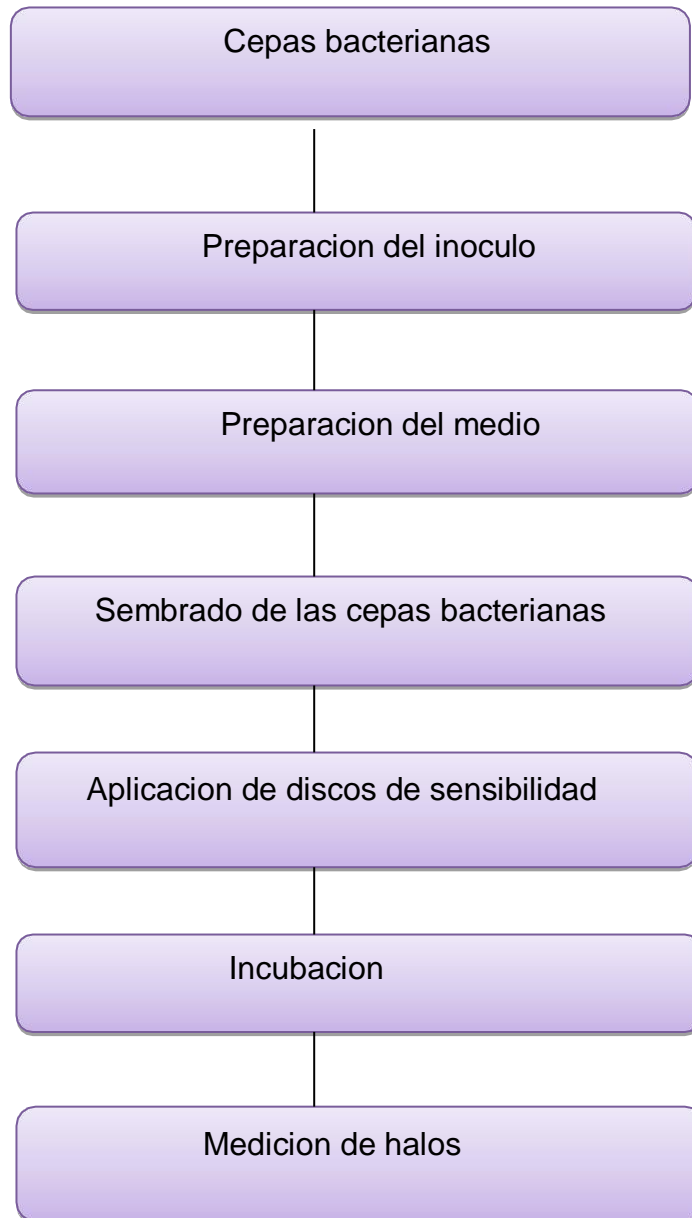
e) Incubar

Incubar las placas entre 35-37°C, durante 18-24 horas.

f) Medición de los halos:

Luego de 18 a 24 horas de incubación, las placas deben ser examinadas. Las zonas de inhibición resultante deben ser uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento bacteriano. Los diámetros de las zonas de inhibición completa son medidos en milímetros pasando por el centro del disco, la medición incluye la medida de los discos el cual es de 6mm. La medición se realizó con un vernier digital.

**DIAGRAMA DE FLUJO N° 2**  
**METODO DE DIFUSION EN AGAR EN DISCOS SEGÚN**  
**KIRBY-BAUER**



Fuente: Elaboración propia

#### 4.5.4 Perfil fitoquímico del extracto etanólico

Para la determinación de los metabolitos que se encuentran presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss se utilizó la técnica estandarizada en la cual se aplica distintos reactivos fundamentados en distintas reacciones de precipitación y coloración.

Se realizó ensayo al extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss para poder detectar Antocianinas, Alcaloides, Lactonas, Flavonoides, Esteroides, Saponinas, Taninos, Triterpenos, Azúcares reductores, Fenoles:

a) Determinación de Alcaloides:

Reacción de Dragendorff

En un tubo de ensayo se colocó 1 ml de muestra.

Se adicionó una gota del reactivo.

El cambio de color indicara que la reacción es positiva.

b) Determinación de Lactonas

Reacción de Bajlet

En un tubo de ensayo se colocó 1ml de muestra.

Se adicionó unas gotas del reactivo.

Es positiva si se observa una coloración anaranjada o roja oscura.

c) Determinación de Flavonoides:

Reacción de Shinoda

En un tubo de ensayo se colocó 1ml de muestra

Se adicionó 1 limadura de magnesio.

Luego se añadió 3 gotas de HCL concentrado.

La presencia de burbujas y el cambio de color indicara que la reacción es positiva.



- d) **Determinación de Esteroles:**  
Reacción de Liebermann-Burchard  
En un tubo de ensayo se colocó 1 ml de muestra.  
Se adicionó 3 gotas de anhídrido acético y dos gotas de ácido sulfúrico concentrado.  
Cambio de color indica que la reacción es positiva.
- e) **Determinación de Saponinas:**  
Reacción de espuma  
En un tubo de ensayo se colocó 1 ml de muestra.  
Se agita la muestra por 20 a 60 segundos  
La presencia de espuma indicara que la reacción es positiva.
- f) **Determinación de Taninos:**  
En un tubo de ensayo se colocó 1 ml de muestra.  
Se agregó unas gotas de cloruro férrico  
La reacción es positiva si da la formación de un precipitado.
- g) **Determinación de Triterpenos:**  
Reacción de Liebermann-Burchard  
En un tubo de ensayo se colocó 1 ml de muestra.  
Se adicionó 3 gotas de anhídrido acético y dos gotas de ácido sulfúrico concentrado.  
Cambio de color indica que la reacción es positiva.
- h) **Determinación de Azúcares Reductores**  
En un tubo de ensayo se colocó 1 ml de muestra.  
Se adicionó el reactivo de fehling  
Si se observa un cambio de color indica que la reacción es positiva.
- i) **Determinación de fenoles:**  
En un tubo de ensayo se colocó 1 ml de muestra.  
Se adicionó 3 gotas de cloruro de hierro al 5% en HCL 0.5N  
El cambio de color indicara una reacción positiva.

## CAPITULO V: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

### 5.1 Análisis de cuadros

La actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss se realizó por el método de difusión en agar para lo cual se utilizó discos impregnados con el extracto etanólico, se realizó la lectura a las 24 horas reportando los tamaños de los halos de inhibición correspondientes. La medida de cada disco fue de 6mm por lo tanto las muestras que tienen esta medición no evidencian efecto antimicrobiano.

**Cuadro 1:** ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) A LA CONCENTRACIÓN DE 100% FRENTE A CEPAS ATCC

Microorganismo patógenos	Diámetro del halo promedio (mm)	Resultado
<i>Staphylococcus aureus</i>	12 mm	Positivo
<i>Escherichia coli</i>	6 mm	Negativo

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro n°1 se observa que el extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) a la concentración de 100% presentó actividad antimicrobiana frente a la bacteria de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 con un promedio de 12mm de halo de inhibición; frente a la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 no mostro halo de inhibición

**Cuadro 2:** ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) A LA CONCENTRACIÓN DE 60% FRENTE A CEPAS ATCC

Microorganismo patógenos	Diámetro del halo promedio (mm)	Resultado
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 mm	Positivo
<i>Escherichia coli</i>	6 mm	Negativo

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro n°2 se observa que el extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) a la concentración de 60% presentó actividad antimicrobiana frente a la bacteria de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 con un promedio de 10mm de halo de inhibición; frente a la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 no mostro halo de inhibición.

**Cuadro 3:** ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) A LA CONCENTRACIÓN DE 30% FRENTE A CEPAS ATCC

Microorganismo patógenos	Diámetro del halo promedio (mm)	Resultado
<i>Staphylococcus aureus</i>	8 mm	Positivo
<i>Escherichia coli</i>	6 mm	Negativo

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro n°3 se observa que el extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) a la concentración de 30% presentó actividad antimicrobiana frente a la bacteria de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 con un promedio de 8mm de halo de inhibición; frente a la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 no mostro halo de inhibición.

**Cuadro 4:** ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) A LA CONCENTRACION DE 15% FRENTE A CEPAS ATCC

Microorganismo patógenos	Diámetro del halo promedio (mm)	Resultado
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 mm	Negativo
<i>Escherichia coli</i>	6 mm	Negativo

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro n°4 se observa que el extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) a la concentración de 15% frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 no presento actividad antimicrobiana.

**Cuadro 5:** MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Azadirachta indica* A. Juss (neem)

Metabolitos Secundarios	Reactivos	Presencia
Alcaloides	Dragendorff	+
Esteroides	Reacción de Liebermann	+
Saponinas	Reacción de Espuma	+
Taninos	Reacción de Cloruro Férrico	+
Triterpenos	Reacción de Liebermann	+
Azúcares reductores	Reacción de Fehling	+
Fenoles	Reacción de Cloruro Férrico	+

En el cuadro nº5 se observa los fitoconstituyentes que se encuentran presentes en el extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss

## 5.2 Discusión de los resultados

En el presente trabajo de investigación se utilizó el método de difusión en agar en discos de Kirby Bauer para evaluar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Escherichia coli* ATCC 8739.

A pesar de los estudios realizados sobre las propiedades medicinales de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) en algunos lugares del mundo, cabe resaltar que en nuestro país no se encontró ningún trabajo de investigación sobre este recurso vegetal, motivo por el cual es de gran importancia profundizar su estudio y de esta manera conocer los grandes beneficios que nos puede brindar este recurso vegetal.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación indica que a concentraciones iguales o mayores al 30% del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) presento actividad antimicrobiana para la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; sin embargo para la cepa *Escherichia coli* ATCC 8739 no se observó halo de inhibición en ninguna concentración. Datos que son respaldados por: **Uwimbabazi Francine, Uwimana Jeannette, Rutanga Jean Pierre**, EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE *Azadirachta indica* (Neem) SOBRE *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, donde refiere que el extracto etanólico de *Azadirachta indica* mostro actividad antibacteriana únicamente para la cepa de *Staphylococcus aureus* en todas las concentraciones estudiadas por el método de Kirby y Bauer. **Reyes de Fuentes D, Fernández da Silva R** EFECTO BIOCIDA IN VITRO DEL EXTRACTO FOLIAR DE *Azadirachta indica* (Neem) en

*Staphylococcus sp* y *Pseudomonas sp*, señala que a las 24 horas el extracto etanólico al 30% fue la menor concentración que mostró inhibición del crecimiento bacteriano para la cepa de *Staphylococcus aureus*. **Maragathavalli S, Brindha S, kaviyarasi N.S, B. Annadurai B, Gangwar S.K.** ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN EXTRACTO DE LAS HOJAS DE NEEM (*Azadirachta indica*) trabajo con diferentes cepas bacterianas entre ellas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, reportando que el extracto etanólico de *Azadirachta indica* mostro únicamente actividad antimicrobiana frente a la cepa de *S. aureus*, asimismo atribuyo sus resultados a la presencia de fitoconstituyentes como flavonoides, alcaloides y saponinas , los cuales se encuentran presentes en nuestro recurso vegetal; resultado que es respaldado por otras investigaciones como la de **Prashanth G.K, G.M. Krishnaiah** COMPOSICION QUIMICA DE LAS HOJAS DE *Azadirachta indica* (Neem) quien realizo una marcha fitoquímica al extracto etanólico de *Azadirachta indica*, identificando igualmente la presencia de alcaloides, carbohidratos, flavonoides, compuestos fenólicos, saponinas y taninos.

Esta investigación aporta nueva información que puede ser tomada como base para investigaciones futuras, hay que considerar que los resultados obtenidos pueden variar, de acuerdo al origen, al lugar donde fue realizada la recolección, las condiciones climáticas, el suelo, la época del año en que se realiza la recolección, las diferentes técnicas de cultivo; así como los períodos de sequía y de lluvia que también pueden influir en el contenido de los fitoconstituyentes.



## CONCLUSIONES

En el presente estudio sobre el efecto de la concentración del extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem), los resultados mostraron que tiene actividad antimicrobiana únicamente frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 en concentraciones mayores al 30%.

El extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) al 100%, presentó una zona promedio de inhibición de 12mm frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y para la cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739 no mostro halo de inhibición.

El extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) al 60%, presentó una zona promedio de inhibición de 10mm frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y para la cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739 no mostro halo de inhibición.

El extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) al 30%, presentó una zona promedio de inhibición de 8mm frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y para la cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739 no mostro halo de inhibición.

El extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) al 15%, no presentó actividad antimicrobiana frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Escherichia coli* ATCC 8739

## RECOMENDACIONES

Evaluar otros métodos de extracción para obtener mayor cantidad de fitoconstituyentes y de esta manera, lograr una mejor actividad antimicrobiana.

Realizar estudios con otras partes *Azadirachta indica* A. Juss para evaluar y comparar la actividad antimicrobiana

Realizar investigaciones adicionales con *Azadirachta indica* A. Juss, para conocer si presenta actividad antimicrobiana frente a otros tipos de bacterias, hongos y levaduras.

Realizar estudios toxicológicos que validen el uso de *Azadirachta indica* A. Juss en base a su inocuidad y su actividad farmacológica en el tratamiento de diferentes enfermedades.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Uwimbabazi F, Uwimana J, Rutanga JP. Assessment of antibacterial activity of neem plant (*Azadirachta indica*) on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. [Publicacion periodica en linea] 2015 junio [Citada:2017 julio02];3(4): [aproximadamente 7pp].  
[http://www.plantsjournal.com/vol3Issue4/Issue\\_july\\_2015/1-5-17.1.pdf](http://www.plantsjournal.com/vol3Issue4/Issue_july_2015/1-5-17.1.pdf)
2. Prashanth G.K, G.M. Krishnaiah. Chemical composition of the leaves of *Azadirachta indica linn* (neem). [Publicación periodica en linea] 2014 octubre[Citada:2017 octubre 13];1[aproximadamente 9 pp].  
<http://www.ijaetmas.com/wp-content/uploads/2014/11/IJXCO10051.pdf>
3. Reyes de FD, Fernández Da SR. Efecto biocida in vitro del extracto foliar de *Azadirachta indica* en *Staphylococcus sp* y *Pseudomonas sp*. Scielo, 2013; 17(3): 1-6.\_  
[www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316).
4. Maragathavalli S, Brindha S, Kaviyarasi N.S, B. Annadurai B, Gangwar S.K. Antimicrobial activity in leaf extract of neem. [Publicación periodica en línea] 2012 marzo[Citada:2017 octubre 13];3(1): [aproximadamente 10 pp].  
[http://www.scienceandnature.org/IJSN\\_Vol3\(1\)M2012/IJSN-VOL3\(1\)-19.pdf](http://www.scienceandnature.org/IJSN_Vol3(1)M2012/IJSN-VOL3(1)-19.pdf)

5. Salaverry O, Cabrera J. Florística de algunas plantas medicinales [Publicación periódica en línea]2014 diciembre [Citada: 2017 octubre 26]; 31(1): [aproximadamente 3 pp.]
6. Cruz SJ. Más de 100 plantas medicinales [libro electrónico]. 1ª ed. Gran Canaria: la obra social de la caja de Canarias; 2007[Citada:2017 octubre 20]. Disponible en: <http://www.lacasadelvolcan.es/DOCUMENTOS/100PM.pdf>
7. Castillo GE, Martínez SI. Manual de fitoterapia [libro electrónico]. 2ª ed. España: El servier; 2006[Citado:2017 octubre 25]. Disponible en: [https://www.amazon.es/gp/product/8490227470/ref=as\\_li\\_tf\\_tl?ie=UTF8&camp=3626&creative=24790&creativeASIN=8490227470&linkCode=as2&tag=notasnatur-21](https://www.amazon.es/gp/product/8490227470/ref=as_li_tf_tl?ie=UTF8&camp=3626&creative=24790&creativeASIN=8490227470&linkCode=as2&tag=notasnatur-21)
8. German RM. Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán. [Publicación periódica en línea] 1ª ed. 2005 mayo [Citada:2017 setiembre10];42[aproximado 15pp]. [http://www.ibiologia.unam.mx/BIBLIO68/fulltext/fasculosfloras/f42\\_meli.pdf](http://www.ibiologia.unam.mx/BIBLIO68/fulltext/fasculosfloras/f42_meli.pdf)
9. León B. Meliaceae endémicas del Perú.[Publicación periódica en línea] 2006 diciembre [Citada:2017 setiembre 13];13 (2): [aproximadamente 2pp.]\* <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/1880/1649>

10. Quezada BJ, Garmendia ZM, Khiem MA. Especies arbóreas del arboretum Alain Meyrat.[Publicación periódica en línea] 1ª ed. 2010 junio [Citada:2017 setiembre 13];1 [aproximado 141pp.]\* <http://repositorio.una.edu.ni/2462/1/nf70q5v1.pdf>
11. Fernández CM, Del Angel SR, El árbol del Nim establecimiento y aprovechamiento en la huasteca potosina. [Publicación periódica en línea] 1ªed.2004 octubre [Citada: 2017 junio15];3[aproximadamente 23 pg]. Disponible en <http://www.campopotosino.gob.mx/modulos/Docs-descargar/FOLL.%20TEC.%20003.pdf>
12. Neem [Publicación periódica en línea] Centerchem2012 [Citada:2017 julio02];03(11): [aproximadamente8pg.] <http://www.centerchem.com/products/Downloadfile.aspx?FileID=6782>
13. Escamillo PB, Moreno CP. Plantas medicinales [Publicacion periódica en línea] 1ra ed. 2015 [Citada: 2017 junio 30]; 2: [aproximadamente 10pp]. [http://www.itto.int/files/itto\\_project\\_db\\_input/3000/Technical/Manual%20plantas%20medicinales.pdf](http://www.itto.int/files/itto_project_db_input/3000/Technical/Manual%20plantas%20medicinales.pdf)
14. Lopez C N, Miguel M, Aleixandre. Nutrición clínica y dietética hospitalaria [publicación periódica en línea] 2012 [Citada: 2017 junio21]; 32(3): [aproximadamente 10pp]. <http://revista.nutricion.org/PDF/PROPIEADADES.pdf>

15. Avalos GA, Perez Urria CE, Reduca biología [publicación periódica en línea] Noviembre 2009 [Citado: 2017 junio 20]; 2(3) [aproximadamente 26pp].  
[http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo\\_secundario\\_de\\_plantas.pdf](http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf)
16. Lock de UA. Terpenoides y esteroides. *En*: Lock de UA. Investigación Fitoquímica. 2ª ed. Perú; 1994. P.23-100.
17. Marcano D, Hasegawa M. Fitoquímica Orgánica [libro electrónico]. 2ª ed. Caracas: Torino; 2002 [Citado:2017 octubre 5]. Disponible en: \*  
[https://books.google.com.pe/books?id=hPkjgPwXD-QC&printsec=frontcover&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=hPkjgPwXD-QC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
18. Taiz L, Zeiger E. Fisiología vegetal [libro electrónico] 3ª ed, 2006 [Citado: 2017 octubre 06]. Disponible en \*  
[https://books.google.com.pe/books?id=7QlbYg-OC5AC&pg=PA558&lpg=PA558&dq=los+alcaloides&source=bl&ots=njmS3T0zCi&sig=dUuEUvXZfkEAizYGtPQaSPCs3fo&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiLh4rZ9afXAhVBEZAKHV1kD\\_o4ChDoAQhKMAk#v=onepage&q=los%20alcaloides&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=7QlbYg-OC5AC&pg=PA558&lpg=PA558&dq=los+alcaloides&source=bl&ots=njmS3T0zCi&sig=dUuEUvXZfkEAizYGtPQaSPCs3fo&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiLh4rZ9afXAhVBEZAKHV1kD_o4ChDoAQhKMAk#v=onepage&q=los%20alcaloides&f=false)
19. Pijoan M. El Neem la farmacia de la aldea. [Publicación periódica en línea] 2004 mayo [Citada:2017 junio 11];23(5):[aproximadamente 6pg]  
Disponible  
[http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet? f=10&pident\\_articulo=13061804&pident\\_usuario=0&pident\\_revista=4&fichero=4v23n0](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet? f=10&pident_articulo=13061804&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v23n0)

[5a13061804pdf001.pdf&ty=140&accion=L&origen=doymafarma&w=www.doymafarma.com&lan=es](https://www.doymafarma.com/5a13061804pdf001.pdf&ty=140&accion=L&origen=doymafarma&w=www.doymafarma.com&lan=es)

20. Angulo RA, Galindo UA, Avendaño PR, Perez AC. Introducción a la biología celular. *En*: Angulo RA, Galindo UA, Avendaño PR, Perez AC. Biología celular. 1ª ed. Mexico; 2012. P. 15-32. \*
21. Vera G. Introducción a la microbiología [libro electrónico] Euned [Citado:2017 octubre 12] Disponible en [https://books.google.com.pe/books?id=K\\_ETVnqnMZIC&pg=PA47&lpg=PA47&dq=libros+sobre+la+pared+bacteriana&source=bl&ots=ZhqqvljJYm&sig=DsrI6VBG-uEsngsN-FjVVEiUu4Y&hl=es-#v=onepage&q=libros%20sobre%20la%20pared%20bacteriana&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=K_ETVnqnMZIC&pg=PA47&lpg=PA47&dq=libros+sobre+la+pared+bacteriana&source=bl&ots=ZhqqvljJYm&sig=DsrI6VBG-uEsngsN-FjVVEiUu4Y&hl=es-#v=onepage&q=libros%20sobre%20la%20pared%20bacteriana&f=false)
22. Romero CR. Microbiología y parasitología humana [libro electrónico] 3ª ed. Mexico: Médica Panamericana; 2007 [Citado:2017 octubre 30] Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=Wv026CUhR6YC&pg=PA635&lpg=PA635&dq=espirilos+taxonomia&source=bl&ots=n6oppExKEg&sig=pmj4vUoAZAM63F5luLnOOJSJq5s&hl=es&sa=X&ved=0I3r7XAhWE6yYKHZR0DIYQ6AEIVTAL#v=onepage&q=espirilos%20taxonomia&f=false>
23. Jawetz, Melnick, Adelberg. Microbiología médica [libro electrónico] 25ª ed. Mexico: Mexicana 2010 [Citado: 2017 octubre 30] disponible en

[http://redlagrey.com/files/Microbiologia\\_Medica\\_Jawetz\\_25\\_www.rinconmedico.smffy.com.pdf](http://redlagrey.com/files/Microbiologia_Medica_Jawetz_25_www.rinconmedico.smffy.com.pdf)

24. Prescott LO, Harley J, Klein D. Estructura y función de la célula procariota. *En* Prescott LO, Harley J, Klein. Microbiología. 5ª ed. Madrid. P. 44-75.
25. Garcia MP, Fernández BM, Paredes SF, Microbiología práctica clínica [libro electrónico] 2da ed. Cádiz;1944 [Citado:2017 junio 15]. <https://books.google.com.pe/books?id=4N8qVKckrUUC&pg=PA118&lpg=PA118&dq=libros+sobre+la+taxonomia+de+escherichia+coli&source=bl&ots=MBgNOrMrfl&sig=P73DzDZVYkfwVJLpE0RtpaI4FE&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjwh6S8nZjVAhWK6iYKHRAqDzQ4ChDoAQg8MAg#v=onepage&q=libros%20sobre%20la%20taxonomia%20de%20escherichia%20coli&f=false>
26. Juan José Canet. *Escherichia coli*: Características, Patogenicidad y prevención. [Publicación periódica en línea]Betelgeux 2016 enero[citado: 2017 junio 29][aproximadamente 4 pg]. Disponible en <http://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>
27. Farfán GA, Ariza RS, Vargas CF, Vargas RL, Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógenas, Rev. Chilena infectol, 2016; 33(4): 438-450. [www.scielo.cl/pdf/rci/v33n4/art09.pdf](http://www.scielo.cl/pdf/rci/v33n4/art09.pdf)
28. López CJ. Evaluación de riesgos de Staphylococcus aureus enterotoxigénicas en alimentos preparados no industriales en



Colombia [Publicación periódica en línea] 2011 agosto [Citada: 2017 junio 16]; 12(2): [aproximadamente 60 pp.]

<http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/investigacion/ueria/Publicaciones/ER%20STAPHYLOCOCCUS.pdf>

29. Ala Aldeen D, Hiramatsu K. *Staphylococcus aureus* molecular and clinical Aspects [libro electrónico]. England: Horwood Publishing; 2004 [Citado: 2017 junio 20].

<https://books.google.com.pe/books?id=UJijAgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=staphylococcus+aureus&hl=es-419&sa=X&sqi=2&pj=1&ved=0ahUKEwj46-K3mqLVAhVI5iYKHYG6BXYQ6AEISTAG#v=onepage&q=staphylococcus%20aureus&f=false>

30. Pahissa A. Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* [libro electrónico] 1<sup>ra</sup> ed. España: Novoprint; 2009 [citado: 3 julio 2017] Disponible

en: <https://books.google.com.pe/books?id=qFRukXHQX6QC&printsec=frontcover&dq=staphylococcus+aureus&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjJuLqqwPbUAhXEOj4KHWKYBIQQ6AEIJTAA#v=onepage&q=staphylococcus%20aureus&f=false>

31. Dr. Marco Luis Herrera. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana Metodología de laboratorio. Scielo, 1999; 34(1)

[www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1017-85461999000100010](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010)

32. Gennaro A. Remington Farmacia [libro electrónico] 2<sup>da</sup> ed. Buenos Aires : Médica Panamericana S.A; 2003 [ citado: 25 abril del 2018] Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=Av4IlsyH-qcC&pg=PA872&lpg=PA872&dq=extractos+metodos+de+extraccion+de+principios+activos&source=bl&ots=Vp5zU2Lnid&sig=F3cwtQJpbbEXjhaSWc1ddbTuG\\_s&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwjl\\_uzysKfbAhUQk1kKHRXPBUw4HhDoAQgrMAE#v=onepage&q=extractos%20metodos%20de%20extraccion%20de%20principios%20activos&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=Av4IlsyH-qcC&pg=PA872&lpg=PA872&dq=extractos+metodos+de+extraccion+de+principios+activos&source=bl&ots=Vp5zU2Lnid&sig=F3cwtQJpbbEXjhaSWc1ddbTuG_s&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwjl_uzysKfbAhUQk1kKHRXPBUw4HhDoAQgrMAE#v=onepage&q=extractos%20metodos%20de%20extraccion%20de%20principios%20activos&f=false)
33. Carrión AJ, García GC, “Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de metódica” [Tesis para optar el título de Bioquímica y Farmacéutica]. Ecuador: Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Química; 2010.
34. Álvarez C N, Bagué S A, Tecnología Farmacéutica [libro electrónico] 1<sup>ra</sup> ed. San Vicente: Club Universitario; 2005 [citado: 15 abril del 2018]\_ [https://books.google.com.pe/books?id=yiYQDgAAQBAJ&pg=PA145&lpg=PA145&dq=concepto+de+extractos+a+nivel+farmaceutico&source=bl&ots=kL9jim334&sig=yLkNH4WHmrtPXNzjG\\_u4Xdpg79k&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwiU\\_piLuafbAhUkzlkKHYQfAN\\_YQ6AEIdDAH#v=onepage&q=concepto%20de%20extractos%20a%20nivel%20farmaceutico&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=yiYQDgAAQBAJ&pg=PA145&lpg=PA145&dq=concepto+de+extractos+a+nivel+farmaceutico&source=bl&ots=kL9jim334&sig=yLkNH4WHmrtPXNzjG_u4Xdpg79k&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwiU_piLuafbAhUkzlkKHYQfAN_YQ6AEIdDAH#v=onepage&q=concepto%20de%20extractos%20a%20nivel%20farmaceutico&f=false)
35. Lock de UA. Generalidades sobre el análisis fitoquímico. *En*: Lock de UA. Investigación Fitoquímica. 2<sup>a</sup> ed. Perú; 1994. P.1-20.

36. Marcano D, Hasegawa M, Fitoquímica Orgánica [libro electrónico] 1<sup>ra</sup> ed. Caracas: Colección estudios; 2002 [citado: 01 abril del 2018].

<https://books.google.com.pe/books?id=hPkjgPwXDQC&pg=PA594&lpg=PA594&dq=informacion+sobre+analisis+fitoquimico+en+libros&source=bl&ots=N9M8n7XmpD&sig=Sy2QyphEMBGjXWCcctL88u3nM&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi5v4SQ37PaAhURwlkKHUAVDGg4ChDoAQg6MAQ#v=onepage&q=informacion%20sobre%20analisis%20fitoquimico%20en%20libros&f=false>

## ANEXO

### ANEXO N°1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

#### EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Azadirachta indica* A. Juss (neem) SOBRE SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	
<p>¿Cuál es el efecto de la concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana?</p> <p><b>Problema Específico</b>  <b>P.E.1:</b> ¿Cuál es el efecto de la concentración al 100% del extracto etanólico de las Hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538?</p> <p><b>P.E.2:</b> ¿Cuál es el efecto de la concentración al 60% del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538?</p> <p><b>P.E.3:</b> ¿Cuál es el efecto de la concentración al 30% del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538?</p> <p><b>P.E.3:</b> ¿Cuál es el efecto de la concentración al 15% del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538?</p>	<p>Determinar el efecto de la concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) sobre la actividad antimicrobiana.</p> <p><b>Objetivo Específicos</b>  <b>O.E.1:</b> Evaluar el efecto de la concentración al 100% del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.</p> <p><b>O.E.2:</b> Evaluar el efecto de la concentración al 60% del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.</p> <p><b>O.E.3:</b> Evaluar el efecto de la concentración al 30% del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.</p> <p><b>O.E.3:</b> Evaluar el efecto de la concentración al 15% del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.</p>	<p>La concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) modifica su actividad antimicrobiana.</p> <p><b>Hipótesis Específicas</b>  <b>H.E.1:</b> La concentración al 100% del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) modifica su actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.</p> <p><b>H.E.2:</b> La concentración al 60% del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) modifica su actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.</p> <p><b>H.E.3:</b> La concentración al 30% del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) modifica su actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.</p> <p><b>H.E.3:</b> La concentración al 15% del extracto etanólico de las hojas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (neem) modifica su actividad antimicrobiana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.</p>	<p><b>Tipo de Investigación:</b>  <b>Analítico:</b> Porque trata de demostrar la relación que existe entre las variables  <b>Prospectivo:</b> Porque se obtendrán datos luego de concluida toda la investigación.  <b>Longitudinal:</b> Porque las variables que es la concentración del extracto etanólico de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss es medida en momentos diferentes.</p> <p><b>Nivel de Investigación:</b>  <b>Explicativo:</b> Porque expresamos la acción antimicrobiana que realizara las diferentes concentraciones del extracto etanólico de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem) sobre las cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 9739 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.</p>	<p><b>Método de Investigación:</b>  <b>Deductivo</b>  Porque va de lo general a lo específico.  <b>Diseño de investigación:</b>  <b>Experimental:</b>  Porque se pueden manipular las variables y pueden ser controladas.</p>	<p><b>Variable Independiente (X)</b>  Concentración del extracto etanólico de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss  <b>Indicadores:</b>  - Concentración del extracto etanólico de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss al 100%  - Concentración del extracto etanólico de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss al 60%  - Concentración del extracto etanólico de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss al 30%  - Concentración del extracto etanólico de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss al 15%</p> <p><b>Variable Dependiente (Y)</b>  Actividad antimicrobiana  <b>Indicadores:</b>  Tamaño del halo de inhibición</p>	<p><b>Población :</b>  <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem) obtenida del distrito de Chulucanas, departamento de Piura</p> <p><b>Muestra:</b>  Extracto etanólico de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Neem).</p>

## ANEXO N°2

### Ficha de recolección de datos

#### EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Azadirachta Indica* A. Juss (neem) SOBRE SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

CEPAS	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538				<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739			
	Halos de inhibición (mm)				Halos de inhibición (mm)			
Concentración del extracto etanólico (%)	n			X	n			X
	1	2	3		1	2	3	
	100							
60								
30								
15								

**N:** número de ensayos microbiológicos

**X:** Promedio

## ANEXO N°3

### Constancia de Clasificación Taxonómica de *Azadirachta indica* A. Juss



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

#### CONSTANCIA N° 134-USM-2017

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

La muestra vegetal (planta completa), recibida de la **Srta. Araceli ALCANTARA OSORES**, estudiante de la Universidad ALAS PERUANAS; ha sido estudiada y clasificada como: ***Azadirachta indica*** A.Juss. tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUB CLASE: ROSIDAE**

**ORDEN: SAPINDALES**

**FAMILIA: MELIACEAE**

**GENERO: *Azadirachta***

**ESPECIE: *Azadirachta indica* A.Juss.**

Nombre vulgar: "Neem".

Determinado por: Mg. María I. La Torre

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

Lima, 11 de julio de 2017



**Mag. ASUNCIÓN CANO ECHEVARRÍA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

## ANEXO N° 4

### Constancia de participación en el proceso de análisis microbiológico



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



**LA DIRECTORA DEL CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA:**

### CONSTANCIA DE PARTICIPACIÓN EN PROCESO DE ANÁLISIS

*A la Srta. ARACELI ALCANTARA OSORES, quien fue partícipe de la realización de los análisis Microbiológico de su muestra "AZADIRASHTA INDIRA", para la implementación de su Tesis "EL EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE AZADIRACHTA INDCA", en nuestro Laboratorio del Centro de Control Analítico – CENPROFARMA*

*Se expide el presente documento a solicitud de la interesada, para los fines que estimen por conveniente.*

Lima, 06 de Noviembre del 2017.

Dra. María Elena Salazar Salazar  
Directora (e) del Centro de Control Analítico



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

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

ISO 9001

BUREAU VERITAS  
Certification

N° BR232265



## ANEXO N° 5



**Hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem)**

Fuente: Elaboración propia



**Hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) en estufa**

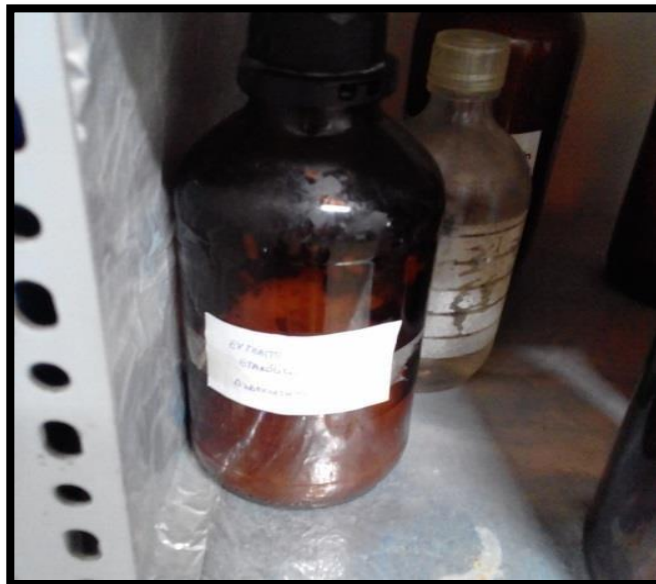
Fuente: Elaboración propia





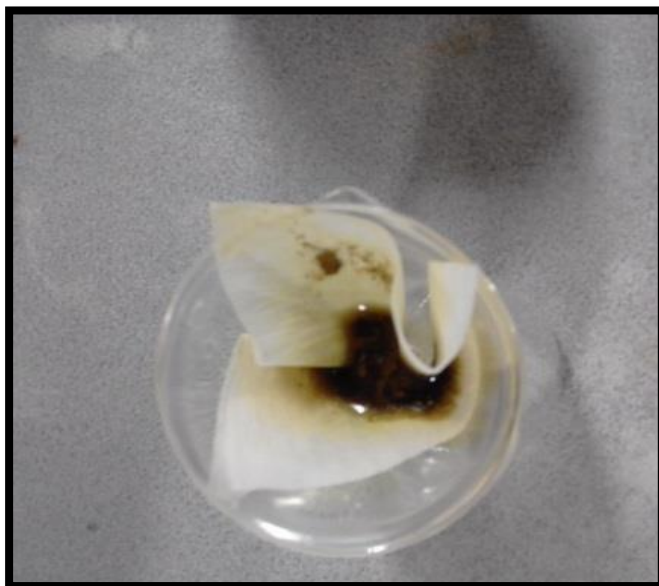
**Triturado de hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) en mortero**

Fuente: Elaboración propia



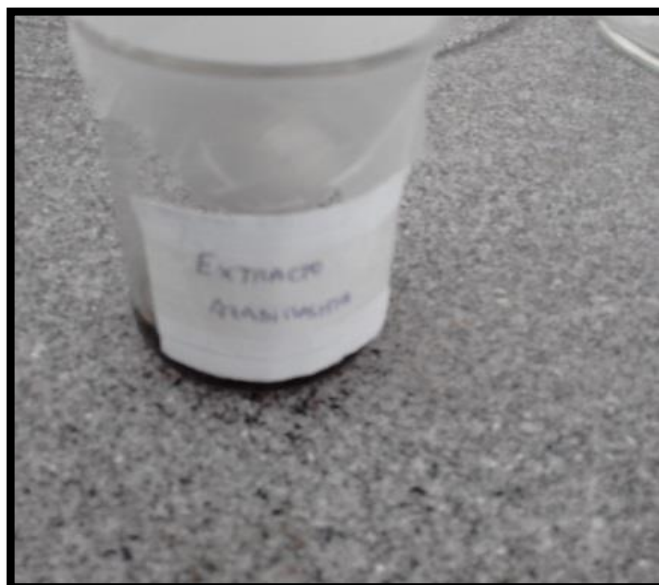
**Maceración de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) con alcohol al 96%**

Fuente: Elaboración propia



### **Filtrado del extracto**

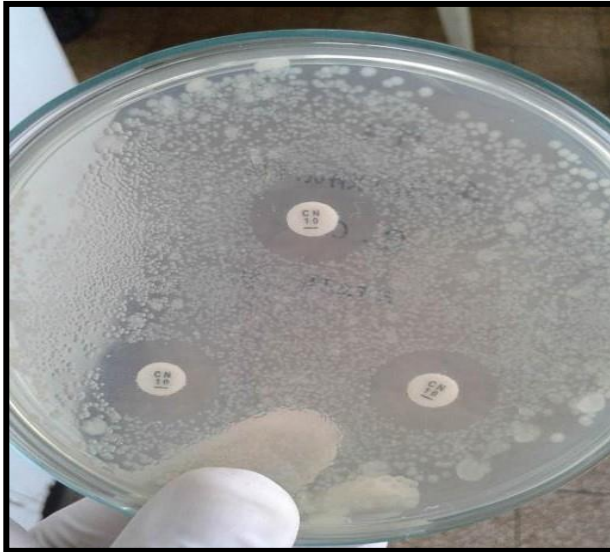
Fuente: Elaboración propia



### **Extracto obtenido**

Fuente: Elaboración propia

## ANEXO N°6



**Actividad antimicrobiana de gentamicina frente a *E.coli* ATCC 8739**

Fuente: Elaboración propia



**Actividad antimicrobiana de extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) al 15% frente a *E.coli* ATCC 8739**

Fuente: Elaboración propia



**Actividad antimicrobiana de extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) al 30% frente a *E.coli* ATCC 8739**

Fuente: Elaboración propia



**Actividad antimicrobiana de extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) al 60% frente a *E.coli* ATCC 8739**

Fuente: Elaboración propia



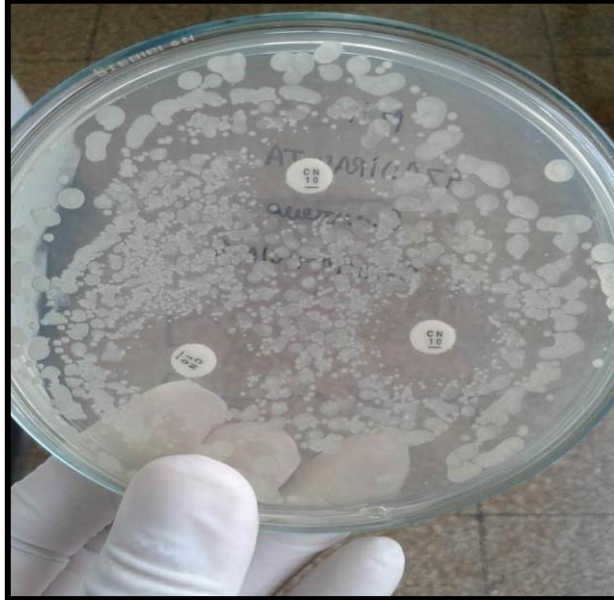
**Actividad antimicrobiana de extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) al 100% frente a *E.coli* ATCC 8739**

Fuente: Elaboración propia



**Actividad antimicrobiana del etanol frente a *S.aureus*  
ATCC 6538**

Fuente: Elaboración propia



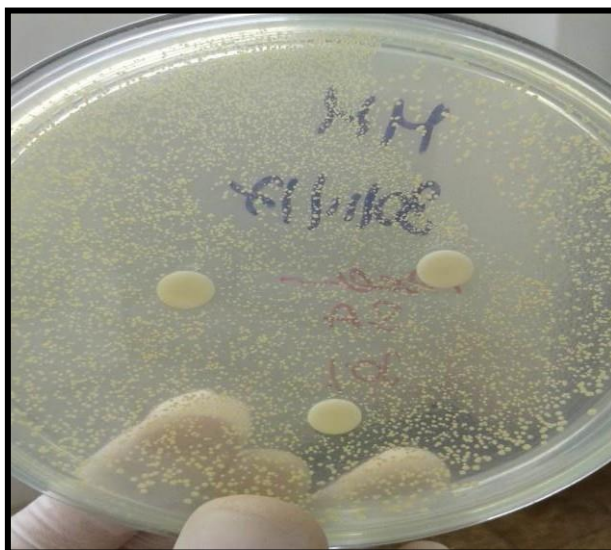
**Actividad antimicrobiana de gentamicina frente a *S.aureus* ATCC 6538**

Fuente: Elaboración propia



**Actividad antimicrobiana de extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) al 15% frente a *S.aureus* ATCC 6538**

Fuente: Elaboración propia



**Actividad antimicrobiana de extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) al 30% frente a *S.aureus* ATCC 6538**

Fuente: Elaboración propia



**Actividad antimicrobiana de extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) al 60% frente a *S.aureus* ATCC 6538**

Fuente: Elaboración propia



**Actividad antimicrobiana de extracto etanólico de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) al 100% frente a *S.aureus* ATCC 6538**

Fuente: Elaboración propia

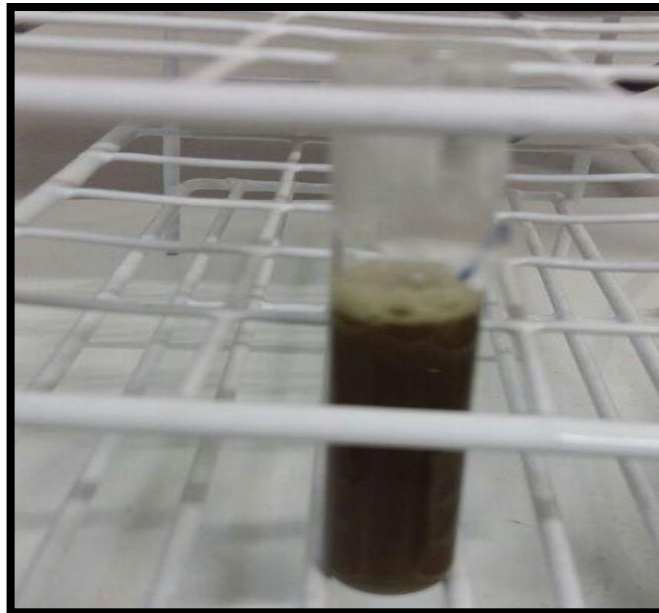


## ANEXO N° 7



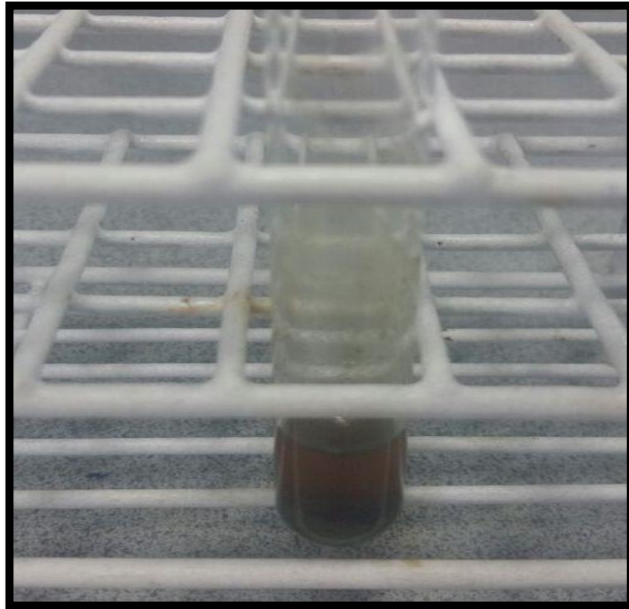
### Determinación de alcaloides

Fuente: Elaboración propia



### Determinación de saponinas

Fuente: Elaboración propia



### **Determinación de triterpenos**

Fuente: Elaboración propia



### **Determinación de taninos**

Fuente: Elaboración propia