

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO**  
**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**



**EFFECTO ANTIBACTERIANO DE LA *MUSA ACUMINATA***  
**(PLÁTANO) FRENTE AL *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC**  
**29212 - *IN VITRO***

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**CIRUJANO DENTISTA**

AUTOR:

**Bach. ORTÍZ HERNÁNDEZ, FANY**

ASESOR:

**Dra. ESPINOZA SALCEDO, MARÍA VICTORIA**

COASESORA

**Dra. MEJÍA DELGADO, ELVA**

TRUJILLO – PERÚ

2018

## DEDICATORIA

*A **Dios** en primer lugar, porque él me permitió tener salud y darme los recursos para culminar mis estudios de pre-grado. Todo lo obtenido es en su nombre.*

*A una persona que en vida se dedicó muchos años a la investigación, y sé que desde el cielo me guío durante el proceso de la elaboración de este trabajo de investigación: **Mi padre y ángel Segundo Helmer Ortíz Marín**. Quién allá arriba debe de estar muy orgulloso por verme culminar esta etapa de mi vida profesional.*

*A **mi madre** Genoveva Hernández Terán, que a pesar de las adversidades supo sacarme adelante con mucho esfuerzo. Sin su apoyo no hubiese podido culminar mi carrera universitaria.*

## AGRADECIMIENTOS

- Agradezco infinitamente a Dios, por haberme dado la vida, porque en ningún momento me abandonó, porque sin él mi vida no tendría rumbo, por darme un hogar y llenarme de amor cada día.
- A mi madre Genoveva, por luchar cada día para sacar adelante a mi familia, y darnos un plato de comida en la mesa. Por confiar en mí, brindándome todo el apoyo y cariño necesario para superar cada obstáculo.
- A la Dra. María Espinoza, por ser más que una muy buena profesional, una persona con un gran corazón y vocación de servir al prójimo. Con sus consejos y conocimientos en investigación pudo guiarme en la elaboración del presente trabajo de investigación.
- A la Dra. Elva Mejía, por su paciencia, cariño y apoyo constante para la ejecución del presente trabajo de investigación. Sin su experiencia y conocimientos no se hubiese podido realizar de manera correcta la ejecución de esta investigación.
- A todos mis docentes del pre-grado, por brindarme todos sus conocimientos para mi formación profesional.
- A todos los miembros de mi familia por confiar en mí y darme su apoyo incondicional.

## RESUMEN

El presente estudio tuvo como propósito determinar el efecto antibacteriano de la *Musa acuminata* (plátano) frente al *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 – *in vitro*.

Este trabajo de investigación fue de tipo prospectivo, transversal, comparativo y experimental. Se desarrolló en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Privada Antenor Orrego. El tamaño de la muestra estuvo conformado por 12 repeticiones para la sensibilidad bacteriana y 12 repeticiones para la Concentración Mínima Inhibitoria de la *M. acuminata* al 50%, 100%, control positivo y control negativo. Los resultados mostraron semejanza al determinar la susceptibilidad del *E. Faecalis* frente al extracto etanólico de *M.acuminata* al 100% con la clorhexidina al 0.12%. El efecto fue menor al 50%. Cuando se determinó la CMI del extracto de *M. Acuminata* frente al *E. Facalis*, se encontró semejanza entre el extracto etanólico al 100% y la clorhexidina al 0.12%. Por otro lado, el extracto etanólico al 50% tuvo menos efecto, sin embargo, se observó una diferencia altamente significativa con el control sin tratamiento. Concluyendo que la *M. acuminata* (plátano) presenta efecto antibacteriano frente al *E. Facalis* ATCC 29212 – *in vitro*.

**Palabras clave:** *Musa acuminata*, *Enterococcus Faecalis*.

## ABSTRACT

The present study aimed to determine the antibacterial effect of *Musa acuminata* (banana) against *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 - *in vitro*.

This research work was prospective, transversal, comparative and experimental. It was developed in the Microbiology laboratory of the Antenor Orrego Private University. The sample size consisted of 12 repetitions for bacterial sensitivity and Minimum Inhibitory Concentration of *M. acuminata* 50%, 100%, positive control and negative control. The results showed similarity when determining the susceptibility of *E. Faecalis* to the ethanolic extract of *M.acuminata* 100% with 0.12% chlorhexidine. The effect was less than 50%. When the MIC of the extract of *M. Acuminata* was determined against *E. Facalis*, similarity was found between 100% ethanolic extract and 0.12% chlorhexidine. On the other hand, the 50% ethanolic extract had less effect, however, a highly significant difference was observed with the control without treatment. Concluding that *M. acuminata* (banana) has an antibacterial effect against *E. Facalis* ATCC 29212 - *in vitro*.

**Key words:** *Musa acuminata*, *Enterococcus Faecalis*.

## ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	18
2. HIPÓTESIS.....	18
3. OBJETIVO DE INVESTIGACIÓN.....	18
2.1 Objetivo General.....	18
2.2 Objetivos Específicos.....	18
I. DISEÑO METODOLÓGICO	
1. Material de Estudio.....	19
1.1 Tipo de investigación.....	19
1.2 Área de estudio.....	19
1.3 Definición de la población muestral.....	19
1.3.1 Características generales.....	19
1.3.1.1 Criterios de inclusión.....	19
1.3.1.2 Criterios de exclusión.....	20
1.3.1.3 Criterios de eliminación.....	20
1.3.2 Diseño de muestreo.....	20
1.3.2.1 Unidad de análisis.....	20
1.3.2.2 Unidad de muestreo.....	20
1.3.2.3 Tamaño muestral.....	20

1.3.3 Métodos de selección.....	21
2. Método, técnica e instrumento de recolección de datos	
2.1 Método.....	21
2.2 Descripción del procedimiento.....	21
2.3 Instrumento de recolección de datos.....	33
2.4 Variables.....	34
3. Análisis estadístico de la información.....	35
II. RESULTADOS.....	36
III. DISCUSIÓN.....	41
IV. CONCLUSIONES.....	46
V. RECOMENDACIONES.....	47
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
VII. ANEXOS.....	55

## I. INTRODUCCIÓN

El *Enterococcus faecalis* es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado. El tamaño de cada célula oscila entre 0,5 y 0,8 micrómetros y es habitante normal del tracto gastrointestinal humano. Esta bacteria ha atraído recientemente la atención de diversos investigadores porque ha sido identificada como una causa frecuente de infecciones periapicales persistentes.<sup>1,2</sup>

Responsables de la endocarditis bacteriana entre el 5 y 15 % de los casos. Para combatir los enterococos es necesario combinar sinérgicamente penicilinas con aminoglucósidos (como gentamicina). Siendo una temida causa de infección nosocomial.<sup>3</sup>

El *E. faecalis* es la especie más frecuente en piezas dentales con tratamiento de conductos, con una prevalencia superior al 90%.<sup>4</sup>

Se ha demostrado que puede sobrevivir a la instrumentación químico mecánica de los conductos radiculares, colonizando los túbulos dentinarios a una profundidad de 300micras.<sup>5</sup>

El *E. faecalis* es capaz de sobrevivir aproximadamente 1 h en manos contaminadas.<sup>6</sup>

Una característica notable de *E. faecalis* la constituye su capacidad para sobrevivir y crecer en microambientes que pudieran ser tóxicos para muchas

bacterias, en particular zonas con altas concentraciones de sales (6,5% de Cloruro de Sodio), temperaturas extremas (15-60°C).<sup>1</sup>

El *E. faecalis* puede sobrevivir en condiciones ambientales en las que el pH es similar o superior a 11.5, valores similares a los que proporciona el hidróxido de calcio.<sup>7</sup>

Su eficaz bomba de protones le permite controlar su Ph interno.<sup>8</sup>

El *E. faecalis* es capaz de suprimir la acción de los linfocitos lo cual contribuye potencialmente al fracaso del tratamiento de conducto<sup>2</sup>

Posee numerosos factores de virulencia tales como gelatinasas y serina, proteasas, adhesinas como sustancia de agregación, proteína de superficie enterococcica (ESP), feromonas, proteína de adhesión al colágeno o ACE y antígeno A, y polisacáridos, tanto de su pared celular como de su cápsula.<sup>5</sup>

La gelatinasa es una metaloproteinasa hidrofóbica con la capacidad de romper insulina, caseína, hemoglobina, colágeno y fibrina.<sup>5</sup>

La adhesión a la superficie de la dentina constituye un paso esencial que determina el potencial patógeno de este microorganismo. Puesto que la dentina contiene colágeno y otras proteínas, se sugiere que las proteasas sintetizadas por *E. faecalis* así como la proteína de unión al colágeno (Ace) pudieran participar o por lo menos influir en la adhesión bacteriana, y por lo tanto permitir que la bacteria colonice el conducto radicular.<sup>1</sup>

Cuando esta especie crece en biopelículas, puede ser hasta mil veces más resistente a la acción de los antimicrobianos que cuando se halla como bacteria planctónica (suspendida en un medio líquido y no adheridas a ninguna superficie).<sup>2</sup>

A pesar de que representan sólo una pequeña proporción de la flora iniciales de los dientes no tratados con pulpas necróticas, el *E. faecalis*, se han encontrado con frecuencia en los conductos radiculares obturados que exhiben signos de periodontitis apical crónica.<sup>9</sup>

El suero procedente del hueso alveolar y ligamento periodontal le sirve de ayuda para unirse al colágeno tipo I.<sup>2</sup>

Una serie de nuevos antibióticos se han producido por las industrias farmacológicas en los últimos 30 años, la resistencia a estos fármacos por microorganismos se ha incrementado día a día.<sup>10</sup>

Durante un largo periodo de tiempo, las plantas han sido una valiosa fuente de productos naturales para el mantenimiento de la salud humana, especialmente en la última década, con los estudios más intensivos para las terapias naturales. Este conocimiento indígena, se transmite de generación en generación en diversas partes del mundo, ha contribuido de manera significativa al desarrollo de diferentes sistemas tradicionales de la medicina,

así como ayudado en la exploración de diferentes plantas medicinales para encontrar la base científica de su tradicional uso.<sup>10</sup>

El uso de compuestos naturales obtenidos de plantas data de mucho tiempo atrás. Existen pruebas de que los hombres del Neandertal que ocuparon Irak hace 60.000 años usaban las plantas con fines medicinales. Posteriormente, a lo largo de la historia existen otros ejemplos bien documentados, como son las figuras de Hipócrates en la medicina griega, Avicena en la árabe y Paracelso en la centroeuropea, que fueron auténticos especialistas en la aplicación de las plantas en medicina. Un ejemplo relacionado con nuestra cultura es el primer antipalúdico, que toma su nombre de cuando con él fue tratada la condesa de Chinchón, la virreina del Perú en el siglo XVII, pasándose a denominar la planta *Cinchona officinalis* y el principio activo quina.<sup>11</sup>

Alrededor del 80% de las personas de los países desarrollados utilizan la medicina tradicional, que cuenta con compuestos derivados de plantas medicinales. Por lo tanto, dichas plantas deben ser investigadas para comprender mejor sus propiedades, seguridad y eficiencia.<sup>10</sup>

Se han aislado alrededor de 12.000 compuestos procedentes de organismos vegetales y se estima que constituyen tan sólo el 10% de los metabolitos secundarios. Un porcentaje importante posee cierta actividad frente a los microorganismos. La razón de ser de estos compuestos se desconoce por el

momento. Existen distintas teorías: podrían ser compuestos con diferentes funciones y que de forma accidental aportan un poder antimicrobiano, o realmente tienen una actividad antimicrobiana como primer fin.<sup>11</sup>

La *Musa sp.* (*Musa ceae*) también conocido como el plátano es una fruta tropical conocida e importante fuente de alimentos en el mundo. Desde su casa Pacífico Sur occidental nativo, la planta de banano se extendió a la India por el año 600 aC y más tarde se extendió por todo el mundo tropical. Es posiblemente la cosecha cultivada más antigua del mundo.<sup>10</sup>

La familia *Musaceae* presenta los siguientes componentes químicos no alimenticios: fructosanos, ácido fenólico, antocianinas, terpenoides, esteroides alcaloides aislados como la amina alcaloídica y alcaloides indólicos, además la savia de plátano está constituida por agua en un 85%. En el extracto de la hoja se encontró una mezcla de polihidroxifenoles y taninos, además posee propiedades antibióticas, contra el *Mycobacterium phlei* y *Rhodococcus*.<sup>12</sup>

Los compuestos fenólicos son constituyentes importantes del fruto porque exhiben actividad antioxidante por inactivación de radicales libres o prevención de la descomposición de hidroperóxidos en radicales libres.<sup>10</sup>

La *M. acuminata* presenta un látex que es de consistencia lechosa en cuyo estudio fitoquímico se han determinado componentes más característicos, encontrándose proteínas, gomas, mucilagos, saponinas, almidón, resinas,

taninos, compuestos reductores, coumarinas, flavonoides, esteroides y triterpenoides, algunos de los cuales tienen importancia desde el punto de vista farmacológico.<sup>13</sup>

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos.<sup>14</sup>

Estos compuestos fueron descubiertos por el premio Nobel Szent-György, quien en 1930 aisló de la cáscara del limón una sustancia, la citrina, que regulaba la permeabilidad de los capilares. Los flavonoides se denominaron en un principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C<sub>2</sub> (porque se comprobó que algunos flavonoides tenían propiedades similares a la vitamina C). Sin embargo, el hecho de que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950.<sup>14</sup>

El creciente interés en los flavonoides se debe a la apreciación de su amplia actividad farmacológica. Pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; quelar iones metálicos transitorios, tales como Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, catalizar el transporte de

electrones, y depurar radicales libres. Debido a este hecho se han descrito efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal, e inflamaciones. Otras actividades que merecen ser destacadas son sus acciones antivirales y antialérgicas, así como sus propiedades antitrombótica y antiinflamatorias.<sup>14</sup>

Actúan como estabilizadores de la membrana protegiendo de forma eficaz la estructura y función de las células por tanto impiden que las radiaciones ultravioletas y los radicales libres ataquen piel, mucosas y otros tejidos además de ayudar a la recuperación de las zonas lesionadas.<sup>15</sup>

Se ha descrito su capacidad de modificar la síntesis de eicosanoides (con respuestas anti-prostanoide y anti-inflamatoria), de prevenir la agregación plaquetaria (efectos antitrombóticos).<sup>14</sup>

Posee propiedades medicinales eficaces, tales como el jugo del tallo también se utiliza en afectaciones nerviosas como la epilepsia, la histeria, en la disentería y la diarrea. Varios oligosacáridos que comprenden fructosa, xilosa, galactosa, glucosa y manosa se producen naturalmente en plátano por lo que es un excelente probiótico para el crecimiento selectivo de bacterias beneficiosas en el intestino. Ayuda en la lucha contra la diarrea y la disentería y promueve la curación de las lesiones intestinales en la colitis ulcerosa.<sup>10</sup>

Tienen propiedades analgésicas y utilidad terapéutica en el tratamiento de enfermedades respiratorias crónicas como el asma bronquial, así como también la úlcera péptica.<sup>13</sup>

Varios estudios coincidieron en la capacidad de inhibir la síntesis de anticuerpos, carecer de efectos citotóxicos, además de potenciar la respuesta inmune.<sup>16</sup>

El valor nutricional de los plátanos se destaca por el alto consumo de azúcares, fibra, vitaminas y minerales y el muy bajo consumo de grasas. Se ha estimado que *Musa* comprende alrededor de 70 especies y más de 500 variedades, y nuevas especies aún por descubrir.<sup>17</sup>

Las inflorescencias revelan un alto porcentaje de fibras insolubles al 49.83% (lignina, celulosa y hemicelulosa). Mostrando importantes propiedades funcionales ya que en el consumo diario en adultos debe ser de 25g de fibra al día.<sup>18</sup>

En Europa, la tasa de resistencia a distintos tipos de antibióticos para *E. faecalis* ha ido aumentando a lo largo de esta última década, observándose como la resistencia para gentamicina, que ha aumentado de un 32.1% en el 2001 a un 40.4 % en 2007.<sup>6</sup>

Los microorganismos tienden a ubicarse en zonas específicas del conducto radicular, que garanticen su supervivencia, así como también el poder de

expresar los factores de patogenicidad que les permitan agregarse, penetrar y colonizar los tejidos afectados.<sup>19</sup>

En el tratamiento de la patología pulpo-periapical, uno de los objetivos fundamentales del tratamiento endodóncico consiste en conseguir la máxima eliminación de los microorganismos residentes en los conductos radiculares de los dientes a tratar.<sup>7</sup>

El medio que permite cumplir mayormente este objetivo es la combinación de la instrumentación (limpieza mecánica de las paredes dentinarias internas del canal mediante instrumental endodóncico estandarizado) y la irrigación de los conductos mediante soluciones que posean capacidad antiséptica, pero que no sean excesivamente irritantes para el tejido conectivo periapical.<sup>7</sup>

Después de los pasos descritos anteriormente se realiza la obturación, que tiene como objetivo proveer un sellado completo a lo largo de la longitud del sistema de conductos radiculares asegurando la cicatrización y salud de los tejidos periradiculares.<sup>20</sup>

En la actualidad se especula que el trasudado que continuamente se filtra hacia el conducto mal obturado o no obturado proviene directamente del suero sanguíneo el cual se degrada en el fondo de saco del conducto y posteriormente se difunde a los tejidos periapicales, actuando como irritante fisicoquímico produciendo la inflamación periapical característica de la

periodontitis apical. Esto podría explicar la razón de la lesión periapical asociada a un diente despulpado no infectado.<sup>20</sup>

El conducto radicular preparado en tres dimensiones, deberá ser obturado con un relleno que conforme una masa homogénea. Esta carencia en la porción apical y coronal puede proporcionar vías para la filtración u ocasionar que los líquidos se estanquen favoreciendo el crecimiento bacteriano o la reinfección, produciéndose así el fracaso.<sup>20</sup>

Estudios han demostrado que los conos de gutapercha, utilizados para la obturación, pueden presentar contaminación al ser tomados directamente del empaque, aún sellado y recién abierto; estas puntas son fácilmente colonizadas por microorganismos.<sup>4</sup>

Por sus características termoplásticas, la gutapercha no puede ser esterilizada con calor. Por lo que es necesaria la implementación de un método confiable, económico, y eficiente, que produzca los mejores resultados en la menos cantidad de tiempo.<sup>4</sup>

Una buena restauración coronal aunada a un buen tratamiento de conductos da como resultado un mayor porcentaje de éxito en el tratamiento.<sup>5</sup>

La filtración coronal del sistema de conductos radiculares también ha sido considerada una causa importante del fracaso en la terapia del tratamiento de conductos.<sup>21</sup>

Cuando el tratamiento de conductos radiculares ha fracasado, está indicada la cirugía periapical.<sup>22</sup>

Bonilla y cols<sup>23</sup> (2017) Evaluaron el efecto inhibitorio del extracto líquido de *Musa acuminata* (plátano var. seda) frente A *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (sarm) y evaluación de la toxicidad en *Artemia salina*. La muestra fue 25, correspondiente a la interacción entre 5 cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina y 4 concentraciones (5, 10, 20, 30, % v/v) del extracto líquido de *Musa acuminata* plátano var seda, más un control, considerando 3 repeticiones, correspondió a un total de 75 unidades experimentales.

Para la evaluación de la toxicidad, la población y muestra fueron 40 cistos de *Artemia salina*, obtenidas de la interacción entre las 4 concentraciones y 10 nauplius por concentración. Considerando 3 repeticiones dio un total de 120 unidades experimentales.

Los resultados obtenidos demostró que el número de colonias de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticiclina (sarm), expresado en mL fue decreciendo conforme aumentaba la concentración de la solución del extracto líquido de *Musa acuminata*. Se observó que hubo completa inhibición en las concentraciones de 30% v/v en las cepas 3, 4 y 5. Los resultados también mostraron una pequeña inhibición en las concentraciones de 5% v/v en todas

las cepas estudiadas, siendo las que mostraron una menor inhibición las cepas 1 y 2.

Concluyendo que el extracto líquido de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda a las concentraciones 5, 10, 20 y 30% v/v inhibieron a *S. aureus* resistente a meticilina, con una completa inhibición al 30% v/v en las cepas 3, 4 y 5; a la misma concentración la inhibición fue menor en las cepas 1 y 2 con un crecimiento final de  $3 \times 10^5$  ufc/mL y  $6 \times 10^5$  ufc/mL respectivamente.

El efecto inhibitorio in vitro del extracto líquido de *Musa acuminata* (plátano Var. Seda) frente a *S. aureus* resistente a meticilina es dependiente de la cepa y directamente proporcional a la concentración.

El extracto líquido de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda no es toxico para *Artemia salina*.

Bacarin y cols <sup>27</sup> (2013) Evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto glicólico de *Musa Mp* sobre *Enterococcus faecalis*. Utilizaron dos grupos: A y B. Don el grupo A estuvo conformado por: G1: Polietilglicol (control negativo); G2, Polietilglicol y  $Ca(OH)_2$ ; y G5: Gel de clorhexidina al 2% (control positivo). Grupo B: G1, Polietilglicol (control negativo); G2, Polietilglicol y ZnO; G3, Polietilglicol,  $Ca(OH)_2$  Y ZnO; G4, ZnO y Extracto glicólico de Musa; G5, Extracto glicólico,  $Ca(OH)_2$  y ZnO; y G6, Clorhexidina control positivo. Se comprobó que la carpeta compuesta de

Extracto glicólico de *Musa* y ZnO ha obtenido resultados compatibles de inhibición bacteriana con la Clorhexidina que era el control positivo. Concluyendo que evidenciaron la actividad antimicrobiana de la pasta compuesta por extracto glicólico de *Musa* y óxido de cinc frente a *Enterococcus faecalis*.

Ponmurugan y col <sup>10</sup> (2013) Evaluaron ofrecer antimicrobianos apropiados y eficientes para el mundo médico. La muestra que utilizaron para el estudio fueron *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *K. pneumoneae*, *P. mirabilis*, *S. flexneri*, *Citrobacter sp.*, *S. aureus* y *E. faecalis* (VRE). *M. paradisiaca* y *M. acuminata* fueron capaces de inhibir 90% de los patógenos bacterianos, *M. troglodytarum* exhibió muy baja actividad bactericida. Concluyeron que entre las diferentes especies de *Musa*, *Musa paradisiaca* muestra actividad antibacteriana eficaz seguido de *Musa acuminata* contra infecciones multi-resistentes causadas por patógenos nosocomiales.

Venkatesh y cols <sup>24</sup> (2013) Evaluaron la actividad antibacteriana del extracto de etanol de *Musa Paradisiaca* y *Musa acuminata*. Utilizaron bacterias patógenas humanas Gram positivas: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y bacterias Gram negativos: *E. Coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonell typhi*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella paratyphi*. En el método de difusión de agar, el extracto de *M. paradisiaca* mostró un nivel

significativo de inhibición bacteriana contra *P. vulgaris* ( $19.78 \pm 0.40$ ), *P. aeruginosa* ( $19.67 \pm 0.41$ ) y *S. aureus* ( $17.44 \pm 0.50$ ). Mostró actividad moderada contra *S. typhi* ( $16.89 \pm 0.48$ ), *S. paratyphi* ( $16.67 \pm 0.37$ ), *K. pneumoniae*  $15.56 \pm 0.50$ , *B. subtilis* ( $15.11 \pm 0.42$ ), y muy inferior contra *E. coli* ( $09.11 \pm 0.39$ ). El extracto de *M. acuminata* mostró un nivel significativo de inhibición bacteriana contra *P. vulgaris* ( $18.89 \pm 0.42$ ), *P. aeruginosa* ( $13.44 \pm 0.47$ ) y *S. aureus* ( $15.56 \pm 0.38$ ). Mostró actividad moderada contra *S. typhi* ( $15.67 \pm 0.44$ ), *S. paratyphi* ( $20.44 \pm 0.56$ ), *K. pneumoniae* ( $14.33 \pm 0.33$ ), *B. subtilis* ( $14.00 \pm 0.41$ ) y muy poco contra *E. coli* ( $12,44 \pm 0,53$ ). Los extractos de *M. paradisiaca* y *M. acuminata* requirieron de una cantidad relativamente menor para inhibir el crecimiento de microorganismos probados (CMI). Concluyeron que los extractos de etanol de *M. paradisiaca* y *M. acuminata* mostraron amplio espectro antibacteriano en los microorganismos probados con alto potencial inhibitorio contra *P. vulgaris* y *S. paratyphi*.

Ortíz <sup>12</sup> (2012) Comprobó la propiedad bactericida de la savia de *Musa acuminata* individualmente y asociada con kanamicina y etionamida. Su muestra estuvo constituida por 18 cobayos. Observó una disminución sucesiva de los monocitos y ausencia de granulomas en los pulmones recién extraídos. Concluyendo que la savia de *Musa acuminata* elimina los *M. tuberculosis* con

30 dosis, y utiliza en asociación con Kanamicina y Etionamida, elimina *el M. Tuberculosis* con 16 dosis.

Saravia y cols <sup>12</sup> (2011) Evaluaron el efecto de la savia liofilizada de *M. acuminata Colla* sobre la activación "in vitro" de los macrófagos peritoneales y la producción de anticuerpos en *Mus musculus* BALB/c infectados experimentalmente con *E. coli*. Su muestra estuvo constituida por 22 especímenes de *Mus Musculus* BALB/c. Los resultados fueron que en la activación de macrófagos fue mayor a una concentración de 8.75 ug/mL y en el aumento de anticuerpos no hubo diferencia entre las concentraciones de 20mg y 10mg. Las conclusiones fueron que la savia de *M. acuminata* favorece al aumento del índice de fagocitos y anticuerpos en *Mus Musculus* BALB/c.

Reyes <sup>2</sup> (2011) Evaluó la Concentración mínima inhibitoria del efecto antibacteriano del extracto etanólico del propóleo sobre *E. Faecalis*. Utilizó 7 concentraciones del extracto etanólico de Propóleo: al 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y un grupo control. Las enfrentó contra la bacteria *E Faecalis*. Los resultados con respecto al promedio de diámetro de inhibición: el extracto de propóleo al 30% (de 6 a 7mm), 40% (de 6.5 a 8mm), 50% (de 7 a 8mm), 60% (de 7 a 9mm), 70% (de 8 a 11mm), 80% (de 7 a 10mm), 90% (de 8 a 10mm). Con respecto a las UFC: el extracto de propóleo al 30% (21.70 UFC), 40% (20.50 UFC), 50% (17.30 UFC), 60% (17.60 UFC), 70% (17.70

UFC), 80% (18.30 UFC), 90% (17.20 UFC). Concluyendo que el extracto de propóleo al 30% y 40% presenta una actividad antibacteriana casi nula en comparación con las demás soluciones, presentando éstas un halo de inhibición que va de 6 a 7mm. Que a mayor concentración del extracto, mayor es el efecto antibacteriano, siendo la concentración del 90% la más efectiva. La concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico del propóleo sobre el *E. Faecalis* es de 50%.

Ingale y cols <sup>25</sup> (2009) Estudiaron la actividad analgésica del tallo de *Musa sapientum*. Se usaron ratones albinos que pesaban 20 – 25mg, se dividieron en 6 grupos de 5 cada uno. A los animales se les colocó en una placa caliente y se midió en un cronómetro hasta que saltaron o lamieron. Los resultados obtenidos para los extractos acuosos (AMS) y etanólicos (EMS) de *Musa sapientum* administrados por vía intraperitoneal en dosis de 100 y 200 mg / kg en ratones ha demostrado una actividad analgésica significativa en el método de placa caliente y método de inmersión de cola según lo confirma el aumento en el tiempo de reacción a los 15, 30, 60 y 90 min. . Se observó el máximo efecto analgésico a los 30 min.de intervalo. Concluyendo que existe efecto analgésico.

A lo largo de los últimos años, se han realizado innumerables trabajos de investigación, tratando de hallar algún medicamento intraconducto radicular o soluciones irrigadoras, para la erradicación total del *Enterococcus Faecalis*, bacteria altamente resistente a los antibióticos, sobre todo a medicaciones intraconducto, y presente en un gran porcentaje dentro de los conductos radiculares con tratamientos endodónticos fallidos. En el presente proyecto de investigación, queremos plantear, una alternativa no convencional, de erradicación contra esta bacteria que ha sido de mucho interés para la sociedad endodóntica durante muchos años, y poder contribuir con los estudios previos, para poder beneficiar a toda la comunidad odontológica que cada día trata de eliminar a este patógeno causante del fracaso endodóntico.

## **1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:**

Existe efecto antibacteriano de la *Musa acuminata* (plátano) frente al *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 - *in vitro*?

## **2. HIPÓTESIS:**

*La Musa acuminata* presenta efecto antibacteriano frente al *E. Faecalis* ATCC 29212 - *in vitro*.

## **3. OBJETIVOS:**

### **3.1 General:**

Determinar el efecto antibacteriano de la *Musa acuminata* frente al *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 - *in vitro*.

### **3.2 Específicos:**

Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 frente a la *Musa acuminata* - *in vitro*.

Determinar la susceptibilidad del *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 frente a la *Musa acuminata* - *in vitro*.

## II. DISEÑO METODOLÓGICO

### 1. MATERIAL DE ESTUDIO

#### 1.1. Tipo de investigación:

Según el periodo en que se capta la información	Según la evolución del fenómeno estudiado	Según la comparación de poblaciones	Según la interferencia del investigador en el estudio
Prospectivo	Transversal	Comparativa	Experimental

#### 1.2. Área de estudio:

Laboratorio de la Sección de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Privada Antenor Orrego.

#### 1.3. Definición de la población muestral:

##### 1.3.1. Características generales:

##### 1.3.1.1. Criterios de inclusión:

- ✓ Placas Petri que presenten el caldo de cultivo *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- ✓ Placas Petri que se encuentren en buenas condiciones y esterilizadas óptimamente.

### 1.3.1.2. Criterios de exclusión:

- ✓ Placas Petri que no hayan seguido el correcto proceso de esterilización.

### 1.3.1.3. Criterios de eliminación:

- ✓ Placas Petri que presenten el crecimiento de cualquier otra bacteria o microorganismo que no sea la de estudio *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- ✓ Placas de Petri que durante el procedimiento hayan sufrido algún daño físico o deterioro

## 1.3.2. Diseño estadístico de muestreo:

### 1.3.2.1. Unidad de análisis:

Placas Petri con el cultivo de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 que cumpla con los criterios de inclusión.

### 1.3.2.2. Unidad de muestreo:

Placas Petri con el cultivo de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 que cumpla con los criterios de inclusión.

### 1.3.2.3 Tamaño Muestral:

Para determinar el tamaño de la muestra se usó de la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 (S_1^2 + S_2^2)}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

## Dónde:

$Z\alpha = 1.96$  para un  $\alpha = 0.05$ .

$Z\beta = 0.84$  para un  $\beta = 0.20$ .

$\bar{X}_1 = 9.3$  promedio de halo para una concentración del 100% del extracto etanólico de la *Musa acuminata* según muestra piloto.

$\bar{X}_2 = 7.7$  promedio de halo para una concentración del 50 % del extracto etanólico de la *Musa acuminata* según muestra piloto.

$S_1 = 1.85$  desviación estándar del diámetro del halo para una concentración del 100% del extracto etanólico de *Musa acuminata* según muestra piloto.

$S_2 = 0.67$  desviación estándar del diámetro del halo para una concentración del 50% del extracto etanólico de *Musa acuminata* según muestra piloto.

**Reemplazando:** 
$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 (1.85^2 + 0.67^2)}{(9.3 - 7.7)^2} = 12 \text{ repeticiones}$$

La muestra estuvo conformada por 12 repeticiones de placas petri correspondientes para cada tratamiento.

### 1.3.3 Método de Selección:

La selección de la muestra se realizó a través de un método no probabilístico, a conveniencia de la investigadora hasta completar el número requerido.

## 2.-Método, técnica e instrumento de recolección de datos:

**2.1. Método:** Observación.

**2.2. Descripción del procedimiento:**

**2.2.1. Proyecto Piloto:**

Previo a la ejecución del presente proyecto se realizó un estudio piloto por carencia

de estudios previos que evidenciaron el uso de la *Musa acuminata* en los porcentajes de 50% y 100% frente al *E. Facalis*. Se llevó a cabo siguiendo los mismos pasos pensados para el estudio real y siguiendo los mismos objetivos. Se utilizó 5 placas Petri para el extracto etanólico de *Musa acuminata* al 50%, 100%, control positivo y control negativo, tanto para la Concentración Mínima Inhibitoria cómo para la Sensibilidad bacteriana. Siendo un total de 40 placas Petri. Los resultados obtenidos a las 24 horas fueron los siguientes: Para la sensibilidad bacteriana del extracto etanólico de *M. acuminata* al 50% (7.7mm), para el extracto etanólico de *M. acuminata* al 100% (9.3mm) y para el control positivo (Clorhexidina 0.12%) 9.4mm. Para la CMI no hubo diferencia significativa entre los extractos de *M. acuminata* (50% y 100%) con el control positivo (Clorhexidina 0.12%).

Los resultados que se obtuvieron se llevaron al estadístico para que formule la muestra del proyecto definitivo.

### **2.2.2. De la aprobación del proyecto:**

El primer paso para la realización del presente estudio de investigación fue la obtención del permiso para la ejecución, mediante la aprobación del proyecto por la Unidad de Investigación Científica de la Escuela de Estomatología de la Universidad Privada Antenor Orrego con la correspondiente Resolución Decanal.

### **2.2.3. De la autorización para la ejecución:**

Una vez aprobado el proyecto, se procedió a solicitar el permiso para poder trabajar en el Laboratorio de Microbiología y Farmacognosia de la Facultad de Medicina de la Universidad Privada Antenor Orrego.

La presente investigación fue desarrollada por la investigadora principal, bajo la supervisión de la Coasesora microbióloga.

### **2.2.4. Del entrenamiento de la investigadora:**

La investigadora se certificó con un Microbiólogo experto en el tema, para lo cual se realizó la lectura de un número de 48 placas petri para el conteo de las UFC mediante la inspección visual de cada placa y también se repitió un número de 48 placas petri para la medición con un vernier los halos de inhibición en milímetros entre la investigadora y el experto.

### **2.2.5. Obtención de la cepa:**

En este estudio se utilizó un cultivo de la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

### **2.2.6. Preparación del inóculo:**

Se hicieron diluciones de cada una de las cepas en caldo de triglicolato estéril, hasta que se obtuvo una turbidez semejante al tubo del Nefelómetro de Mc Fraland (suspensión experimental) que corresponde a 10<sup>8</sup> bacterias / mL.

### **2.5.7. Cultivo de la cepa:**

Las cepas estándar de *E. Faecalis* fueron cultivadas en medio agar Müller Hilton e incubadas a 37° por 24 horas en microanaerobiosis (5 a 10% de CO<sub>2</sub> ) en jarra Gaspak.

El cultivo de las cepas se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Privada Antenor Orrego, por la investigadora principal, bajo la supervisión de la coasesora Microbióloga.

### **2.2.8. Obtención del extracto etanólico de la *Musa acuminata*:**

#### **2.2.8.1 Recolección:**

Se recolectaron los tallos de la *Musa acuminata* en el Distrito de Laredo, Provincia de Trujillo, Departamento de la Libertad. Ubicado a 8° 5'31''S78°57'39.54'' O y 89 msnm de Altitud. (**Anexo 6**)

#### **2.2.8.2. Selección:**

Una vez realizada la recolección de la muestra se procedió a hacer la selección de la materia vegetal con el objeto de obtener sólo los de tamaño uniforme y separar las partes deterioradas.

#### **2.2.8.3. Identificación:**

La planta medicinal seleccionada, se llevó al Herbario Truxillensis de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación taxonómica.

#### **2.2.8.4 Lavado y desinfección:**

Los tallos recolectados fueron lavados con agua corriente.

#### **2.2.8.5 Extracción de la savia *Musa acuminata*:**

La savia de *Musa acuminata* fue extraída mecánicamente del material vegetal exprimiendo y dejando caer las gotas de savia, posteriormente, ésta se filtró utilizando algodón y el filtrado se guardó en frascos de color ámbar, de inmediato se llevó al laboratorio.

#### **2.2.8.6 Preparación del Extracto Etanólico de la savia de *Musa acuminata*:**

Después de obtener la savia del plátano se procedió a llevar la savia a baño maría durante 40 min aprox para evaporar el agua que contiene la savia. Posteriormente se colocó 150mL de alcohol de 70°. Se prepararon dos extractos alcohólicos por maceración durante 8 días a 37°C en estufa; luego se filtró varias veces con papel filtro whatman número 40 y se obtuvo la solución etanólica de la *M. acuminata*.

Después fue sometido a un rotavapor a 40°C hasta obtener un extracto seco. A partir de ese extracto se procedió a hacer las diluciones correspondientes, para obtener los extractos al 50 % y 100%.

#### **2.2.8.7 Tamizaje Fitoquímico de la *Musa acuminata*:**

##### **2.2.8.7.1 Preparación de los extractos:**

Para la preparación de los 4 tipos de extractos (diclorometánico, metanólico, acuoso

– ácido y acuoso) se tomaron 20 mL de la savia y se colocaron respectivamente en 12 cápsulas de porcelana, para posteriormente llevarlos a extracto blando con ayuda de una estufa. Se redisolvió el extracto blando en 20 mL. de cada solvente utilizando tres cápsulas para cada uno respectivamente. Los extractos se filtraron y guardaron en frascos ámbar para su posterior utilización.(**Anexo 7**)

#### **2.2.8.7.2 Identificación Fitoquímica:**

**A. Extracto diclorometánico:** Se identificaron compuestos de muy baja polaridad como: Esteroles, Quinonas.

**Ensayo de Liebermann-Burchard:** Se midieron X gotas del extracto en una cápsula, se llevó a sequedad y se agregaron X gotas de Anhídrido acético, XX gotas de ácido Acético y 1 gota de ácido sulfúrico concentrado.

Reacción Positiva: La reacción será positiva si aparece coloración azul, verde o naranja.

**Ensayo de Bortranger:** Se midieron X gotas del extracto en una cápsula, se llevó a sequedad, luego se redisolvió en XX gotas de tolueno, se transvasó a un tubo de ensayo y se agregaron XX gotas de NaOH 10%. Se agitó mezclando las fases y se dejó en reposo hasta su separación.

Reacción Positiva: El ensayo se considera positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo.

**B. Extracto matanólico:** Se identificaron compuestos de polaridad muy variada, como: Esteroles, Flavonoides, Polifenoles, Taninos y alcaloides.

**Ensayo de Liebermann-Burchard:** Se midieron X gotas del extracto en una cápsula, se llevó a sequedad y posteriormente se extrajo con 1 mL de diclorometano, se evaporó el solvente y luego se agregaron X gotas de Anhídrido acético, XX gotas de Ácido Acético y 1 gota de ácido sulfúrico concentrado.

Reacción Positiva: La reacción es positiva si aparece coloración azul, verde o naranja.

**Ensayo de Shinoda:** Se midieron X gotas del extracto y se agregó limadura de magnesio más II gotas de HClcc.

Reacción Positiva: La reacción es considerada positiva con las coloraciones roja (flavonas), roja a crimson (flavonoles), crimson a magenta (flavanonas) y algunas veces azules o verdosas.

**Ensayo de Tricloruro férrico:** Se midieron X gotas del extracto y se agregaron II gotas de Cloruro Férrico.

Reacción Positiva: La reacción será considerada positiva con la aparición de un

color azul – negruzco, lo cual nos indica presencia de polifenoles.

**Ensayo de Gelatina:** Se midieron XX gotas del extracto, en una capsula, se llevó a sequedad y redisolvió en XX gotas de agua, se trasvasó a un tubo de ensayo y luego se añadió 1 gota de solución reactiva de gelatina al 1%.

**Reacción Positiva:** El ensayo se considera positivo al observar un precipitado blanco, el cual nos indica la presencia de Taninos.

**Ensayo de Dragendorff:** Se midieron XX gotas del extracto en una cápsula, se llevó a sequedad y redisolvió con XX gotas de solución de ácido clorhídrico al 1%. En seguida se agregaron II-III gotas de reactivo.

Reacción Positiva: La reacción es considerada positiva con la formación de precipitados de color rojo o anaranjado

**Ensayo de Mayer:** Se midieron XX gotas del extracto en una cápsula, se llevó a sequedad y redisolvió con XX gotas de solución de ácido clorhídrico al 1%. Luego se agregaron II-III gotas de reactivo.

Reacción positiva: La reacción es considerada positiva con la formación de precipitados de color blanco, blanco amarillento o amarillo limón claro.

**C. Extracto acuoso – ácido:** Se identificaron compuestos de alta polaridad como: Flavonoides, Leucoantocianidinas, Saponinas, Taninos.

**Ensayo de Shinoda:** Se midieron X gotas del extracto, se llevó a sequedad, se redisolvió en 1 mL de metanol y se transvasó a un tubo de ensayo agregando posteriormente limadura de magnesio más II gotas de HCLcc.

Reacción Positiva: La reacción es considerada positiva con la aparición de coloraciones; roja (flavonas), roja a crimson (flavonoles), crimson a magenta (flavanonas) y algunas veces azules o verdosas.

**Ensayo de Rosenhein:** Se midieron X gotas del extracto, se llevó a sequedad; luego agregaron X gotas de solución de ácidoclorhídrico. La reacción es 2N/1 – propanol. Hervir en baño de agua de 15 – 30 minutos.

Reacción Positiva: La reacción es considerada positiva con la aparición de coloración roja en la fase acuosa, lo cual a su vez nos indica la presencia de leucoantocianidinas.

**Ensayo de Espuma:** Se midieron XX gotas del extracto. Se agitó vigorosamente por 30 segundos y se esperó 15 minutos en reposo.

Reacción Positiva: La persistencia de la espuma nos indica la presencia de saponinas.

**Ensayo de Gelatina:** Se midieron XX gotas del extracto en una capsula, se llevó a sequedad y se redisolvió en XX gotas de agua, se transvasó a un tubo de ensayo y

luego se añadió 1 gota de solución de gelatina al 1%,

Reacción Positiva: El ensayo se considera positivo al observar un precipitado blanco, el cual nos indica la presencia de Taninos.

**(Anexo 5)**

### **2.2.9. De la Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria:**

Se determinó la CMI mediante la técnica de microdilución en tubos, los cuales se dividieron en 4 grupos: el extracto etanólico de *M. acuminata* al 50%, 100%, un control positivo con clorhexidina al 0.12% y un control negativo sin extracto.

En cada tubo había 0.7mL de cada concentración a los cuales se agregó 0.3mL de la cepa *E. Faecalis ATCC 29212*, posteriormente se incubaron en microanaerobiosis por 24 horas en jarra Gaspak a 37° C.

Luego de 24 horas de incubación se determinó las UFC, para lo cual se sembró 0.1 mL de las soluciones de cada uno de los tubos procesados en placas Petri con agar Muler Hilton, distribuyéndola en toda la superficie de la placa con ayuda de una asa de Driglasky, dichas placas fueron colocadas en jarra Gaspak y llevados a una estufa por 24 hrs. A 37° C en condiciones de microanaerobiosis, todo el procedimiento se llevó a cabo dentro del diámetro de 10 cm de la llama de un mechero.

Finalmente se procedió a la observación del crecimiento bacteriano mediante el conteo de las Unidades Formadoras de Colonias, considerándose como la CMI a la menor concentración en la cual se observan UFC. **(Anexo 9)**

Considerándolo: Inhibición: Menor de 30 UFC, no inhibición mayor de 30 UFC

### **2.2.10. De la determinación de la susceptibilidad antibacteriana:**

Se determinó mediante el método de Kirby Bauer a través de la difusión de discos antibacterianos. Se prepararon discos de papel filtro estériles, los cuales se sumergieron dentro de las concentraciones experimentales y la solución control.

Se prepararon las placas Petri con medio Agar Muller Hilton, sobre las cuales se sembró el *E. Faecalis ATCC 29212*, la siembra se realizó por la técnica en camada utilizando hisopos estériles embebidos en los cultivos de la respectiva bacteria; se procedió al sembrado en camada en placas Petri conteniendo Agar Muller Hilton, se hisopeó uniformemente sobre toda la superficie del agar, girando cada placa 30 grados 10 veces aproximadamente.

Previamente se prepararon discos de papel de filtro estériles de 6mm de diámetro, los cuales fueron sumergidos dentro de las concentraciones 50%, 100% del extracto etanólico de *M. acuminata* y clorhexidina al 0.12% por un periodo de una hora, luego con una aguja estéril estos se colocaron sobre los cultivos de *E. Faecalis ATCC 29212* en las placas Petri previamente preparadas; todo el procedimiento se llevó a cabo dentro del diámetro de 10 cm de la llama de un mechero; se realizaron 12 repeticiones para cada concentración experimental y grupos control. Las placas mantuvieron en la misma posición por un periodo de 10 minutos.

Posteriormente, las placas se voltearon de posición y se incubaron en

microanaerobiosis utilizando la jarra Gaspack, con el método de la vela, mediante el cual se obtiene un ambiente aproximadamente de 5 a 10% de CO<sup>2</sup>, a una temperatura de 37° c durante 24 horas.

La lectura se llevó a cabo a las 24 horas mediante la inspección visual de cada placa.

La medición se efectuó tomando el registro en milímetro de los halos de inhibición del crecimiento de *E. Faecalis*. (**Anexo 8**)

**Escala de Duraffourd:** Escala utilizada para determinar cualitativamente el efecto inhibitorio in vitro, según diámetro de inhibición 26 :

- ✓ Nula (-): para un diámetro inferior a 8mm.
- ✓ Sensible (= +): para un diámetro comprometido entre 8 a 14mm.
- ✓ Muy sensible (= ++): para un diámetro entre 14 y 20 mm.
- ✓ Sumamente sensible (+++): para un diámetro superior a 20 mm.

### **2.3 Instrumento de recolección de datos:**

Para efectos de la investigación, la autora elaborará dos fichas, en el cual registró los datos obtenidos y el instrumento (**Anexo 1 y 2**). El instrumento contiene:

**1. El conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC)**

**2. Promedio de halos de inhibición expresada en milímetros (mm)**

## 2.4 Variables:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	SEGÚN SU NATURAL EZA	SEGÚN SU ESCALA DE MEDICIÓN	SEGÚN SU FUNCIÓN
<i>Musa Acuminata</i>	<p>También conocida como el plátano es una fruta tropical conocida e importante fuente de alimento en el mundo. Desde su casa Pacífico sur occidental nativo, se extendió a la India por el año 600 aC y más tarde por todo el mundo tropical.<sup>10</sup></p>	<p>✓ 100 %</p> <p>✓ 50 %</p>	Cuantitativa	Razón	Independiente
<i>Enterococcus Faecalis</i>	<p><i>E. faecalis</i> es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado. El tamaño de cada célula oscila entre 0,5 y 0,8 micrómetros y es habitante normal del tracto gastrointestinal humano<sup>1</sup></p>	Sensibilidad o Resistencia bacteriana	Cualitativa	Nominal	Dependiente
		Concentración mínima bactericida	Cualitativa	Nominal	

#### **IV. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA INFORMACIÓN**

Para analizar la información se usó el paquete estadístico SPS versión 20 con el cual se construyeron tablas de frecuencia de una entrada con sus valores absolutos. Se calculó el promedio, desviación estándar y gráficos.

Para determinar si hay diferencia del promedio de los halos de inhibición y unidades formadoras de colonias de los diferentes tratamientos.

Se empleó un análisis de varianza de un diseño completamente aleatorizado utilizando la prueba F.

Luego se usó una prueba de comparaciones múltiples empleando la prueba de DUNCAN. Ambos con un nivel de significancia de 5% ( $p < 0.05$ ).

## V. RESULTADOS

Al determinar la susceptibilidad del *E. Faecalis* frente al extracto de *Musa acuminata* se encontró semejanza entre el extracto etanólico al 100 % (9.8mm) con la clorhexidina al 0.12% (9.8mm).

El efecto fue menor al 50 % (7.8mm), con una diferencia altamente significativa. **(Tabla 1, anexo 3)**

La Prueba de comparación múltiple fue altamente significativa para la susceptibilidad bacteriana. **(Tabla 2)**

Cuando se determinó la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de la *Musa acuminata* frente al *E. Faecalis* se encontró semejanza entre el extracto etanólico al 100% (0.3 UFC) y la clorhexidina al 0.12% (0.2 UFC).

Por otro lado, el extracto etanólico de *Musa acuminata* al 50 % (1.8 UFC) tuvo menor efecto, sin embargo, se observó una diferencia altamente significativa con el control sin tratamiento (28.7 UFC). **(Tabla 3)**

En la prueba de comparación múltiple para la concentración mínima inhibitoria se observa 3 grupos (extr. Et. 100%, 50% y clorhexidina 0.12%) pero no hay una diferencia significativa entre ellos. **(Tabla 4 ,anexo**

**TABLA 1: SUSCEPTIBILIDAD**

**Efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Musa acuminata* frente al *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212- *in vitro* (Halos de inhibición mm)**

Tratamiento	n	Promedio	Desv. Estándar	F(ANVA)	p
Extrac. Etanólico <i>musa acuminata</i> 100%	12	9.8	1.54		
Extrac. Etanólico <i>musa acuminata</i> 50%	12	7.8	0.72	13.4078	0.0001
Clorhexidina 0.12%	12	9.8	0.62		

## TABLA 2: SUSCEPTIBILIDAD

**Prueba de comparación múltiple para el efecto antibacteriano de *Musa acuminata* frente al *enterococcus faecalis* ATCC 29212 S – *in vitro*.**

Grupo de Tratamiento	n	sub grupos para alfa = 0.05	
		1	2
Extrac. Etanólico <i>musa acuminata</i> 50%	12	7.8	
Extrac. Etanólico <i>musa acuminata</i> 100%	12		9.8
Clorhexidina 0.12%	12		9.8

**TABLA 3: CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA**

**Concentración mínima inhibitoria de *Musa acuminata* frente al *enterococcus faecalis* ATCC 29212 - *in vitro* (UFC)**

Tratamiento	n	Promedio	Desv. Estándar	F(ANVA)	p
Extrac. Etanólico <i>musa acuminata</i> 100%	12	0.3	0.65		
Extrac. Etanólico <i>musa acuminata</i> 50%	12	1.8	3.65	225.5645	0.0000
Clorhexidina 0.12%	12	0.2	0.39		
Control sin tto	12	28.7	5.26		

#### TABLA 4: CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

**Prueba de comparación múltiple para la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de la *Musa Acuminata* frente al *enterococcus faecalis* ATCC 29212 – *in vitro*.**

Grupo de Tratamiento	n	sub grupos para alfa = 0.05
		1
Clorhexidina 0.12%	12	0.2
Extrac. Etanólico <i>musa acuminata</i> 100%	12	0.3
Extrac. Etanólico <i>musa acuminata</i> 50%	12	1.8

## VI. DISCUSION

El propósito de la presente investigación fue determinar el efecto antibacteriano de la *Musa acuminata* (plátano) en diferentes concentraciones 50% y 100% frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 - *in vitro*.

En este trabajo de investigación se pudo determinar la concentración mínima inhibitoria y la susceptibilidad antibacteriana.

Al carecer de estudios previos de la *M. acuminata* en los porcentajes de 50% y 100% se tuvo obligatoriamente que realizar un proyecto piloto previo a la ejecución de esta investigación, donde los resultados obtenidos fueron favorables y dieron luz verde para la ejecución del proyecto definitivo.

Se observó que el extracto etanólico de la *Musa acuminata* tiene efecto antimicrobiano frente a esta cepa bacteriana que se eligió (*E. Faecalis*). Sin embargo cabe resaltar que dicha bacteria fue cultivada en un medio planctónico. Por lo tanto nos sirve de referencia para poder ejecutar estudios posteriores donde se utilice el extracto sobre biopelículas de *E. Faecalis*, ya que esta bacteria se encuentra mucho más resistente cuando están en forma de biopelículas que de forma planctónica.

Alrededor del 80 % de las personas de los países desarrollados utilizan la medicina tradicional, que cuenta con compuestos derivados de plantas <sup>10</sup>. Los estudios de la *M. acuminata* son escasos en la odontología. Sin embargo

Bacarin y cols <sup>27</sup> Elaboraron una pasta compuesta por extracto glicólico de Musa y óxido de cinc que evidenciaron la actividad antimicrobiana de la pasta frente a *Enterococcus faecalis*. Contribuyendo con el presente trabajo para poder encontrar tratamientos alternativos para la eliminación del *E. faecalis*.

Hoy en día se sabe que la *M. acuminata* también conocida como plátano presenta componentes químicos en sus diferentes partes estructurales, que contienen importancia desde el punto de vista farmacológico. Varios estudios coincidieron en la capacidad de inhibir la síntesis de anticuerpos, carecer de efectos citotóxicos, además de potenciar la respuesta inmune. Ponmurugan y col <sup>10</sup> demostraron el efecto antibacteriano de las hojas de *M. acuminata* frente a patógenos nosocomiales, entre ellos el *E. Faecalis*. Comprobando que no sólo el tallo posee agentes antimicrobianos, sino también otras partes de la especie de *M. acuminata*, que en este caso son las hojas del plátano.

Los resultados encontrados en el presente estudio concuerdan con Bonilla y cols <sup>23</sup> donde se demostró el efecto antibacteriano de la *M. acuminata* al 30% frente a las bacterias anaerobias Gram positivas. En este caso el efecto antibacteriano fue frente a *Staphylococcus. Aureus*. Sin embargo Venkatesh y cols <sup>24</sup> tuvieron como resultados que la *M. acuminata* presentaba igualmente efecto antibacteriano frente a bacterias Gram positivas pero algunas presentaban mayor sensibilidad que otras. Concluyendo que el extracto de *M.*

*acuminata* tiene efecto antibacteriano para todas las especies de bacterias Gram positivas como es el caso del *E. Faecalis*, pero que no todas presentan el mismo nivel de sensibilidad.

Uno de los componentes químicos más resaltantes de la *M. acuminata* son los flavonoides, que están presentes en los vegetales. El organismo no puede producir estas sustancias, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos

Actúan como estabilizadores de la membrana protegiendo de forma eficaz la estructura y función de las células, por lo tanto impiden que las radiaciones ultravioletas y los radicales libres ataquen piel, mucosas y otros tejidos, además de ayudar a la recuperación de las zonas lesionadas 15. De esta manera podemos deducir que la *M. acuminata* no sólo participa en la destrucción de las células bacterianas, sino también participa sobre las células del huésped infectado ayudándolo a combatir la infección, proporcionando células de defensa.

Los flavonoides presentes en la *M. acuminata* también presentan efectos antiinflamatorios como lo menciona Febran y cols <sup>28</sup> Hicieron observaciones histopatológicas donde muestran que el extracto de tallo de plátano en soluciones de ungüento puede aumentar las infiltraciones de células

inflamatorias, formaciones neocapilares, porcentaje de re-epitelizaciones y aceleración de formaciones de fibroblastos.

Demostrando que el extracto no sólo se usa como antibacteriano, sino también para acelerar el proceso de curación de heridas. Siendo muy útil en muchas áreas de la odontología.

La *Musa acuminata* tiene efecto inmuno modulador demostrado también por Ortíz <sup>12</sup> Comprobó la propiedad bactericida de la savia de *Musa acuminata* - individualmente y asociada con kanamicina y etionamida. Comprobando también su efecto potenciador de la respuesta inmune. Por lo tanto no sólo tiene efecto antibacteriano, sino también antiinflamatorio, entre otros. Según la literatura, se ha descrito su capacidad de modificar la síntesis de eicosanoides (con respuestas anti – prostanoideas y anti – inflamatoria) y de prevenir la agregación plaquetaria. <sup>14</sup>

Dentro de las limitaciones evidenciadas, una de ellas fue la fase de recolección de la savia del plátano. Para que la hierba del plátano presente sus metabolitos secundarios como los flavonoides, es necesario un buen riego y el tipo de tierra donde sea cultivada. Si no presenta estas condiciones para su óptimo desarrollo, es probable que carezca de la presencia de metabolitos secundarios. En el presente trabajo se tuvo en consideración estos puntos clave para la elección de las mejores hierbas de plátano a elegir. En el momento de extraer

la savia del tallo del plátano, no se logra obtener mucho zumo, así que consideramos esto como una de las más grandes limitaciones que tuvo la ejecución de esta investigación, seguido de la elaboración del extracto etanólico. Para el procedimiento de elaboración del extracto etanólico es necesario contar con el apoyo de una especialista en el área, en este caso se optó por pedir la colaboración de una químico farmacéutico especialista en el área de Farmacognosia, quien elaboró el extracto etanólico.

En esta investigación, la medicina alternativa da un gran avance en la odontología, y al demostrar que el extracto etanólico de *M. acuminata* presenta efecto antibacteriano frente al *E. Faecalis ATCC 29212 - in vitro* constituye un peldaño más de la investigación, ofreciendo nuevas alternativas terapéuticas para combatir al *E. Facalis* en tiempos donde la resistencia bacteriana va en aumento por el uso indiscriminado de los antibióticos

## VII. CONCLUSIONES

- ✓ La *M. acuminata* presenta efecto antibacteriano frente al *E. Faecalis* ATCC 29212 – *in vitro*.
- ✓ La concentración mínima inhibitoria in vitro de la *M. Acuminata* sobre el *E. Faecalis* ATCC 29212 es de 50%.
- ✓ La susceptibilidad in vitro de la *M. Acuminata* sobre el *E. Faecalis* ATCC 29212 es de 100%.

## VIII. RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda realizar más estudios con menores porcentajes del extracto de *M. acuminata* para determinar si existe menor concentración mínima inhibitoria que la del presente proyecto.
- ✓ Se recomienda realizar estudios con otras partes de la planta de la *M. acuminata*. Ya que existe evidencia que tanto las cascaras, inflorescencias, frutos y hojas presentan metabolitos secundarios responsables de la acción antibacteriana e antiinflamatoria.
- ✓ Se recomienda realizar estudios donde se utilice el extracto sobre biopelículas de *E. Faecalis*, ya que esta bacteria se encuentra mucho más resistente en biopelículas que de forma planctónica.
- ✓ Se recomienda realizar estudios donde se investigue cuál es el mecanismo de acción antibacteriana de la *M. acuminata* frente al *E. Faecalis*
- ✓ Realizar estudios con diferentes patógenos de la cavidad oral.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Pardi G, Guilarte C, Cardozo E, Briceño E. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento Endodóntico. Act. Odont. Venezolana [Internet]. 2009 [Citado el 16 de Abril del 2015]; 47 (1): 1-11. 5
2. Reyes Alfaro D. Concentración mínima inhibitoria del efecto antibacteriano del extracto etanólico del propóleo sobre *enterococcus faecalis* [Tesis para optar el grado de Bachiller en Estomatología]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2011.
3. Rivas AM, Yulany S, Daboin I, Díaz C, Salas OS, Urdaneta EL. Frecuencia de aislamiento y susceptibilidad de *E. Faecalis* en pacientes endodónticos. Rev. Odontol. de los And.d [Internet] 2012 [Citado el 18 de Junio del 2015]; 7 (1): 15-23.
4. Jiménez BK, Cortés VC, Rojas CN, Zeledón MR, Montero AM. Eficiencia de diferentes protocolos de desinfección de conos de gutapercha con NAOCL, ante las especies *S. Aureus* y *E. Faecalis*. Re. Cient. Odontol. [Internet] 2014 [Citado el 18 de Junio del 2015]; 10 (1): 37-41.
5. Carrero MC, González GM, Martínez LM, Serna VF, Díez OH, Rodríguez CA. Baja Frecuencia De *Enterococcus faecalis* En Mucosa

- Oral De Sujetos Que Acuden a Consulta Odontológica. Rev. Fac. Odontol. Univ. Antioq. 2015 [Citado el 28 de mayo del 2015]; 26(2): 261-270.
6. Casal MM, Causse M, Solis F, Rodriguez, F. Investigación de las resistencias a antimicrobianos en *Enterococcus faecalis*. Rev. Esp. Quimioter. [Internet] 2009 [Citado el 27 de Mayo del 2015]; 22(3): 117-119.
  7. Rodríguez L, Pumarola J, Canalda C. Acción antimicrobiana in vitro de distintas medicaciones sobre *Enterococcus faecalis* y *Actinomyces israeli*. Endodonc. [Internet]. 2009 [Citado el 23 de Abril del 2015]; 27 (1): 7-12.
  8. Vallejo LM, Maya CC. Influencia de la calidad de restauración coronal en el pronóstico de dientes tratados endodónticamente. Rev Cubana Estomatol. 2015 [Citado el 28 de mayo del 2015]; 52(1): 34-45.
  9. Güven K, Dag Ø. Virulence Factors of *Enterococcus Faecalis*: Relationship to endodontic disease. Rev. Oral Biol. Med. [Internet] 2004 [Citado el 16 de Abril del 2015]; 15 (5): 308 – 320.
  10. Ponmurugan K, Muhammed M. Actividades antibactericida y antioxidante del extracto de hojas de *Musa sp.* en patógenos clínicamente resistentes causados por infección nosocomial. Asian Pc.

- J. Trop. Biomed [Internet] 2013 [Citado el 30 de Abril del 2015]; 3(9): 737 – 742.
11. Domingo D., López M. Plantas con acción antimicrobiana. Rev. Esp. Quimioterav. [Internet]. 2003 [Citado el 21 de Septiembre del 2017]; 16(4): 385 – 393.
12. Ortiz MS. Efecto bactericida de la savia de *Musa acuminata* (plátano) utilizada individualmente y en asociación con kanamicina y etionamida contra *Mycobacterium tuberculosis* multidrogorresistente en modelo animal. Intra Med J. [Internet] 2012 [Citado el 16 de Abril del 2015]; 1(2): 1–7.
13. Saravia CV, Luján VM, Chávez CM, Becerra GL, Jiménez CM, Cabeza RJ. Efecto de la savia ñiofilizada de *Musa Acuminata* colla “Plátano de Seda” sobre la respuesta inmune de *mus musculus* BALB/c frente a *Escherichia* 0157: H 7 UCV – Scientia [Internet] 2011 [Citado el 30 de Abril del 2015] 3(1): 42–48.
14. Martínez S., González J., Culebras J., Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr, Hosp. [Internet]. [Citado el 14 de octubre del 2017]; 17(6): 271-278.
15. Burgos Oliveros J. Efecto protector de la savia de *Musa acuminata* “plátano” ante el daño por ciclofosfamida en células meristemáticas de

- Allium cepa “cebolla”. [Tesis para optar el grado de doctora en Farmacia y Bioquímica]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2015.
16. Bonsak AA. Modulación de la respuesta autoinmune experimental por savia de Musa Paradisiaca”. [Tesis para optar el grado de Licenciatura en Bioquímica]. La Paz – Bolivia: Universidad Mayor de San Andres; 2006.
17. Otaviano MF, Eccard FC, Machado KR, Coetho KM, Villela RM. Actividad antiviral de Musa acuminata colla, Musaceae. Braz. J. pharmacogn. [Internet]. 2008 [Citado el 30 de Abril del 2015]; 19(3): 781–784.
18. Fingolo EC, Braga MA J, Vvieira CM A, Moura RL M, Kaplan CM. El Impacto Natural de Inflorescencias Banano (Musa Acuminata) en la Nutrición Humana. An Acad. Bras. Cienc. [internet] 2012 [citado el 27 de mayo del 2015]; 84(4): 891-898.
19. Herrera DR, Tay LY, Jose – JrC, Andrade TM, Rezende EC, Kuzlowske Jr VA3 Efecto antibacteriano de la asociación de hidróxido de calcio y iodo formo sobre Enterococcus faecalis y Pseudomonas aerusionosa. Rev. Estomatol. Herediana [Internet]. 2008 [Citado el 16 de Abril del 2015]; 18 (1): 1-6.

- 20.Silva LG, Velásquez HZ, Maúrtua TD. Evaluación "in vitro" de la resistencia a la penetración bacteriana usando dos técnicas de obturación y dos selladores endodónticos frente a una cepa de *Enterococcus Faecalis*. Rev. Estomatol Herediana. [Internet]. 2015[Citado el 27 de Mayo del 2015]; 25(1):18-26.
- 21.Rodríguez GC, Jácome MJ, Perea ML. Estudio comparativo de filtración microbiana coronal con tres diferentes materiales de restauración provisional en dientes obturados con Gutttaflow. Rev. Odontol. Mexicana [Internet] 2010 [Citado el 27 de Mayo del 2015]; 14(1):21-31.
- 22.Cineros RA, García AR, Perea ML. Evaluación de la microfiltración bacteriana en obturaciones retrógradas con MTA, super EBA, amalgama y cemento portland en dientes extraídos. Rev. Odontolog. Mexicana [Internet]. 2006 [Citado el 23 de Abril del 2015]; 10(4): 157, 161.
- 23.Bonilla Gonzáles J., Gonzales Chavez E. Efecto inhibitorio in vitro del extracto líquido *Musa acuminata* (plátano var. Seda) Frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticiclina (sarm) y evaluación de la toxicidad en *Artemia salina*. [Tesis para optar el grado de licenciado en

- Biología – Microbiología y Parasitología]. Lambayeque. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2017.
- 24.Venkatesh K, Girish K, Pradeepa K, Santosh K. Antibacterial activity of ethanol extract of *Musa paradisiaca* cv. Puttabale and *Musa Acuminate* cv. grand naine. *Asian J. Pharm Clin Res.*[Internet] 2013 [Citado el 06 de octubre del 2017]; 6 (2): 169-172.
- 25.Ingale SP, Ingale P, Joshi AM. Estudio de la actividad analgésica de la *Musa sapientum* linn. *J. of Pharm. Researc.* [Internet] 2009 [Citado el 27 de mayo del 2015]; 2 (9): 1381-1382.
- 26.García Rubio K. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cinnamomun Zeylanicum* (Canela) sobre el *Fusobacterium Nucleatum* ATCC 25586. [Tesis para optar el grado de Magister en Estomatología]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
- 27.Bacarin M, Bittecourt A, Sayurifarias M, Leomil L, De Souza L. Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de las pastas endodónticas a base de extracto glucólico de *Musa Paradisiaca* frente a *Enterococcus Faecalis*. *Full Dent. Sci.* [Internet] 2013; 4(14):352 – 357.
- 28.Febam B, Wientarsih I, Pontjo B. Actividad del extracto de ambom de banana (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) en la sanación de heridas y

proceso de unión de la piel de los ratones. *Majalah Obat Tradisional*  
[Internet] 2010; 15 (3): 121 – 137.

# **ANEXOS**

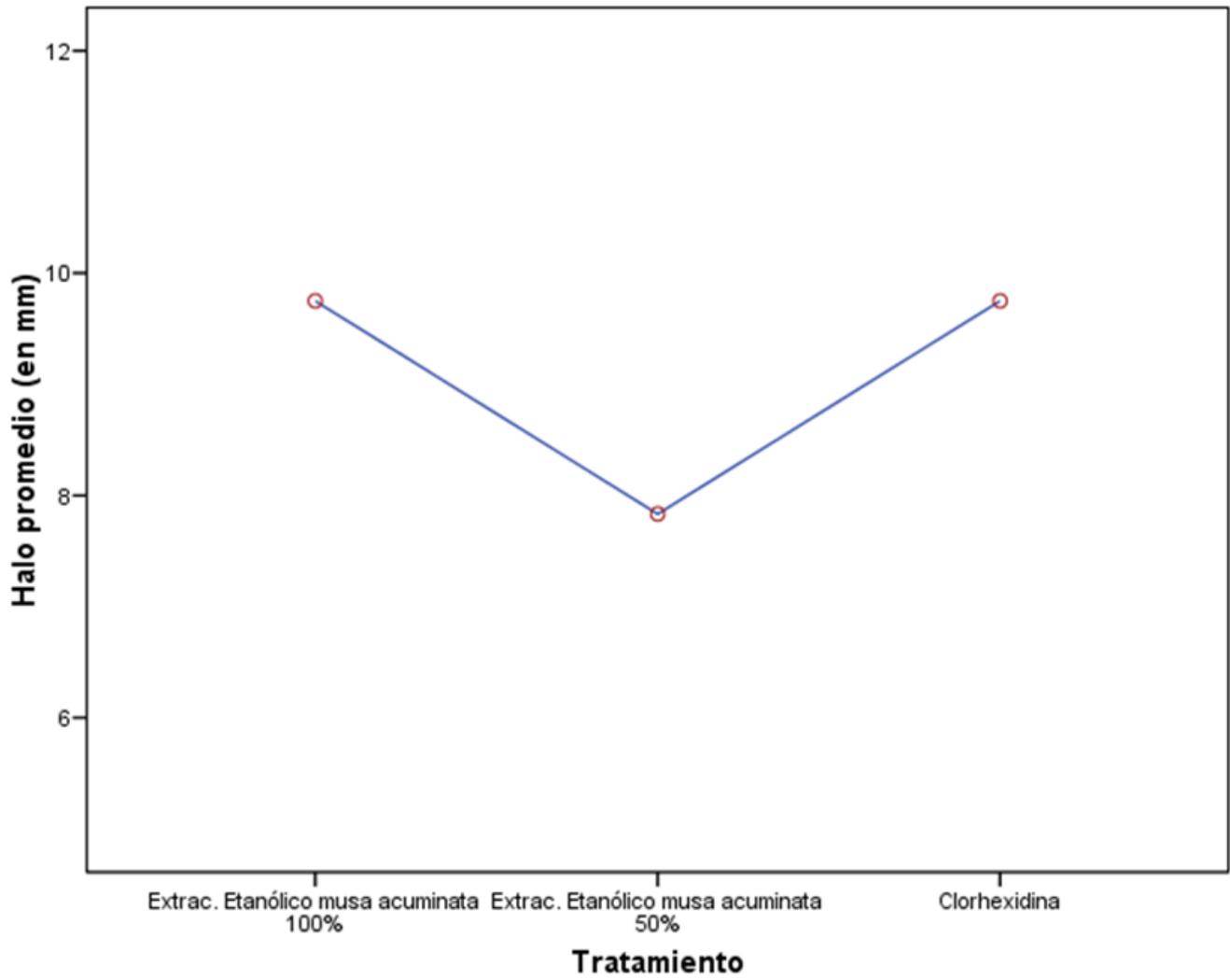
**EFEECTO ANTIBACTERIANO DE LA *MUSA ACUMINATA*  
(PLÁTANO) FRENTE AL *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212 S  
- *IN VITRO* (ANEXO 1)**

N° PLACAS	DETERMINACIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN			
	100%	50%	Clorhex. 0.12%	Control sin tto
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				

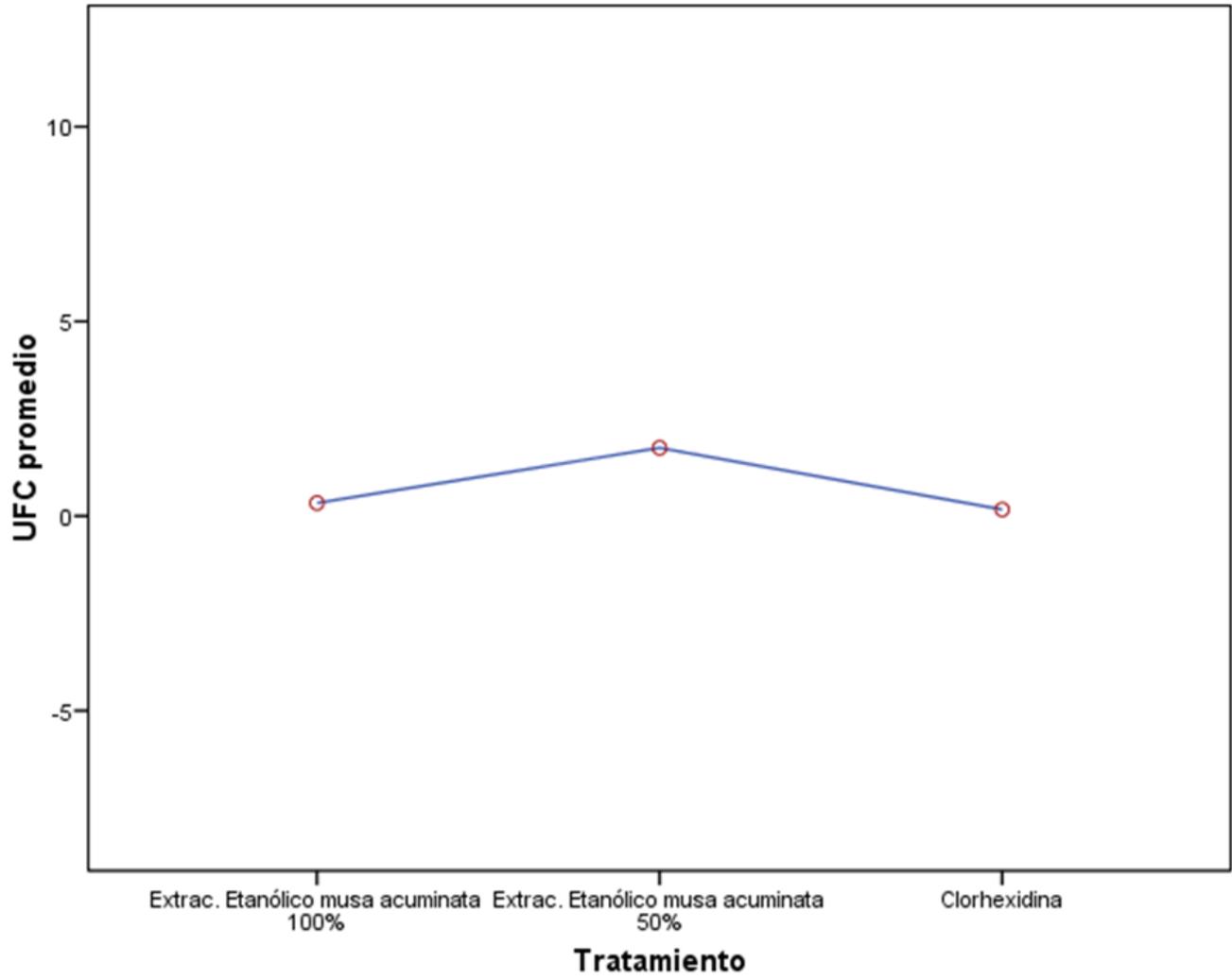
**EFEECTO ANTIBACTERIANO DE LA *MUSA ACUMINATA*  
(PLÁTANO) FRENTE AL *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212 S  
- *IN VITRO* (ANEXO 2)**

N° PLACAS	CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA			
	100%	50%	Clorhex 0.12%	Control sin tto
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				

### ANEXO 3



## ANEXO 4



## ANEXO 5: Tamizaje fotoquímico de la savia de *Musa acuminata*

	ENSAYOS	METABOLITOS	RESULTADO
<b>EXTRACTO DICLOROMETANICO</b>	Liebermann-Burchard	Triterpenos/esteroles	-
	Borntreger	Quinonas	-
<b>EXTRACTO METANOLICO</b>	Liebermann-Burchard	Triterpenos/esteroles	-
	Shinoda	Flavonoides	+++
	Tricloruro férrico	Polifenoles	+
	Gelatina	Taninos	-
	Dragendorf	Alcaloides	-
	Mayer	Alcaloides	-
<b>EXTRACTO ACUOSO- ACIDO</b>	Dragendorf	Alcaloides	-
	Mayer	Alcaloides	-
<b>EXTRACTO ACUOSO</b>	Shinoda	Flavonoides	++
	Rosenhein	Antocianidinas	++
	Espuma	Saponinas	+
	Gelatina	Taninos	-

**Leyenda:** Negativo (-) Ausencia de coloración con reactivos, Postivo (++) Coloración intensa; Positiva (+++) Coloración muy intensa; (+) Coloración leve

## **ANEXO 6: Obtención de la Savia del plátano**



**Laboratorio de Farmacognosia UNT con la Químico Farmacéutico Dra. Marilú Soto**



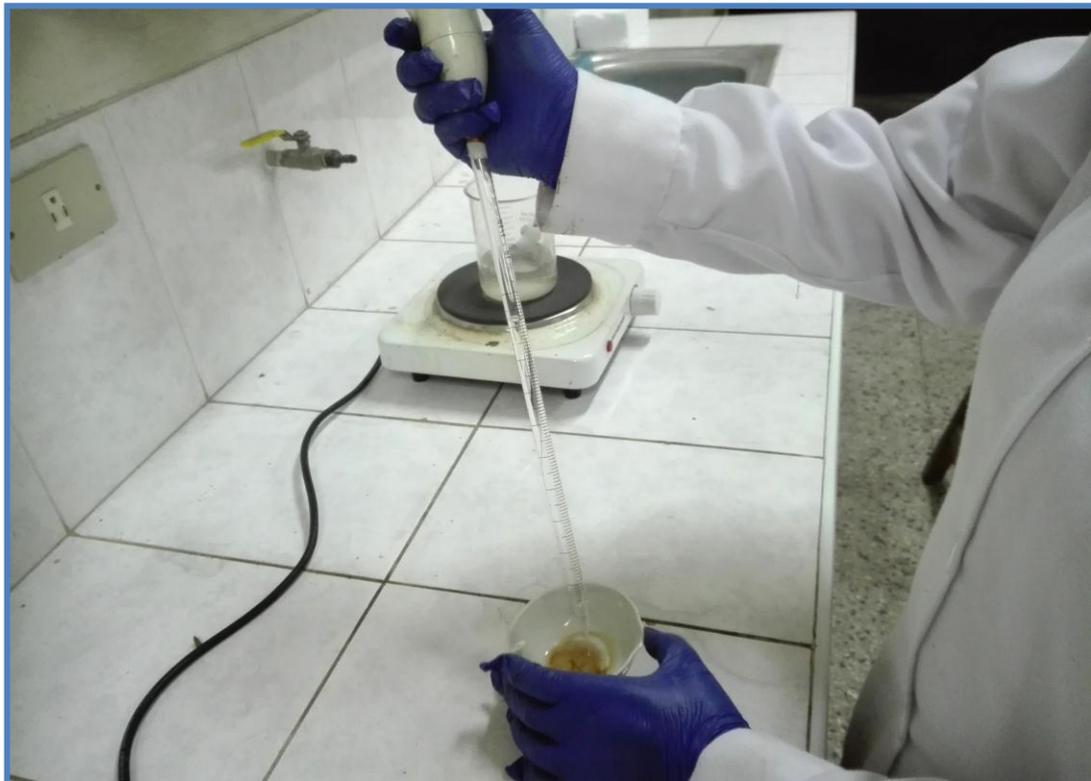
**Limpieza y desinfección del tallo del plátano.**

## Recolección de la Savia del plátano

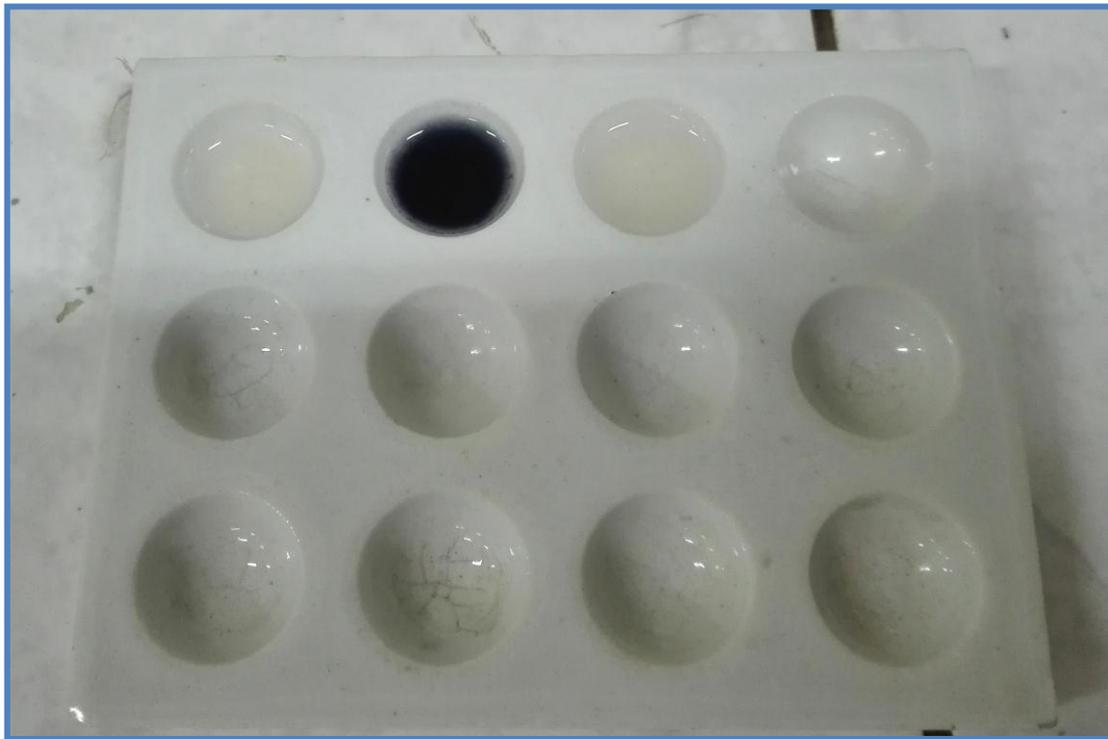


## Anexo 7: Tamizaje fitoquímico



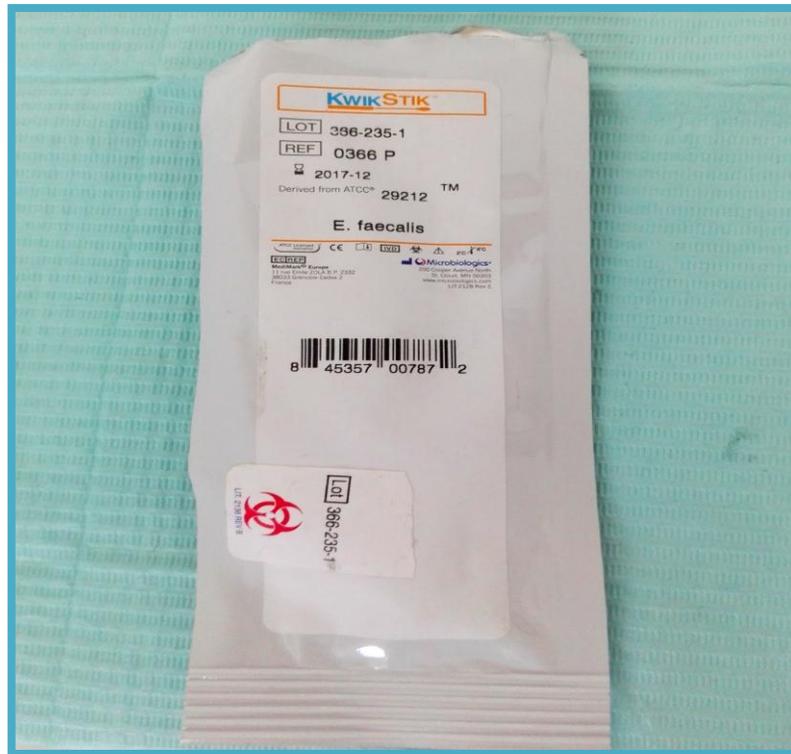






**Color Azul oscuro: Indicativo que hay presencia de Flavonoides**

**ANEXO 8: Para la determinación de halos de inhibición (Susceptibilidad bacteriana)**



**Cepa de *E. Faecalis***



**Extractos Etanólicos de la *M. auminata* al 50% y 100%**



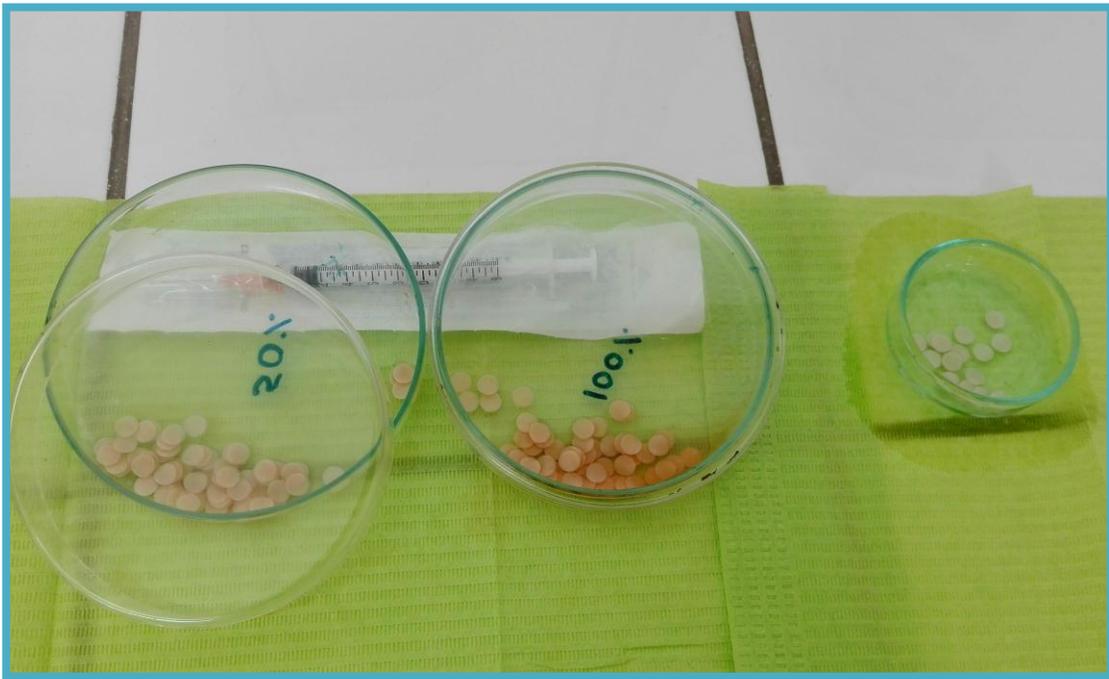
**Placas Petri con medios de cultivo: Agar Muller Hilton**



**Discos de papel estériles**



**Turbidez semejante al tubo del Nefelómetro de Mc Fraland**



**Discos de papel embebidos en los diferentes porcentajes del extracto y grupo control.**



**Hisopado de la bacteria en medios de cultivo**



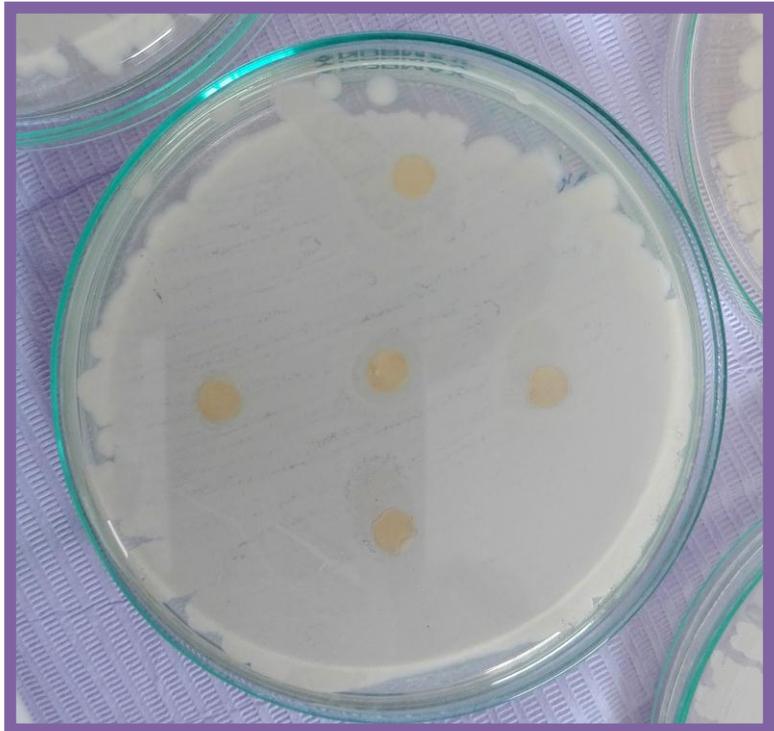
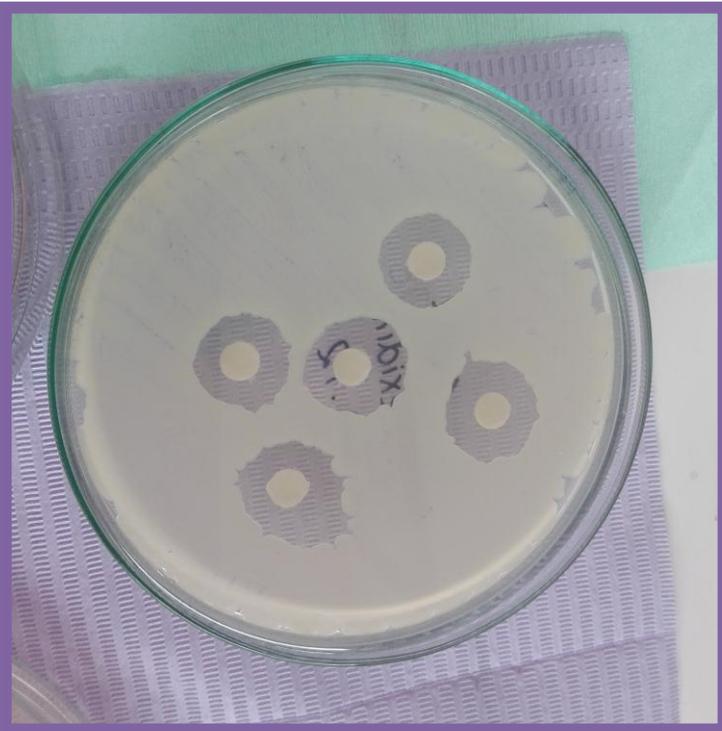
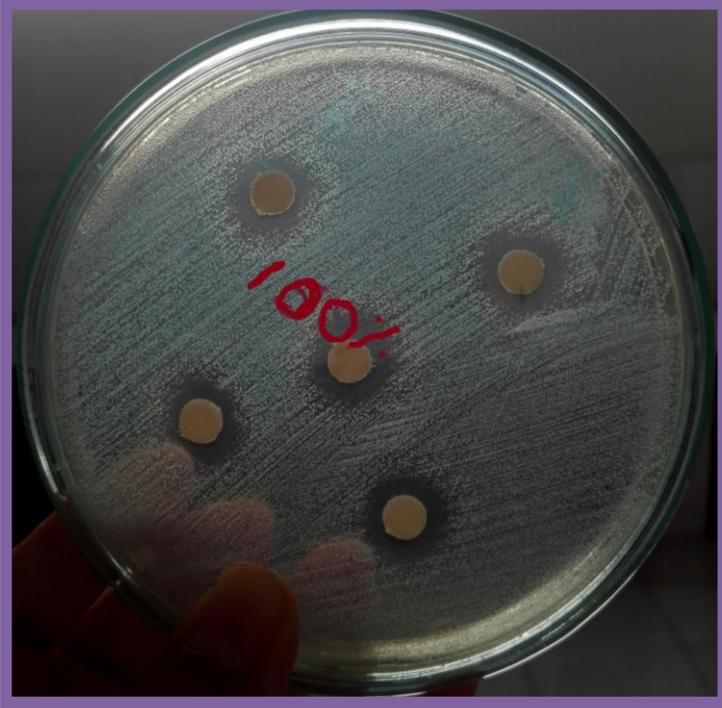
**Colocación de los discos de papel con los diferentes tratamientos dentro de los medios de cultivo con la bacteria.**



**Placas Petri dentro de Jarra Gaspack listas para ser incubadas.**



Lectura de placas a las 24 horas



**ANEXO 9: Para la determinación de la Concentración mínima inhibitoria**



**Colocación de inóculo mezclado con el extracto en medio de cultivo**



**Dispersión en el medio de cultivo con ayuda del asa**



Lectura de placas a las 24 horas

