



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
 NÚCLEO BOLÍVAR  
 ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD  
 "DR. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"  
 COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

**ACTA**

**TGB-2023-17-03**

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. IVÁN AMAYA Prof. FERNANDO LINARES y Prof. IGNACIO RODRIGUEZ, Reunidos en:

a la hora: *10am* *Salón de Reunión de Proctores y Muestreos*  
 Constituidos en Jurado para la evaluación del Trabajo de Grado, Titulado:

**EFFECTO ANTIGÚNGICO IN VITRO DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANÓLICOS DE Mangifera indica SOBRE COMPLEJO Candida albicans**

Del Bachiller GARCÍA FERNÁNDEZ SEBASTIÁN ANDRÉS C.I.: 27403091, como requisito parcial para optar al Título de Licenciatura en Bioanálisis en la Universidad de Oriente, acordamos declarar al trabajo:

**VEREDICTO**

REPROBADO	APROBADO	APROBADO MENCIÓN HONORIFICA	APROBADO MENCIÓN PUBLICACIÓN	X
-----------	----------	-----------------------------	------------------------------	---

En fe de lo cual, firmamos la presente Acta.

En Ciudad Bolívar, a los *04* días del mes de *Febrero* de *2024*

Prof. IVÁN AMAYA  
 Miembro Autor

Prof. FERNANDO LINARES  
 Miembro Principal

Prof. IGNACIO RODRIGUEZ  
 Miembro Principal

Prof. IVÁN AMAYA RODRIGUEZ  
 Coordinador Comisión Trabajos de Grado

**DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO VAMOS**

Avenida José Méndez s/n Colombo Silva- Sector Barrio Ajuro- Edificio de Escuela Ciencias de la Salud- Planta Baja- Ciudad Bolívar- Edo. Bolívar- Venezuela.  
 Teléfono (0285) 6124976



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
 NÚCLEO BOLÍVAR  
 ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD  
 "Dr. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"  
 COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

**ACTA**

TGB-2023-17-03

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. IVÁN AMAYA Prof. FERNANDO LINARES y Prof. IGNACIO RODRIGUEZ, Reunidos en:

a la hora: 10 en la tarde del mes de febrero del año 2024  
 Constituidos en Jurado para la evaluación del Trabajo de Grado, Titulado:

**EFFECTO ANTIGÚNGICO IN VITRO DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANÓLICOS DE Mangifera indica SOBRE COMPLEJO Candida albicans**

Del Bachiller **ROJAS CEDEÑO CARLOS EDUARDO C.I.: 27923771**, como requisito parcial para optar al Título de **Licenciatura en Bioanálisis** en la Universidad de Oriente, acordamos declarar al trabajo:

**VEREDICTO**

REPROBADO	APROBADO	APROBADO MENCIÓN HONORIFICA	APROBADO MENCIÓN PUBLICACIÓN	<input checked="" type="checkbox"/>
-----------	----------	-----------------------------	------------------------------	-------------------------------------

En fe de lo cual, firmamos la presente Acta.

- En Ciudad Bolívar, a los 09 días del mes de febrero de 2024

Prof. IVÁN AMAYA  
 Miembro Tutor

Prof. FERNANDO LINARES  
 Miembro Principal

Prof. IGNACIO RODRIGUEZ  
 Miembro Principal

Prof. IVÁN AMAYA RODRIGUEZ  
 Coordinador comisión Trabajos de Grado





UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD  
“Dr Francisco Battistini Casalta”  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA

**EFFECTO ANTIGÚNFICO IN VITRO DE EXTRACTOS ACUOSOS Y  
ETANÓLICOS DE *Mangifera indica* SOBRE COMPLEJO *Candida albicans***

**Tutor académico:**

Msc. Iván Amaya

**Trabajo de Grado Presentado por:**

Br: García Fernández Sebastián Andrés

C.I: 27.403.091

Br: Rojas Cedeño Carlos Eduardo

C.I: 27.923.771

**Como requisito parcial para optar por el título de Licenciatura en Bioanálisis**

Ciudad Bolívar, noviembre, 2023

## ÍNDICE

ÍNDICE.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
RESUMEN.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	9
OBJETIVOS.....	11
Objetivo general.....	11
Objetivos específicos.....	11
METODOLOGÍA.....	12
Tipo de estudio.....	12
Preparación del macerado para la obtención del extracto etanólico.....	12
Preparación de la decocción para obtención del extracto acuoso.....	13
Confección de los discos.....	13
Control de calidad.....	14
Preparación de los discos de sensibilidad.....	14
Preparación de agar.....	16
Dilución directa sobre el agar con decocción de Mangifera indica.....	17
Discos de sensibilidad impregnados con extracto etanólico.....	17
RESULTADOS.....	18
Identificación y recolección de la planta.....	18
Preparación de la decocción.....	18
Preparación del macerado.....	18
Medición del pH de los extractos.....	19
Preparación de las distintas diluciones a partir de la solución madre.....	19
Esterilización y autoclavado de los discos de sensibilidad.....	19

Impregnación de los discos de sensibilidad.....	19
Inoculación en agar.....	19
Antibiogramas por discos de sensibilidad impregnados con extracto etanólico de Mangifera indica .....	20
Extracto acuoso de Mangifera indica directo sobre el agar con el asa calibrada .....	20
DISCUSIÓN .....	21
CONCLUSIÓN .....	24
RECOMENDACIONES .....	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	26
ANEXOS .....	34
Anexo 1.....	35
Anexo 2.....	35
Anexo 3.....	36
Anexo 4.....	37
Anexo 5.....	37
Anexo 6.....	38
Anexo 7.....	38
Anexo 8.....	39
Anexo 9.....	40
Anexo 10.....	41
Anexo 11.....	42

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por bendecirnos y guiarnos en el desarrollo de este trabajo.

A la Universidad de Oriente, la casa más alta por la oportunidad de desarrollarnos como profesionales, estemos donde estemos jamás olvidaremos que “del pueblo venimos y hacia el pueblo vamos”.

A los laboratorios clínicos “Sócrates Medina” y al “Laboratorio 42” por permitirnos y facilitarnos el desarrollo de nuestro trabajo de grado en sus instalaciones especialmente a las licenciadas Angélica Gonzales y Daniela Pérez por su apoyo y orientación durante todo el proceso experimental.

A nuestro querido tutor y profesor, Iván Amaya, por guiarnos durante el desarrollo de este trabajo. Gracias por su entrega, dedicación, compromiso, por todo lo que nos ha compartido y enseñado, ¡lo apreciamos!

A los profesores de la Universidad de Oriente, por no darse por vencidos pese a las dificultades por ser modelos a seguir como profesionales y por mantener la excelencia y el nivel sin importar el paso del tiempo.

A todos nuestros familiares, tutores, amigos y compañeros porque este logro es también de ustedes que fueron parte de esto, a todo el que de alguna manera nos aportó y contribuyó a lo largo de la carrera, con un consejo, palabra de ánimo o sonrisa. A quien lee este apartado y esta tesis por permitir a nuestras experiencias, investigaciones y conocimientos incurrir dentro de su repertorio de formación. Gracias.

*Sebastián García y Carlos Rojas*

## DEDICATORIA

A Dios primeramente y a la Virgen del Valle por acompañarme en todo este largo recorrido para culminar con la carrera.

A mis padres, Rebeca Fernández y José García, por ser mis pilares y mis guías, no sé cómo agradecerles por todo el sacrificio que hicieron por mí, el incondicional apoyo, luchando contra viento y marea. Gracias por todos los valores, las enseñanzas, la confianza que depositaron en mí, gracias a todo eso intento ser una mejor persona. Este logro es de ustedes.

A mi hermano Raúl, que también estuvo muy presente en todo el período de universidad, el que fueras mi compañero de cuarto, hizo que todo fuera más fácil el salir de casa de nuestros padres.

A mi abuela, Idilia Fernández, y mi tía, Giovana Bonato, que siempre han estado pendiente desde la distancia, como quisiera que estuvieran presentes en este logro.

A una persona muy especial que ha estado tan presente en casi toda mi carrera, el apoyo, el cariño, el estar en las buenas y en las malas, agradecido contigo y con tu familia por abrirme las puertas de tu casa y hacerme sentir uno más de ustedes. Gracias por todo Nathy.

A todas las amistades que conseguí en estos años de carrera, valió la pena todas las noches de estudio, las risas, el compartir, el pasar muy buenos momentos tanto fuera como dentro de la universidad, hemos celebrados logros y hemos forjado amistades que sé que perdurarán en el tiempo.

A dos amigos que más que amigos los considero unos hermanos, Delio y Jesús, las risas sobraron, el desvelo cuando estudiábamos juntos, el convivir en rural fue una experiencia muy bonita y por eso sé que cuento con ustedes.

A la Udo por ser la institución que me brindó la oportunidad de formarme y crecer como persona en su entorno académico. También a los profesores de la universidad ya que tuve el privilegio que compartieran sus conocimientos y experiencias de forma excepcional, gracias a ellos desarrollé habilidades que me acompañarán en el campo laboral.

*Sebastián A, García Fernández*



## **DEDICATORIA**

A Dios por su infinita bondad y por poner en mi camino a personas maravillosas a lo largo de mi vida y de mi carrera.

A mis padres, Tomari Cedeño, Carlos Rojas, Shiromy Urabac y María Mata por creer en mí y en mis sueños y alentarme día a día a cumplirlos, por inculcarme lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y desempeño.

A mis hermanos, Carlos Alejandro R., Shiromy Alejandro U., Luis Mario R. y Diego Alejandro R. por siempre estar atentos de mí, por todo su amor y apoyo en este caminar.

A mis tíos, por cuidar siempre de mí estén cerca o en la distancia.

A la familia que me regalo la carrera, crecer a su lado ha sido una bendición fueron luz en medio de la tormenta y me llena de orgullo verlos cumplir sus sueños y celebrarlo a su lado, desde los pasillos de básico hasta la graduación: Willinés, Roxana, Nathaly, Zue, Oriana y Reinaldo, gracias por ser mi apoyo, los amo.

A mis amigos Jesús G., Jhonayker A., Anthony C., Jesús A., Victoria G., y Maryangi G. porque a su lado el camino por muy difícil que estuviera se hacía más ameno, gracias por quererme por apoyarme y ayudarme a lo largo de la carrera los quiero inmensamente.

A mi profesor y tutor Iván Amaya, conocerlo significo un antes y un después en mi carrera me inspira y fue un honor para mí haber realizado esta investigación a su lado.

A mis tutores y profesores, Ytalia Blanco, Paolys Jaspe, Cruz Gonzales, Fernando Linares, Ignacio Rodríguez, gracias por ser parte de mi formación y por cada momento compartido dentro del laboratorio siento un cariño y respeto inmenso hacia todos y sin duda dejaron huella en mí.

*Carlos Eduardo Rojas C.*

**EFEECTO ANTIFUNGICO IN VITRO DE EXTRACTOS ACUOSOS Y  
ETANOLICOS DE *Mangifera indica* SOBRE COMPLEJO *Candida albicans*  
García F. Sebastián A., Rojas C. Carlos E., Amaya Iván  
Departamento de Parasitología y Microbiología, Escuela de Ciencias de la Salud,  
Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar.**

**RESUMEN**

El uso de plantas medicinales ha sido una práctica ancestral que ha coexistido con la medicina moderna, de esta manera se ha convertido en una alternativa a los fármacos debido a sus posibles efectos secundarios. La OMS asegura que el 80% de la población mundial utilizar el conocimiento tradicional para el tratamiento de enfermedades en razón a las propiedades y los resultados efectivos que presentan dichas plantas medicinales en enfermedades infecciosas, demostrando que las plantas poseen una fuente potencial de principios activos para el desarrollo de nuevos fármacos teniendo un efecto positivo contra una amplia gama de enfermedades. En Venezuela, un alto porcentaje de la población utiliza como medicina popular a la hoja de *Mangifera indica* (mango), debido a su fácil acceso, en diversos fines como antioxidante, antiinflamatorio, antitumoral y antimicrobiano. Se evaluó su supuesta actividad antifúngica con el extracto acuoso y etanólico frente al complejo *Candida albicans*, ya que varios estudios aseguran tener resultados positivos. Se reprodujo en condiciones controladas y de manera estandarizadas, tanto el usado por las personas en sus hogares, el extracto acuoso por decocción, como también el extracto etanólico, con el fin de evidenciar si ambos métodos poseían algún efecto antifúngico in vitro. Previamente se inoculó en el agar Müller-Hinton al complejo *Candida albicans*, se utilizaron discos de sensibilidad impregnados con extracto etanólico en los antibiogramas, por otro lado, con ayuda del asa calibrada se colocaron 10 lambdas del extracto acuoso en el centro de cada placa para evidenciar si hay o no inhibición. Sin embargo, no se encontró actividad antifúngica con ninguno de los extractos utilizados de *M. indica* contra el complejo *Candida albicans*, existiendo una discrepancia de los hallazgos de Reyes *et al.*, 2017 y Anand *et al.*, 2015, indicando el efecto inhibitorio que esta planta presenta debido a sus componentes bioactivos.

**Palabras claves:** medicina tradicional, plantas medicinales, decocción, antibiograma, antifúngicos.

## INTRODUCCIÓN

La medicina moderna ha coexistido con la medicina tradicional desde tiempos remotos, sin embargo, las hierbas siguen siendo populares por razones históricas y culturales. En muchos países en desarrollo, una gran parte de la población depende de los médicos tradicionales y su arsenal de medicamentos a base de hierbas para sus necesidades de atención médica (Dhama et al., 2014).

La medicina tradicional, tal como la define la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2014, es el total de los conocimientos, habilidades y prácticas basados en las teorías, creencias y experiencias indígenas de diferentes culturas, ya sean explicables o no, utilizados en el mantenimiento de la salud, así como en la prevención, diagnóstico, mejora o tratamiento de enfermedades físicas y mentales.

En los últimos años la medicina tradicional ha cobrado importancia como una terapia alternativa al uso de medicamentos sintéticos producidos en la industria farmacéutica, los cuales producen toxicidad, recurrencia o causan resistencia, razón por la cual se está procurando investigar nuevos agentes antifúngicos más potentes y sobre todo seguros (Churata-Oroya et al. 2016). Desafortunadamente, las células fúngicas y humanas no son muy diferentes, comparten gran parte de las vías del metabolismo intermediario, utilizan enzimas muy similares y no es fácil encontrar blancos que ofrezcan la selectividad requerida para obtener un antifúngico seguro (Zacchino, 2001).

A nivel mundial existen estudios basados en evidencia para verificar la eficacia de las plantas medicinales, algunos de los cuales brindan información sobre la síntesis de fitoquímicos con aplicación terapéutica (Dhama et al., 2014).

Los fitoquímicos corresponden a metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, que incluyen terpenos, ácidos fenólicos y tiólicos, lignanos y flavanoides. Son responsables de proteger a las plantas frente a distintos tipos de estrés, tanto biótico como abiótico, incluyendo infecciones, depredadores, radiación ultravioleta, estrés hídrico o salino, además de entregarles colores y sabores a frutas y verduras. Se estima que existen miles de fitoquímicos distintos en la naturaleza, la mayoría aún por descubrir (Eaton, 2006).

Las plantas medicinales son generalmente fuentes de diversos fitoquímicos, algunos de los cuales suelen ser responsables de sus actividades biológicas. La evaluación de estos fitoquímicos generalmente se realiza contra un amplio espectro de microorganismos para determinar sus actividades antimicrobianas, en función de los componentes activos de las plantas que son principalmente metabolitos secundarios (Kpadonou et al., 2019).

Venezuela es considerado uno de los diez países megadiversos del mundo, teniendo un gran porcentaje de plantas medicinales que son ampliamente utilizadas por diversas poblaciones locales (Giraldo et al. 2009). El Ministerio de Agricultura y Cria, Anuario estadístico Agropecuario (1978), informó que el mango constituye uno de los frutales más difundidos en el país, por lo que en ciertas localidades la utilizan a menudo mediante la ingesta o baños de infusiones de esta planta para calmar algunas afecciones como tos y gripe, además de usarla como antiinflamatorio (Giraldo et al. 2009).

El mango es una planta arbórea, de 15 a 30 m de altura, de dosel en forma cupular o de paraguas, inflorescencias terminales del tipo panícula y de hojas simples oblongas. Diferentes culturas refieren a este árbol desde hace más de 6.000 años, siendo considerada como la especie frutal cultivable más antigua de su tipo; originario de Asia tropical (India y Myanmar) se extendió hasta Borneo, Java,

Sumatra y la península Malaya y actualmente se cultiva en todo el mundo tropical y subtropical (Shah et al. 2010). Esta planta forma parte de la familia Anacardiaceae y del género *Mangifera* que consta de unas sesenta y nueve especies diferentes, sin embargo, la especie más común del género es *M. indica* (Ediriweera et al. 2017).

*Mangifera indica* es utilizado como planta ornamental, de sombra para otros cultivos, en la producción comercial de sus deliciosos frutos y como planta medicinal (Bally, 2006). Se informa que contiene la mayoría de los principales fitoquímicos conocidos. Diso et al. (2017) reportaron la presencia de alcaloides, fenoles, flavonoides, saponinas, taninos en la hoja y corteza del tallo de la planta.

Los fitoquímicos son la base científica para la utilización de partes de plantas para el tratamiento de enfermedades en la etnomedicina. *M. indica* es una planta etnomedicamente diversa con varios usos en el tratamiento de diferentes enfermedades tradicionalmente en todo el mundo. (Ediriweera et al. 2017). Diversos estudios han demostrado las propiedades medicinales de los fitoquímicos extraídos de este árbol, en los que destacan: acción antitumoral, antiespasmódico, antifúngico, anti-inflamatorio, antiparasitario, inmuno-modulador, hepato-protector, antidiabético, antipirético, antibacterial, antialérgico, antidiarreico y gastro protector (Shah et al., 2010).

Debido a que los compuestos antioxidantes estudiados suelen presentar también actividad contra diversos microorganismos, se han realizado diferentes estudios acerca de la actividad antimicrobiana del mango y sus subproductos. En el 2010, en Malasia, se estudiaron los efectos antimicrobianos del núcleo de la semilla de *Mangifera indica* L., demostrando actividad antimicrobiana frente a distintos patógenos tales como *E. coli* y *S. aureus* (Kaur et al., 2010).

En un estudio realizado en Cuba, Balbuena (2017), con el fin de evaluar el efecto antimicrobiano de flavonoides obtenidos de extractos de hojas de *Tamarindus indica* Lin (Tamarindo) enfrentándolos ante cepas bacterianas de *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa* se obtuvo resultados positivos con respecto a la inhibición de estos microorganismos.

La OMS, en el 2001, reportó que el 80% de la población mundial usa el conocimiento tradicional para el tratamiento de sus enfermedades en razón a las propiedades y los resultados efectivos que presentan las plantas medicinales en enfermedades infecciosas. En este sentido, se ha demostrado que las plantas son una fuente potencial de principios activos para el desarrollo de nuevos fármacos y que presentan un efecto positivo frente a una amplia gama de enfermedades, ya que estas sintetizan compuestos con importantes actividades biológicas, como, por ejemplo, antimicrobianos (Quiroga et al.,2013).

Según el Centro Médico de la Universidad de Maryland (2016), en el organismo se encuentra una gran variedad de microorganismos como bacterias y hongos, algunos son útiles y otros viven como saprofitos; sin embargo, cuando el ecosistema del organismo o el sistema inmunitario se altera, éstos se desarrollan y provocan enfermedades oportunistas, se instalan principalmente en las superficies de las mucosas de la boca o vagina.

Los hongos son organismos eucariotas que poseen núcleos organizados, en su citoplasma encontramos mitocondrias, vacuolas, vesículas, retículo endoplasmático, microtúbulos, ribosomas, cristales de glicógeno y complejo de Golgi. Son heterótrofos lo que quiere decir que no pueden sintetizar sus propios nutrientes, además presentan un conjunto de características propias que permiten su diferenciación con las plantas, por ejemplo, no sintetizan clorofila, no tienen celulosa en la composición de su pared celular excepto algunos hongos acuáticos sin

importancia clínica, no almacenan almidón como sustancia de reserva, siendo los organismos de mayor distribución en la naturaleza, se pueden encontrar en el suelo, agua, aire, sobre la superficie de objetos inanimados, en el ambiente cerrado de casas, hospitales, edificios e incluso colonizando animales y al propio ser humano (Godoy et al., 2019).

También, los hongos son considerados los principales degradadores de materia orgánica de nuestro planeta y poseen gran capacidad de adaptación, por lo que sobreviven y se reproducen en diferentes sustratos, temperaturas y condiciones atmosféricas (Godoy et al., 2019).

Según las características del cultivo de estos hongos pueden agruparse en hongos filamentosos, hongos tipo levaduras y hongos dimorfos, cada uno de ellos con géneros, especies y características macro y microscópicas bien definidas (Vargas, 2004).

*Candida* es un género de hongos unicelulares. La especie de *Candida* más significativa por su importancia clínica es *Candida albicans*. Las infecciones causadas por hongos se denominan micosis. *C. albicans* es un comensal de las mucosas humanas, sobre todo de la mucosa oral, digestiva y genital. Las micosis causadas por *C. albicans* o por otras especies de *Candida* se denominan candidiasis en humanos y en otros animales, especialmente en pacientes con inmunosupresión (Ryan et al., 2004).

La clasificación taxonómica de *Candida* spp comprende al Reino Fungi, División Ascomycota, Clase Saccharomycetes, Orden Saccharomycetales, Familia Saccharomycetaceae, Género *Candida*, incluye aproximadamente 154 especies, entre ellas, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. dublinensis*, *C. krusei*,



son frecuentemente aisladas de infecciones en humanos, siendo *C. albicans* la más relevante en términos de patogenicidad (Laforet, 2009).

Los complejos de importancia clínica del género *Candida* son, el Complejo *Candida albicans* que está formado por las especies *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*; el Complejo *Candida parapsilosis* hoy en día está formada por tres especies *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, *Candida metapsilosis*; y el Complejo *Candida glabrata* conformado por *Candida glabrata*, *Candida bracarensis*, *Candida nivariensis*. Sin embargo, se debe tener en cuenta que las especies dentro de los complejos no pueden ser diferenciadas con métodos fenotípicos convencionales por ello se debe reportar a nivel de complejos cuando corresponda, evidenciando la nueva nomenclatura y la antigua entre paréntesis (Taberna, 2021).

*Candida albicans* es un hongo dimórfico, es decir, se desarrolla de forma distinta en función de la temperatura de crecimiento, como levadura, normalmente a 37°C en el huésped, y como hongo de aspecto filamentoso, a 25°C en la naturaleza. Perteneció al filo Ascomycota y se reproduce de forma asexual por gemación (Ponton et al., 2002). Suele presentarse como una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras, con paredes finas; sin embargo, en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, que son células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí. (Samson, 1990). El dimorfismo le permite evadir los mecanismos de defensa relacionados con la inmunidad celular del huésped (Ponton et al., 2002).

La resistencia de *Candida* sp. representa un reto terapéutico que deja un menor número de posibilidades para el tratamiento de estas infecciones que se caracterizan, a su vez, por una alta morbimortalidad (Dhanasekaran et al., 2014). El aumento de infecciones oportunistas como en la estomatitis subprotésica (ESP), principalmente en pacientes inmunocomprometidos, la aparición de algunas cepas

de microorganismos resistentes a los antimicrobianos y antimicóticos usualmente utilizados ha generado el interés en investigaciones dirigidas a los agentes fitoterapéuticos por las mínimas reacciones farmacológicas que presenta, teniendo incluso mayor potencial farmacológico que los productos de origen sintético (Cornely, 2012).

Actualmente existen fármacos antimicóticos como la Nistatina, Fluconazol, Itraconazol, Ketoconazol, sin embargo, ocurren fracasos en el tratamiento debido a la elevada resistencia farmacológica que estos generan (Pernan, 2009). Por este motivo se buscan nuevas alternativas para tratar las infecciones micóticas. Una de ellas, poco convencional, es el uso de la fitoterapia buscando así el manejo eficaz de las infecciones micóticas, que permitan un mayor avance en la disminución y el control prolongado de las infecciones causadas por *Cándida* (Pardi, 2002).

En el 2013, en Zimbabue, se estudiaron los efectos antimicrobianos de extractos de la corteza del tallo de *Mangifera indica* L., frente al *Staphylococcus aureus*. Se encontró que, aunque sí se presentó actividad antimicrobiana dependiente de la concentración de dicho extracto tanto en métodos de dilución en agar como en caldo, el control (ampicilina) mostró mejores resultados. (Mushore et al., 2013). También se ha reportado actividad antifúngica en 18 cepas de levaduras de diferentes extractos de piel y semillas de mango, donde el análisis multivariado mostró una relación entre esta actividad, la capacidad de inhibir la peroxidación lipídica y el contenido total de fenoles (Dorta et al., 2016).

La concentración mínima inhibitoria (MIC), en microbiología, es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de su incubación. La concentración mínima inhibitoria es importante en diagnósticos de laboratorio para confirmar la resistencia de

microorganismos a un agente antimicrobiano y además para monitorizar la actividad de los nuevos agentes antimicrobianos (Andrews, 2001).

Anand et al. (2015), determinaron en India, mediante su ensayo in vitro acerca de los efectos antimicrobianos del extracto, tanto acuoso como etanólico de las hojas de *Mangifera indica* contra el complejo *Candida albicans* y otros microorganismos, el efecto inhibitorio que esta planta presenta debido a sus componentes bioactivos.

En un estudio realizado en Venezuela, por Reyes et al. (2017), se reportó para el complejo *C. albicans*, efecto antifúngico al exponerse al extracto etanólico de hojas de *Mangifera indica* con una MIC que va desde un 20% a las 24 h hasta un 10% a las 48 h.

Debido a los efectos antimicrobianos que produce *M. indica*, se han llevado a cabo diferentes investigaciones en el mundo, en los cuales se trata de explicar cómo actúa sobre diferentes microorganismos. Sin embargo, hasta la actualidad siguen siendo pocas las referencias para el uso de esta planta en el tratamiento de enfermedades causadas por microorganismos, para promover el desarrollo de una cultura fitoterapéutica en el área de ciencias de la salud que a su vez despertará el interés por conocer y estudiar otras plantas oriundas de nuestro país.

De este modo, el propósito del presente estudio es evaluar de manera in vitro la actividad fungicida, del extracto acuoso y etanólico de *Mangifera indica* sobre cepas del complejo *Candida albicans*.

## JUSTIFICACIÓN

Los patógenos fúngicos constituyen una amenaza importante para la salud pública, ya que son cada vez más comunes y resistentes al tratamiento; de hecho, actualmente solo se dispone de cuatro clases de medicamentos antimicóticos y hay muy pocos candidatos en fase de desarrollo clínico (OMS, 2022).

Estas infecciones fúngicas se han convertido en una de las principales causas de morbilidad en sujetos inmunocomprometidos y continúan ocasionando altas tasas de mortalidad con elevados costos socio-sanitarios. La alta mortalidad de estas infecciones está probablemente en relación con las escasas manifestaciones clínicas hasta que el proceso está muy avanzado, además de la dificultad diagnóstica que retrasa el inicio de un tratamiento antifúngico adecuado (Otálora et al, 2018).

Los fármacos disponibles, tiene una toxicidad importante, producen recurrencia o causan resistencia, razón por la cual se está procurando nuevos agentes antifúngicos más potentes, pero sobre todo más seguros que los existentes (Odió, 2010). Desafortunadamente, las células fúngicas y humanas no son muy diferentes, comparten gran parte de las vías del metabolismo intermediario, utilizan enzimas muy similares y no es fácil encontrar blancos que ofrezcan la selectividad requerida para obtener un antifúngico seguro (Zacchino, 2001).

En términos etnobotánicos, el uso de vegetación nativa, partes o extractos de plantas con potentes propiedades antimicrobianas es de antiquísimo conocimiento. Con el fin de redescubrir la potencialidad farmacológica de estas muestras naturales se han identificado distintos tipos de compuestos biosintéticos que responden a patrón de sustancias proteicas y peptídica, fenoles y polifenoles complejos, terpenoides cíclicos y saponinas esteroidales (Cowan, 1999, Jenssen et al., 2006).

Desde la historia la Medicina Natural ha sido considerada como una forma de tratamiento de la persona y no específicamente de la enfermedad, pues al consumir un producto natural trata a la persona de una forma integral como un solo cuerpo, y no particulariza la enfermedad. Para los antepasados no existen una enfermedad sino un cuerpo enfermo, por lo tanto, interesa tratar al cuerpo para mantenerlo sano. Tal es así que, en diversos foros internacionales, como la Declaración de Chiang Mai, la OMS, el Convenio Mundial sobre la Diversidad Biológica y el Plan de Acción de la FAO, se ha remarcado la necesidad urgente de preservar los recursos biológicos y los conocimientos asociados a los mismos (Phillipson et al., 1995), citado por (Bueno et al., 2013).

La resistencia a los escasos antimicóticos disponibles es un tema preocupante, sobre todo en lo respectivo a micosis por el complejo *Candida albicans* en humanos, ya que los antimicóticos tienen un rango de toxicidad muy cercanos a la sensibilidad de nuestras células. Se ha caracterizado un mecanismo de recombinación genética presente en el complejo *C. albicans* que potencia la expresión de resistencia a fármacos antifúngicos, principalmente mediante modificaciones en la síntesis de lípidos de membrana (ergosterol) y proteínas de membrana (transportadores tipo ABC, que expulsan tóxicos) (Selmecki et al., 2006).

A nivel nacional no se encontraron trabajos actualizados, siendo esta la razón por la cual se plantea realizar dicho trabajo investigativo para demostrar la actividad antifúngica que posee el extracto de las hojas de *Mangifera indica* frente al complejo *C. albicans*, sirviendo como base para establecer alternativas frente a la problemática que ha sido la resistencia antifúngica en especial el género *Candida*, con el fin de suministrar datos valiosos que sirvan para futuras aplicaciones en el ámbito terapéutico.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Demostrar el efecto antifúngico in vitro de extractos acuosos y etanólicos de *Mangifera indica* sobre el complejo *Candida albicans*.

### **Objetivos específicos**

Estandarizar la obtención de decocción para la preparación del extracto acuoso de *Mangifera indica*.

Estandarizar la obtención de macerado para la preparación del extracto etanólico de *Mangifera indica*.

Señalar el efecto antifúngico de decocciones de hojas de *M. indica* según concentración sobre el complejo *Candida albicans*.

Señalar el efecto antifúngico de macerados de hojas de *M. indica* según concentración sobre el complejo *Candida albicans*.

## **METODOLOGÍA**

### **Tipo de estudio**

El estudio fue experimental, de tipo multifactorial.

Recolección de la planta e identificación botánica

Las hojas de *Mangifera indica* fueron recolectadas en el mes de junio en el sector Barrio Ajuro, Ciudad Bolívar, municipio Angostura del Orinoco, Estado Bolívar, Venezuela. El nombre de la planta fue identificado con el software PlantNet, donde se confirmó que eran auténticas hojas de *M. indica*, fueron cortadas y transportadas al laboratorio a temperatura ambiente en un recipiente estéril hasta el momento de la preparación de los extractos.

### **Preparación del macerado para la obtención del extracto etanólico**

Las hojas tiernas de *Mangifera indica* recolectadas fueron sometidas a un proceso de lavado con agua corriente, a fin de eliminar cualquier impureza. Luego se enjuagaron con abundante agua destilada, se escurrieron y se secaron en estufa a 70°C durante 4 días. Posteriormente se procedió a la trituración foliar con las manos, obteniendo 15 g de hojas trituradas, el cual fue disuelto en 50mL de etanol al 96% en agitación continua por 72 horas.

De nuestra solución etanólica pura, de concentración conocida, se realizaron diluciones hasta 1/80, utilizando envases estériles para su conservación, se rotularon y se seleccionaron al azar para la posterior preparación de los discos de sensibilidad, entre ellas la solución pura y las diluciones 1/10; 1/20; 1/40; 1/80.

### **Preparación de la decocción para obtención del extracto acuoso**

Las hojas fueron lavadas con agua destilada previamente a su preparación. El extracto se preparó con las hojas frescas, y se extrajo por decocción con 20 gramos de hojas de la planta y un litro de agua destilada, en un matraz de Erlenmeyer durante 10 min a 100°C, para obtener los extractos acuosos de hojas de *Mangifera indica*. El método de extracción fue seleccionado en base a la literatura que indica que es una de las principales formas de preparación en la medicina popular. Los extractos acuosos obtenidos después de la filtración, se reservó en un envase estéril en la nevera de 14 a 24 °C grados y se medirá el pH con papel tornasol.

De igual manera, de nuestra solución pura, se realizaron diluciones hasta 1/80, utilizando envases estériles para su conservación, se rotularon y se seleccionaron al azar para la posterior preparación de los antibiogramas, entre ellas la solución pura y las diluciones 1/10; 1/20; 1/40; 1/80.

### **Confeción de los discos**

Para la elaboración de los discos, también se usaron todos los implementos de bioseguridad para evitar cualquier tipo de contaminación (bata de laboratorio, guantes de látex y tapabocas) tal como lo establece las normas ISO 15189 2007 en su apartado 5.3 “Instalaciones y condiciones ambientales”.

Fueron seleccionados discos de sensibilidad vencidos, los cuales se lavarán 3 veces con agua destilada y se llevarán a la autoclave a 1.5 libras por 15 minutos, este proceso se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología y parasitología “Sócrates medina”, lugar que posee las condiciones controladas e idóneas de humedad y temperatura. Después de este proceso se llevaron al horno por 24 horas para secar por



completo los discos y así poder inactivar por totalmente los antibióticos de estos discos (López y Mejías, 2023).

En una cámara de flujo, se prepararon 25 discos con la solución madre y cada dilución, cada disco será impregnado respectivamente con 25 $\lambda$  de cada una de las soluciones, luego se llevarán a la estufa a 35 °C por 24 horas hasta secarse.

### **Control de calidad**

Se realizó una inspección visual para el control de calidad de los discos, verificando la forma, el diámetro y la cantidad de hebras de papel, rechazando cualquier disco que presente anomalías como mal corte o rasgaduras y no pudieran cumplir con la función para la cual fueron diseñados. Los discos rechazados serán descartados

Los discos aceptados se dispusieron de manera ordenada en placas de Petri, se taparon con cinta de comprobación de esterilidad teniendo en cuenta la manera de colocar los discos dentro de las placas de Petri, se ubicaron de forma que permita contarlos y de esa manera tener mayor control. Luego de que sean ordenados se esterilizarán con calor seco a la autoclave tipo estufa a 140 °C por un lapso de 2 horas

### **Preparación de los discos de sensibilidad**

Fueron seleccionadas al azar la solución pura y las diluciones 1/10; 1/20; 1/40; 1/80, para la posterior preparación de los discos de sensibilidad.

Una vez preparada la dilución sobre los discos estériles y luego que estos perdieran el calor de la estufa, se impregno cada papel con la solución, formándose entonces los discos de sensibilidad. Se mantuvo higienizado el espacio y se verificó el

uso de los implementos de laboratorio, para así evitar cualquier tipo de contaminación cruzada y garantizar la calidad. Para llevar a cabo esta etapa se esterilizo la punta de una pinza, con el calor directo de la llama del mechero, la función de esta fue mover los discos, con el fin de acomodarlos en las placas de Petri a disposición.

Se utilizó una micropipeta calibrada, previamente graduada con la cantidad de solución requerida en función de la capacidad de absorción de cada disco, de igual manera se utilizaron puntas amarillas descartables para mayor precisión, debido a que la cantidad a descargar sobre los discos fue pequeña.

Primero se prepararon e identificaron 20 placas de Petri con las soluciones correspondientes de extracto etanólico, con la micropipeta con punta amarilla se tomó solución madre y se impregnaron los discos de la primera placa, luego se repitieron los pasos anteriores con las respectivas diluciones 1/10; 1/20; 1/40; 1/80 y se vació sobre cada uno de los discos de las placas siguientes. Una vez que todos los discos del lote estaban impregnados, se procedió al secado por calor tapando las placas de Petri y envolviendo con papel film, luego fueron depositadas dentro de la estufa del laboratorio a temperatura controlada de 35 °C por 24 horas

Al culminar el proceso de secado, se almacenaron los discos en la nevera a temperaturas 5 a 8 °C. Al momento de usarlos se debió dejar reposar tapados fuera de la nevera, hasta llegar a temperatura ambiente.

Para llevar a cabo los ensayos en donde se estudió la reproducibilidad en los discos de sensibilidad elaborados, se prepararon previamente los insumos. Entre ellos, las placas de Petri servidas con el medio de cultivo, agar Müller-Hinton, las cuales permanecieron preservadas en refrigeración a una temperatura no mayor a 15°C.

## Preparación de agar

Para realizar el estudio de antibiograma existen varios métodos, para esta investigación, se desarrolló el método en difusión en agar, también conocido como método Kirby-Bauer, este es un estudio de susceptibilidad por difusión en disco, un procedimiento cualitativo utilizado por diversos laboratorios clínicos en la actualidad. Consiste en depositar el microorganismo, en una superficie de agar Müller-Hinton.

El antibiótico expulsado por los discos forma un gradiente de concentración y al transcurrir un período de tiempo entre 18 y 24 horas en estado de incubación, se presentarán los discos rodeados por una zona de inhibición; dicha concentración del antibiótico presente en la interfase del agar entre los microorganismos que se encuentran en crecimiento y las inhibidas, se denota como “concentración crítica” la cual se aproxima a las Condiciones Inhibitorias Mínimas (CIM) (Picazo, 2003).

Existen diámetros de inhibición estandarizados para cada antimicrobiano, expresados en milímetros, con los cuales se realiza la lectura de los halos de inhibición, estos se interpretan con tres posibles opciones: Sensible (S), Intermedia (I) o Resistente (R) (Roach, 2013). Para efectos del antibiograma, se utilizó específicamente el medio de cultivo Agar Müller-Hinton, el cual posee una baja concentración de iones divalentes. Es recomendado para este tipo de estudios porque en él se reproducen la mayor parte de los microorganismos patógenos; para su uso y estandarización entre laboratorios es utilizado debido a que las diferencias entre los distintos lotes comercializados son muy pocas (Picazo, 2003).

Discos de antibióticos, son discos de papel filtro, los cuales están impregnados con una concentración definida de M. indica y estos fueron utilizados para la evaluación semicuantitativa de la susceptibilidad in vitro de C. albicans a dichos agentes antimicrobianos.

Los halos de inhibición son aquella zona ubicada alrededor de un disco de antibiótico presente en una placa inoculada, en la cual no se presenta crecimiento bacteriano (IQUIMICAS, 2014). La medición de los halos se realiza por la parte trasera de la placa de Petri, previamente incubada, donde se procede a determinar el tamaño de la circunferencia que se encuentra alrededor del disco de antibiótico a través de un instrumento de medición (García, 2014). En cuanto a la inoculación se procede a la introducción de un agente infeccioso en un organismo, o lugar, que carece del agente patógeno (Cerra et al., 2013). Cultivar un microorganismo significa promover intencionalmente su desarrollo en un medio de cultivo predeterminado y condiciones establecidas.

#### **Dilución directa sobre el agar con decocción de *Mangifera indica***

Se inoculó sobre una placa de Müeller Hinton una dilución del complejo *Candida albicans*, y usando un asa calibrada nueva, se tomaron 10 $\lambda$  de cada dilución partiendo por la solución madre, y se aplicó en el centro de cada placa, rotulada con su respectivo título de dilución, como si se tratara de discos de sensibilidad, y se llevó a la estufa a una temperatura controlada de 35°C durante 24 horas y pasado el tiempo se observó si hay o no susceptibilidad.

#### **Discos de sensibilidad impregnados con extracto etanólico**

Se inoculó sobre una placa de Müeller Hinton una dilución del complejo *Candida albicans*, y usando una pinza estéril, se tomaron los discos impregnados con las diluciones, partiendo por la solución madre de extracto etanólico, se colocaron en el centro de cada placa, rotulada con su respectivo título de dilución, y se llevó a la estufa a una temperatura controlada de 35°C durante 24 horas y pasado el tiempo se observó si hay o no susceptibilidad.

## **RESULTADOS**

### **Identificación y recolección de la planta**

El nombre de la planta fue identificado con el software PlantNet, donde se confirmó que eran auténticas hojas de *M. indica*, una planta arbórea, de 15 a 30 m de altura, de dosel en forma cupular o de paraguas, inflorescencias terminales del tipo panícula y de hojas simples oblongas. Las hojas de fueron recolectadas en el mes de junio en el sector Barrio Ajuro, Ciudad Bolívar, municipio Angostura del Orinoco, Estado Bolívar, Venezuela. Posteriormente, se transportaron al laboratorio a temperatura ambiente en un recipiente estéril hasta el momento de la preparación de los extractos.

### **Preparación de la decocción**

Se preparó con hojas frescas de la planta, que fueron previamente lavadas con agua destilada. Utilizando 20 gramos de las hojas y un litro de agua destilada en un matraz de Elenmeyer sobre una plancha de calentamiento, durante 15 min a 100°C; se obtuvo después de ese tiempo 980ml de extracto acuoso de las hojas de *M. indica*.

### **Preparación del macerado**

Se preparó con 15 gr de hojas previamente deshidratadas y trituradas, se agregaron con 50 ml de etanol al 96% dentro un envase estéril y hermético, forrado de papel aluminio para evitar la exposición a la luz solar. Esto se dejó macerar por 72 horas, con agitación continua, para obtener posteriormente el extracto etanólico de *M. indica*. Luego este extracto se separó en tubos de ensayo y se centrifugó para utilizar el sobrenadante en la preparación de las diluciones respectivas.

### **Medición del pH de los extractos**

El pH de ambos extractos fue medido con papel tornasol, dando resultado de 7 para el extracto acuoso y 4 para el extracto etanólico.

### **Preparación de las distintas diluciones a partir de la solución madre**

Se prepararon diluciones de los siguientes títulos 1/10; 1/20; 1/40; 1/80, para ambos extractos.

### **Esterilización y autoclavado de los discos de sensibilidad**

Se lavaron los discos 3 veces con agua destilada y se llevaron a la autoclave dentro de una placa de Petri. Para asegurar la inactivación de esos antibióticos y correcto secado de los discos se llevó a la estufa a 35°C por 24h.

### **Impregnación de los discos de sensibilidad**

Se impregnaron 40 discos de sensibilidad con 25 $\mu$ l de la solución madre y de cada dilución correspondientemente.

### **Inoculación en agar**

Se preparó un agar Mueller Hinton con 2.10 gramos de agar y 40 ml de agua destilada, se llevó al autoclave y al salir, y estar en una temperatura de 51C°, se vertió sobre las placas y se dejó reposar hasta solidificar. Una vez solido se sembró Candida albicans para realizar posteriormente los antibiogramas con los distintos extractos y sus respectivas diluciones.

### **Antibiogramas por discos de sensibilidad impregnados con extracto etanólico de *Mangifera indica***

Se inoculó en 20 placas Müller-Hinton una dilución de *Candida albicans*, y se realizaron los antibiogramas usando 4 discos diferentes impregnados con el extracto etanólico puro y sus diferentes diluciones, se dejaron durante 24 horas, y al pasar este tiempo se observó un desarrollo normal de las levaduras, y no inhibición-resistencia en las distintas soluciones de *Mangifera indica*.

### **Extracto acuoso de *Mangifera indica* directo sobre el agar con el asa calibrada**

Se inoculó sobre 20 placa de Müller Hinton, una dilución de *Candida albicans* y usando un asa calibrada nueva se tomó 10 $\lambda$  de cada solución, partiendo por la solución madre y las siguientes diluciones, en el centro de la placa como si se tratara de discos de sensibilidad, se llevó a la estufa a una temperatura controlada de 35°C durante 24 horas y pasado el tiempo se observó que no fueron susceptibles.

## DISCUSIÓN

El uso de plantas medicinales para tratar y curar enfermedades tiene una larga historia que se remonta a la antigüedad, y desde entonces, la medicina moderna ha coexistido con la medicina tradicional durante siglos. Con el tiempo, se han creado medicamentos cuyos principios activos son extraídos de plantas (Dhama et al., 2014), lo que la Organización Mundial de la Salud ha aprobado y favorecido ampliamente para tratar y curar enfermedades (2014).

En los últimos años, la medicina tradicional ha ganado terreno como una alternativa a los medicamentos sintéticos producidos por la industria farmacéutica. Estos medicamentos pueden causar toxicidad, recurrencia o resistencia, lo que ha llevado a la investigación de nuevos agentes antifúngicos más potentes y seguros (Churata-Oroya et al. 2016). Desafortunadamente, las células fúngicas y humanas son bastante similares, comparten muchas rutas metabólicas y enzimas, lo que dificulta encontrar objetivos específicos para desarrollar un antifúngico seguro (Zacchino, 2001).

Venezuela es uno de los países más biodiversos del mundo, y cuenta con gran cantidad de plantas medicinales que son ampliamente utilizadas por diversas poblaciones locales y más aún en la actualidad, que a causa de la crisis socioeconómica que está atravesando el país, se ha visto acentuada por los elevados costos de los medicamentos y el difícil acceso a los centros de salud (Giraldo et al., 2009).

El abuso de los antifúngicos ha reducido las opciones para tratar infecciones, ya que los hongos han desarrollado resistencia a estos medicamentos. En la actualidad,



es importante tomar decisiones informadas para enfrentar la emergencia global y buscar nuevas alternativas para combatir esta crisis (OMS, 2014).

Se llevaron a cabo pruebas con hojas de *Mangifera indica* de la ciudad para evaluar su actividad antifúngica. Se crearon diferentes métodos para evaluar la supuesta actividad antifúngica de la planta, sin embargo, en estos métodos que fueron probados y estandarizados no se encontró ninguna sensibilidad antifúngica o actividad inhibitoria contra las cepas de *Candida albicans*.

Esto difiere de lo encontrado por Anand et al. (2015), y Reyes et al. (2017), investigaciones en las que evidenciaron un efecto antifúngico de *Mangifera indica*. En el caso de Anand et al., realizaron también extractos, tanto etanólicos, como acuosos con las hojas de la planta. Por su parte, Reyes et al., trabajaron únicamente utilizando el extracto etanólico y reportaron efecto antifúngico al exponerse al extracto con una MIC que va desde un 20% a las 24 h hasta un 10% a las 48 h.

Teniendo en cuenta que es complicado controlar la cantidad de principio activo que se extrae por decocción y los mecanismos potenciales de estas actividades farmacológicas, ya que no se han explorado completamente (Wu et al., 2019), en esta investigación se pretendió reproducir en condiciones controladas y de manera estandarizada la extracción etanólica, así como la decocción de las hojas, dado que es la forma popular de preparación de la planta por las personas en sus hogares, sin realizar extracciones ni procesos industriales, para evidenciar si la forma popular de consumo poseía efectos antimicrobianos in vitro.

No se evidenció efecto antimicrobiano, lo que contrasta con la creencia popular de que tenga efecto antifúngico sobre todo para infecciones vaginales y orales, en el caso de las infecciones orales podría deberse a los efectos señalado por Shah et al.,

(2010). Entonces este efecto analgésico podría hacer pensar que la infección ha cedido, pero realmente el efecto fue sobre el síntoma y no sobre la causa.

También se plantea la posibilidad, que en la población se presente el efecto placebo, siendo la modificación, muchas veces fisiológicamente demostrable, que se produce en el organismo como resultado del estímulo psicológico inducido por la administración de una sustancia inerte, de un fármaco o de un tratamiento (Lam y Hernández, 2014).

## **CONCLUSIÓN**

Después de analizar los resultados de la investigación, se concluye que el extracto acuoso y etanólico de las hojas de Mangifera indica no demuestra ninguna actividad antifúngica frente al complejo Candida albicans. A pesar de las propiedades prometedoras que se le atribuyen a dicha hoja en otros aspectos de la salud, la obtención de estos extractos específicos no presenta efectos antifúngicos.

## RECOMENDACIONES

Es importante tener cierta precaución al hacer uso de plantas medicinales en grupos vulnerables como niños y ancianos.

Fomentar la investigación sobre posibles aplicaciones terapéuticas de *Mangifera indica* en condiciones de salud específicas.

Realizar análisis toxicológicos con el fin de identificar los compuestos activos presentes *Mangifera indica*.

Tener en cuenta los posibles efectos tóxicos de esta planta, ya que es difícil controlar la concentración de principios activos obtenidos mediante la decocción.

Promover la colaboración entre investigadores, instituciones y comunidades locales para compartir conocimientos científicos sobre el uso de plantas medicinales en aras de maximizar sus beneficios y minimizar riesgos.

Para estudios posteriores, se recomienda probar otras partes de esta planta como el tallo, raíces, fruta, con lo cual refieran mayor actividad que las hojas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anand, G., Ravinanthan, M., Basaviah, R., Shetty, A.V. (2015). In vitro antimicrobial and cytotoxic effects of *Anacardium occidentale* and *Mangifera indica* in oral care. *J Pharm Bioall Sci*;7:69-74
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48 (Suppl. 1):5-16.
- Avilan, L. (1983). La fertilización del mango (*Mangifera indica*). [Serie en línea] 38 (7-8): 553-562. Disponible en: <https://revues.cirad.fr/index.php/fruits/article/view/34745/35366>. [Mayo, 2023]
- Bahmani, M., Saki, K., Shahsavari, S., Rafieian-Kopaei, M., R. Sepahvand, R., Adineh, A. (2015). Identification of medicinal plants effective in infectious diseases in Urmia, northwest of Iran. *As. Pac. J. of Trop.l Biomed*, 5: 858-864,
- Balbuena, V. (2017). Evaluación del efecto antimicrobiano de flavonoides obtenidos de extractos de hojas de *Tamarindus indica* Lin. *MULTIMED*. [Serie en línea] 16(1), 69-84. Disponible en: <https://revmultimed.sld.cu/index.php/mtm/article/view/517/846> [Marzo, 2023]
- Bally, I. (2006). *Mangifera indica* (mango). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*. [Serie en línea]. 3.1 Disponible en: <http://www.traditionaltree.org>. [Febrero, 2023]

- Bueno, J. G., Isaza, G., Gutierrez, F., Carmona, W. D., Pérez, J. E. (2013). Estudio etnofarmacológico de plantas usadas empíricamente por posibles efectos inmunoestimulantes. *Revista médica de Risaralda*. [Serie en línea]. 7(1). Disponible en: <http://revistas.utp.edu.co/index.php/revistamedica/article/viewFile/8247/5039> [Junio, 2023]
- Churata, O., Diana, E., Ramos, D., Moromi, H., Martínez, E., Castro, A., Garcia, R. (2016). Efecto antifúngico de *Citrus paradisi* “toronja” sobre cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes con estomatitis subprotésica. *Revista Estomatológica Herediana*, 26(2), 78-84.
- Cornely, O., Bassetti, M., Calandra, T., Garbino, J., Kullberg, B., Lortholary, O. (2012). ESCMID\* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*;18 Suppl 7:19-37.
- Cowan, M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*; 12. [Serie en línea] 12 (4):564- 582. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/cmr.12.4.564> [Abril, 2023]
- Dhama, K., Tiwari, R., Chakrabort, S. (2014). “Evidence based antibacterial potentials of medicinal plants and herbs countering bacterial pathogens especially in the era of emerging drug resistance: an integrated update,” *International Journal of Pharmacology*, vol. 10, no. 1, pp. 1–43,

- Dhanasekaran, D., Vinothini, K., Latha, S., Thajuddin, N., Panneer-selvam, A. (2014). Human dental biofilm: Screening, characterization, in vitro biofilm formation and antifungal resistance of *Candida* spp. *Saudi J Dent Res*;5(1):55-70.
- Diso, S., Alli, M., Mukhtar, S., Garba, M. (2017). Antibacterial activity and phytochemical screening of (*Mangifera indica*) Mango stem and leaf extracts on clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Adv Med Pharm Sci* 13(1):1-6
- Dorta, E., González, M., Lobo, M., Laich, F. (2016). Antifungal activity of mango peel and seed extracts against clinically pathogenic and food spoilage yeasts. *Natural product research*, 30(22), 2598-2604.
- Eaton, S. (2006). The ancestral human diet: what was it and should it be a paradigm for contemporary nutrition? *Proc Nutr Soc*; 65(1): 1-6.
- Ediriweera, M., Tennekoon, K., Samarakoon, S. (2017). A review on ethno pharmacological applications, pharmacological activities and bioactive compounds of *Mangifera indica* (mango). *Evid-Based Complement Alternat Med*. Article ID 69498935.
- Giraldo, D.; E. Baquero, A. Bermúdez & M. Oliveira. (2009). Caracterización del comercio de plantas medicinales en los mercados populares de Caracas, Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 32(2): 267-301.
- Godoy, P., Riera, F., Celi, A., Thompson, L., Rabagliati, R. (2019). *Manual de Infecciones Fúngicas Sistémicas*. Edit Recursos Fotográficos.

[Serie en línea]. 3 (1)1-224pp. Disponible:  
[http://circulomedicocba.org/wp-content/uploads/2020/02/Manual-de-Micologia-3ra-edicion\\_final.pdf](http://circulomedicocba.org/wp-content/uploads/2020/02/Manual-de-Micologia-3ra-edicion_final.pdf) [Enero, 2023]

Jenssen, H., Hamill, P., Hancock, R. (2006). Peptide Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. [Serie en línea] 19 (3): 491-511  
<https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/cmr.00056-05> [Junio, 2023]

Kaur, J., Rathinam, X., Kasi, M., Miew Leng, K., Rajasekaran, A., Kathiresan, S. (2010). Preliminary investigation on the antibacterial activity of mango (*Mangifera indica* L: Anacardiaceae) seed kernel. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 3(9), 707-710.

Kpadonou, D., Kpoviessi, S., Bero, J. (2019). “Chemical composition, in vitro antioxidant and antiparasitic properties of the essential oils of three plants used in traditional medicine in Benin,” *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 13, no. 16, pp. 384–395.

Laforet, L. (2009). Valencia España. Estudio de Pga26, una proteína implicada en la arquitectura de la pared celular de *Candida albicans*. [En línea] Disponible en: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/laforet.pdf> [Julio, 2022]

Lam, R., Hernández P. (2014). El placebo y el efecto placebo. [En línea] Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v30n3/hih04314.pdf> [Octubre, 2022]



- Lastres, M., Zapata, T., Laportte, M., Torrecilla, P., Lapp, M., Chong, L., Muñoz, D. (2015). Conocimiento y uso de las plantas medicinales de la comunidad valle de la cruz, estado Aragua. [En línea]. Disponible en: <http://www.revenct.ula.ve/storage/repo/ArchivoDocumento/pitti/n39/art04.pdf> [Marzo, 2023].
- Lee, S., Buber, M., Yang, Q., Cer-ne, R., Cortés, R., Sprous, D. (2008). Thymol and related alkyl phenols activate the hTRPA1 channel. *Br J Pharmacol.* 153(8):1739-49
- López, L., Mejías, G. (2023). Efecto antibiótico in vitro de extractos acuosos de *Jatropha gossypifolia* contra bacterias gram positivas y gram negativas. Tesis de Grado. Dpto. de Parasitología y Microbiología. Esc. Cs. Salud. Bolívar U.D.O. pp (Multígrafo)
- Lopez, S., Castelli, M., Zacchino, S., Dominguez, J., Lobo, G., Charris-Charris, J., Cortes, J., Ribas, J., Devia, C., Rodriguez, A., Enriz, R. (2001). In vitro antifungal evaluation and structure-activity relationships of a new series of chalcone derivatives and synthetic analogues, with inhibitory properties against polymers of the fungal cell wall. *Bioorg Med Chem.* 9(8): 1999-2013.
- Mushore, J., Matuvhunya, T. (2013). Antibacterial properties of *Mangifera indica* on *Staphylococcus aureus*. *African Journal of clinical and experimental microbiology.* 14(2). 62-74.
- Odio, C. (2010). Tratamiento antifúngico en situaciones especiales: candidiasis resistente y aspergilosis. *Drugs Today (Barc).* 46 Suppl C: 33-46.

- OMS. 2014. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional. [En línea]. Disponible en:  
[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098\\_spa.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf) [Marzo, 2023].
- OMS. (2022). WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. [En línea]. Disponible en:  
<https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>
- Otálora, S., Herrero, J., Hernández, A., Moral, E., Gómez, J., Segovia, M. 2018. Micosis sistémicas en pacientes inmunocomprometidos. [En línea]. Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304541218301331> [Abril, 2023]
- Pardi, G., Cardozo, E. (2002). Algunas consideraciones sobre *Cándida albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. *Acta odontol. Venez.* 40(1): 9-17.
- Pernan, J., Canton, E., Espinel-Ingroff, A. (2009). Antifungal drug resistance mechanisms. *Expert Rev Anti Infect Ther*; 7(4):453-60
- Picazo, J. 2003. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. [En línea]. Disponible en: [seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf](#) [Abril, 2023]
- Pontón, J., Moragues, M., Gené, J., Guarro, J., Quindós, G. (2002). Hongos y actinomicetos alérgicos. *Revista Iberoamericana de Micología*, Bilbao. (Revankar, 2021). [Serie en línea] Disponible en :

<https://www.msmanuals.com/es-ve/professional/enfermedades-infecciosas/hongos/candidiasis-invasora> [Marzo, 2023]

Quiroga, R., Arrázola, S., Tórrez, E. (2013). Diversidad florística medicinal y usos locales en el pueblo Weenhayek de la Provincia Gran Chaco, Tarija, Bolivia Medicinal flora diversity and useful local in the village of Weenhayek of Gran Chaco Province, Tarija, Bolivia. *Revista Boliviana de Ecología y Conservación Ambiental*, 25 (25-3). [Serie en línea] Disponible en : <http://www.cedsip.org/PDFs/conservacion%2025/QUIROGA.pdf> [Marzo, 2023]

Reyes, D., Ortega, D., Quintero, J., Stefany, P., Alarcón, M., Fernández, R. (2017). Efecto antimicrobiano del extracto foliar de mango (*Mangifera indica* L. cv. Bocado) en microorganismos de interés clínico. [En línea]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/3759/375953625003/html/> [Junio, 2022]

Ryan, K., Ray, C. (2004). *Sherris Medical Microbiology* (4th ed. edición). McGraw Hill. ISBN 0-8385-8529-9.

Samson, J. (1990). Candidiosis buccales: Epidémiologie, diagnostic et traitement. *Rev Mens Suisse Odontostomatol.* 100: 548-559.

Selmecki, A., Forche, A., Berman, J. (2006). Aneuploidy and isochromosome formation in drug-resistant *Candida albicans*. *Science*. [Serie en línea] 313(5785), 367–370. Disponible en: <https://doi.org/10.1126/science.1128242> [Febrero, 2023]

- Shah, K., Patel, M., Patel, R., Parmar, K. (2010). *Mangifera indica* (Mango) Phcog Rev.4(7):42-49.
- Taberna, C. (2021). Identificación y sensibilidad a los antifúngicos en levaduras del género *Candida*. [En línea]. Disponible en: <https://mooc.campusvirtualsp.org/mod/page/view.php?id=10217> [Junio, 2022]
- University of Maryland Medical Center. (2016) Candidiasis bucal. [En línea]. Disponible en: <http://umm.edu/health/medical/spanishency/articles/candidiasis-bucal> [Marzo, 2023]
- Vargas, H. (2004). Patógenos emergentes en micosis cutáneas y sistémicas. [En línea]. Disponible en: <http://revista.svderma.org/index.php/ojs/article/download/255/255> [Abril, 2023].
- Zacchino, S. (2001). Estratégias para a descoberta de novos agentes antifúngicos. En: Yunes and Calixto eds. *Plantas como fontes de novos medicamentos*. SC, Brasil: Grifos(Ed); [En línea]. Disponible en: [https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880033/determinacion-de-la-actividad-antifungica-contra-candida-albica\\_X89AK3e.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880033/determinacion-de-la-actividad-antifungica-contra-candida-albica_X89AK3e.pdf) [Marzo, 2023].

## **ANEXOS**

## Anexo 1

### Identificación y recolección de la planta



## Anexo 2

### Preparación de la decocción



### Anexo 3

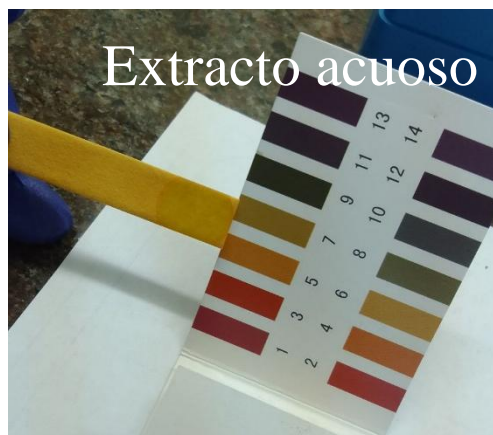
#### Preparación del macerado





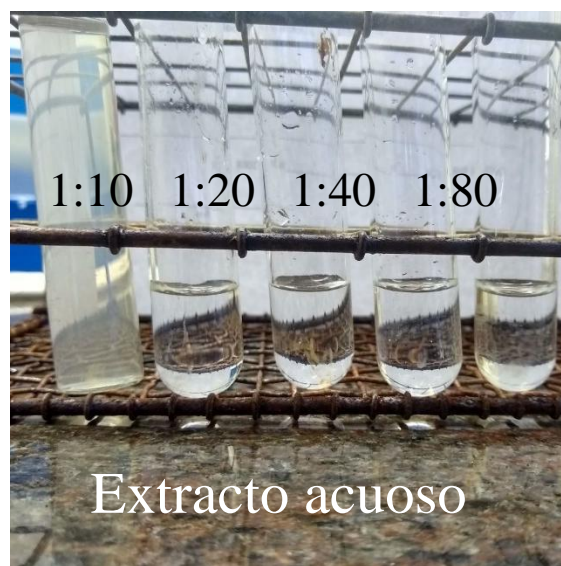
## Anexo 4

Medición del pH de los extractos



## Anexo 5

Preparación de las distintas diluciones a partir de la solución madre





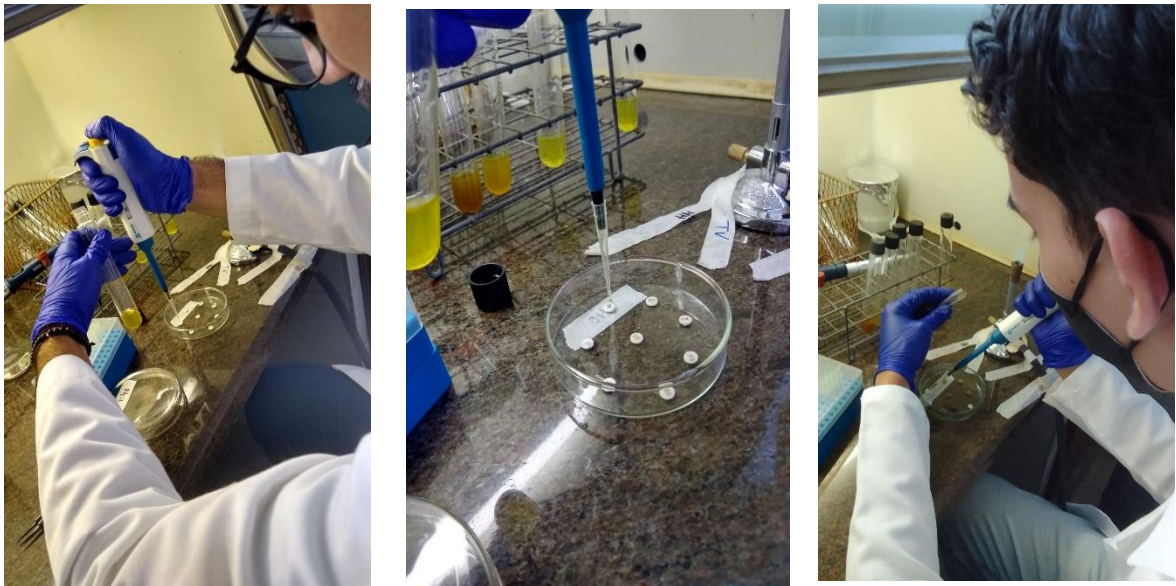
## Anexo 6

Esterilización y autoclavado de los discos de sensibilidad



## Anexo 7

Impregnación de los discos de sensibilidad



## Anexo 8

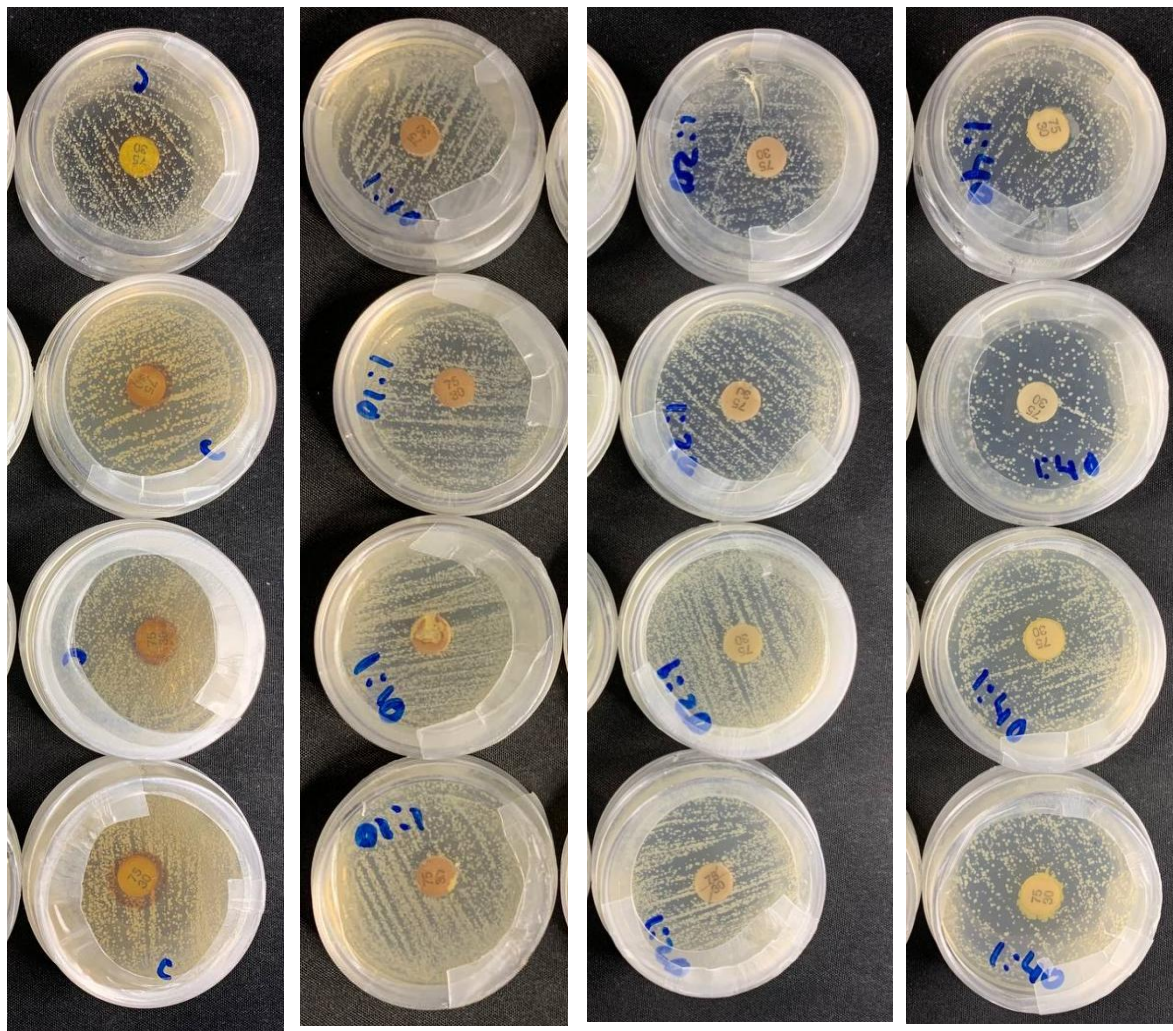
### Inoculación en agar





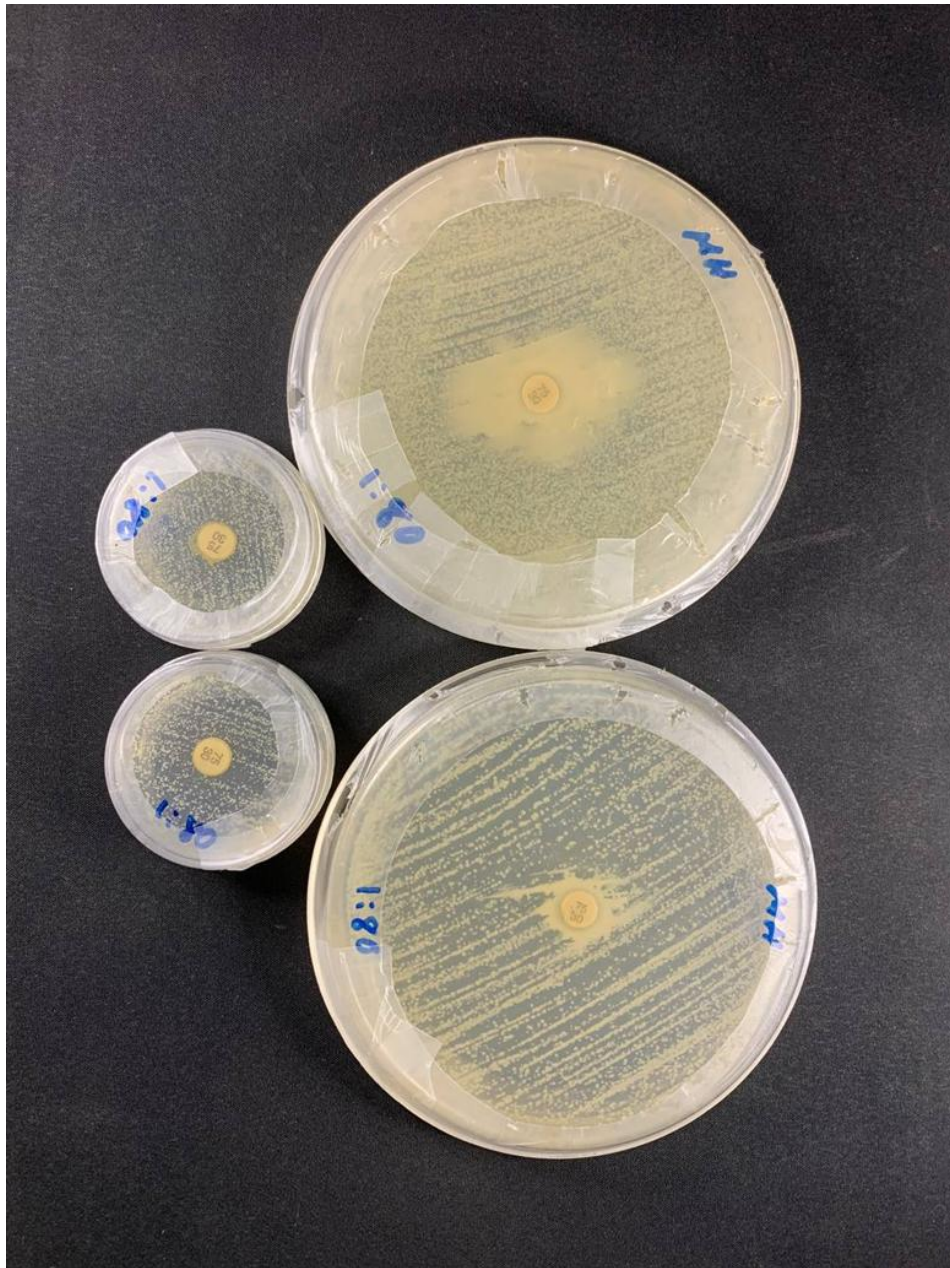
## Anexo 9

Antibiogramas por discos de sensibilidad impregnados con extracto etanólico de *Mangifera indica*



**Anexo 10**

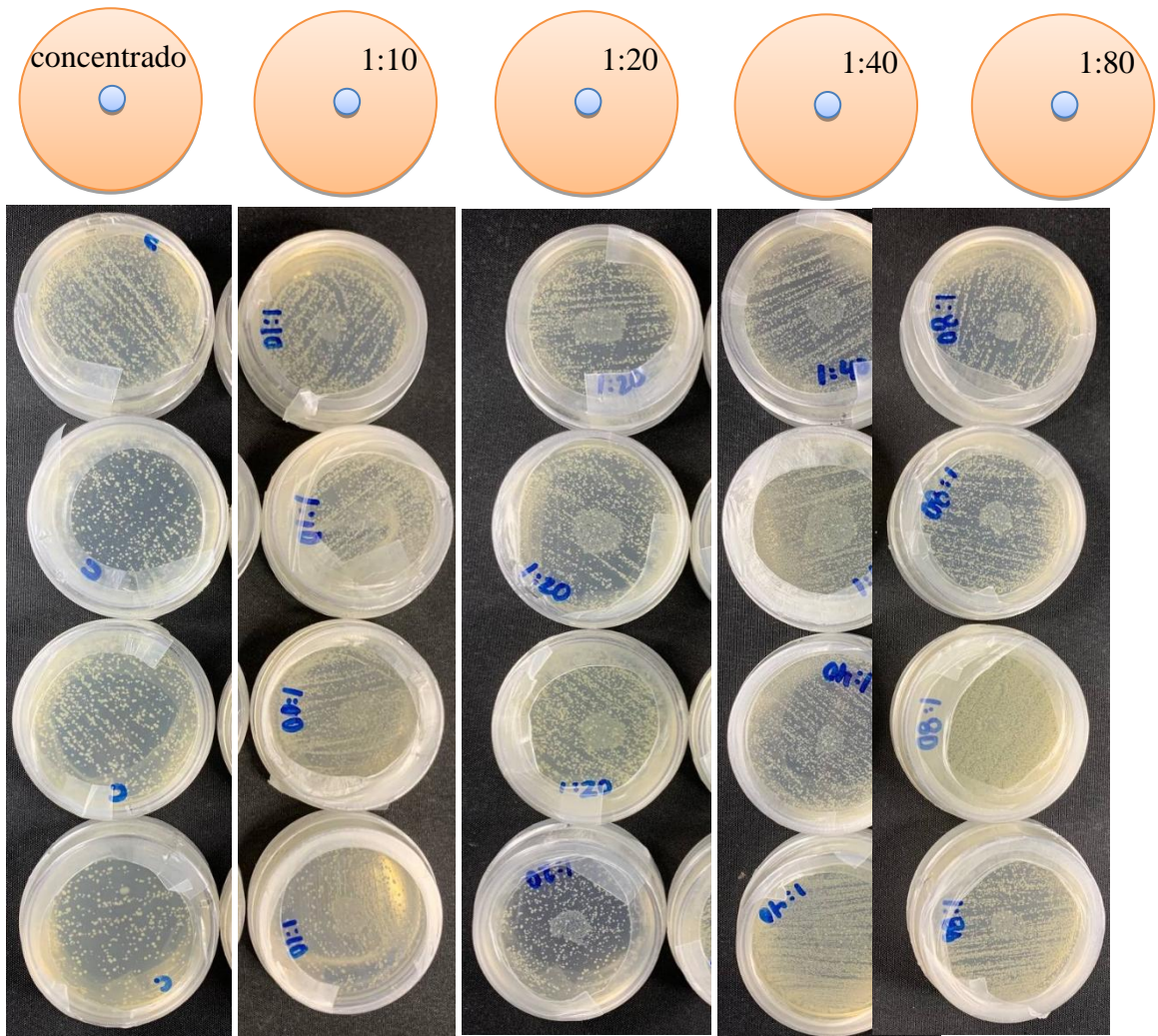
Antibiogramas por discos de sensibilidad impregnados con extracto etanólico de *Mangifera indica*





**Anexo 11**

Extracto acuoso de *Mangifera indica* directo sobre el agar con el asa calibrada



**METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:**

<b>TÍTULO</b>	EFECTO ANTIFUNGICO IN VITRO DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ETANOLICOS DE Mangifera indica SOBRE COMPLEJO Candida albicans
---------------	---

**AUTOR (ES):**

<b>APELLIDOS Y NOMBRES</b>	<b>CÓDIGO CVLAC / E MAIL</b>
García Fernández Sebastián Andrés	CVLAC: 27.403.091 E MAIL: sebastian.garcia2021@gmail.com
Rojas Cedeño Carlos Eduardo	CVLAC: 27.923.771 E MAIL: crloz.eduardo@gmail.com

**PALÁBRAS O FRASES CLAVES:**

Medicina Tradicional  
Plantas Medicinales  
Decocción  
Antibiograma  
Antifúngicos

## METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ÀREA y/o DEPARTAMENTO	SUBÀREA y/o SERVICIO
Dpto de Bioanálisis	Microbiología
	Toxicología

### RESUMEN (ABSTRACT):

El uso de plantas medicinales ha sido una práctica ancestral que ha coexistido con la medicina moderna, de esta manera se ha convertido en una alternativa a los fármacos debido a sus posibles efectos secundarios. La OMS asegura que el 80% de la población mundial utilizar el conocimiento tradicional para el tratamiento de enfermedades en razón a las propiedades y los resultados efectivos que presentan dichas plantas medicinales en enfermedades infecciosas, demostrando que las plantas poseen una fuente potencial de principios activos para el desarrollo de nuevos fármacos teniendo un efecto positivo contra una amplia gama de enfermedades. En Venezuela, un alto porcentaje de la población utiliza como medicina popular a la hoja de *Mangifera indica* (mango), debido a su fácil acceso, en diversos fines como antioxidante, antiinflamatorio, antitumoral y antimicrobiano. Se evaluó su supuesta actividad antifúngica con el extracto acuoso y etanólico frente al complejo *Candida albicans*, ya que varios estudios aseguran tener resultados positivos. Se reprodujo en condiciones controladas y de manera estandarizadas, tanto el usado por las personas en sus hogares, el extracto acuoso por decocción, como también el extracto etanólico, con el fin de evidenciar si ambos métodos poseían algún efecto antifúngico *in vitro*. Previamente se inoculó en el agar Müller-Hinton al complejo *Candida albicans*, se utilizaron discos de sensibilidad impregnados con extracto etanólico en los antibiogramas, por otro lado, con ayuda del asa calibrada se colocaron 10 lambdas del extracto acuoso en el centro de cada placa para evidenciar si hay o no inhibición. Sin embargo, no se encontró actividad antifúngica con ninguno de los extractos utilizados de *M. indica* contra el complejo *Candida albicans*, existiendo una discrepancia de los hallazgos de Reyes *et al.*, 2017 y Anand *et al.*, 2015, indicando el efecto inhibitorio que esta planta presenta debido a sus componentes bioactivos.

**METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:**

**CONTRIBUIDORES:**

<b>APELLIDOS Y NOMBRES</b>	<b>ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL</b>				
Msc. Iván Amaya	<b>ROL</b>	<b>CA</b>	<b>AS</b>	<b>TU(x)</b>	<b>JU</b>
	<b>CVLAC:</b>	12.420.648			
	<b>E_MAIL</b>	rapomchigo@gmail.com			
	<b>E_MAIL</b>				
Lcdo. Fernando Linares	<b>ROL</b>	<b>CA</b>	<b>AS</b>	<b>TU</b>	<b>JU(x)</b>
	<b>CVLAC:</b>	24.850.713			
	<b>E_MAIL</b>	fernando.lch17@gmail.com			
	<b>E_MAIL</b>				
Lcdo. Ignacio Rodríguez	<b>ROL</b>	<b>CA</b>	<b>AS</b>	<b>TU</b>	<b>JU(x)</b>
	<b>CVLAC:</b>	19.369.765			
	<b>E_MAIL</b>	ignaciojosue7@gmail.com			
	<b>E_MAIL</b>				
	<b>ROL</b>	<b>CA</b>	<b>AS</b>	<b>TU</b>	<b>JU(x)</b>
	<b>CVLAC:</b>				
	<b>E_MAIL</b>				
	<b>E_MAIL</b>				
	<b>CVLAC:</b>				
	<b>E_MAIL</b>				

**FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:**

2024 <b>AÑO</b>	02 <b>MES</b>	04 <b>DÍA</b>
--------------------	------------------	------------------

**LENGUAJE. SPA**



**METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:**

**ARCHIVO (S):**

<b>NOMBRE DE ARCHIVO</b>	<b>TIPO MIME</b>
Tesis efecto antifungico in vitro de extractos acuosos y etanolicos de mangifera indica sobre complejo candida albicans	. MS.word

**ALCANCE**

**ESPACIAL:**

Laboratorios clínicos “Sócrates Medina” y “Laboratorio 42”. Ciudad Bolívar, Estado Bolívar

**TEMPORAL: 10 AÑOS**

**TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:**

Licenciatura en Bioanálisis

**NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:**

Pregrado

**ÁREA DE ESTUDIO:**

Dpto. de Bioanálisis

**INSTITUCIÓN:**

Universidad de Oriente

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
RECTORADO

CU N° 0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano  
**Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ**  
Vicerrector Académico  
Universidad de Oriente  
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda "SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009".

Leído el oficio SIBI - 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
SISTEMA DE BIBLIOTECA  
RECIBIDO POR *[Signature]*  
FECHA 5/8/09 HORA 5:20

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

*[Signature]*  
JUAN A. BOLANOS CUNEL  
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Telesinformática, Coordinación General de Postgrado.  
JABC/YGC/maruja

Apartado Correos 094 / Telf: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

## METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO BOLÍVAR  
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD  
"Dr. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"  
COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

### METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

#### DERECHOS

De acuerdo al artículo 41 del reglamento de trabajos de grado (Vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009)

"Los Trabajos de grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizadas a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participará al Consejo Universitario "

#### AUTOR(ES)

Br.ROJAS CEDEÑO CARLOS EDUARDO  
C.I.27923771  
AUTOR

Br.GARCÍA FERNÁNDEZ SEBASTIÁN ANDRÉS  
C.I.27403091  
AUTOR

#### JURADOS

TUTOR: Prof. IVÁN AMAYA  
C.I.N. 12440648

EMAIL: 1AMAYA@uco.edu.ve

JURADO Prof. FERNANDO LINARES  
C.I.N. 24.650.713

EMAIL: fernandolc@comcast.net

JURADO Prof. IGNACIO RODRIGUEZ  
C.I.N. 19.369.765

EMAIL: Ignaciojorue7@gmail.com

P. COMISIÓN DE TRABAJO DE GRADO



DEL PUEBLO VENIMOS, HACIA EL PUEBLO VAMOS

Avenida José Méndez c/c Colombo Silva- Sector Barrio Ajuro- Edificio de Escuela de Ciencias de la Salud- Planta Baja- Ciudad Bolívar- Edo. Bolívar- Venezuela.  
Teléfono (0285) 6324976