



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

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE *Musa cavendishii* Lamb.
(PLÁTANO MORADO) FRENTE A LA CEPA DE
Staphylococcus aureus ATCC 25923 Y LA CEPA DE
Streptococcus pyogenes ATCC 19615.**

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

AUTORES:

Bach. JAIMES GARAY, ZOILA SILVIA

Bach. TOVAR BACA, MERI RENEE

Bach. VALVERDE REYNAGA, ELENA ANDREA

ASESOR:

Mg. ORELLANA PERALTA, FIORELLA GUADALUPE

LIMA – PERÚ

2020

DEDICATORIA

A nuestras familias quienes nos brindan su apoyo constante en el desarrollo y culminación de nuestras aspiraciones en el proceso de nuestra formación profesional de cada uno de nosotras.

También está dedicado a todas las personas que contribuyeron en la realización del presente trabajo de investigación.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por permitirnos ver el día a día, dándonos la capacidad y el conocimiento, el deseo ser buenos profesionales comprometidos con la sociedad mediante el ejercicio de esta noble profesión.

A nuestro asesor Mg. Orellana Peralta, Fiorella Guadalupe, por el apoyo y valiosas sugerencias en todas las etapas del desarrollo, preparación del proyecto, revisión, ejecución y revisión de la Tesis.

Al Dr. Q.F. Jhonnell Samaniego Joaquín como director de nuestra escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, ser parte en la formación de excelentes profesionales, como nuestros docentes y revisores, en especial al Dr. Víctor Chero Pacheco y al Dr. Edwin Rodríguez.

Al Q.F José Olivera Trujillo jefe de laboratorio de la Universidad María Auxiliadora, por sus consejos y las facilidades brindadas durante la ejecución del presente trabajo de investigación.

A nuestra Alma Máter, Universidad María Auxiliadora; por habernos brindado el apoyo necesario durante nuestra formación profesional y en cumplir con la realización del presente trabajo de investigación.

Agradecimiento nuestro padrino el Ing. Oswaldo Moran Márquez por invertir en la educación y ser gestor de profesionales útiles a la sociedad.

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio experimental longitudinal, de nivel explicativo. La muestra vegetal de estudio fue recolectada en el centro poblado de Naranjal, distrito de San Ramón, provincia de Chanchamayo departamento de Junín. Para evaluar la actividad antibacteriana se usó la técnica de Difusión en Agar (Método de Kirby-Bauer), distribuidos en extractos concentrados al 10%, 25%, 50% y 75%, un control (+), un control negativo (-) y un blanco, con 3 repeticiones en placas de agar Mueller-Hinton para *S. aureus* y agar Mueller-Hinton suplementado con sangre para *S. pyogenes*. La incubación se realizó a una temperatura de 35°C durante 24, 48 y 72 horas. Posteriormente, la información se registró mediante un instrumento de recolección de datos para luego ser procesados mediante el software estadístico SPSS vs 21. **Resultados:** El extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb tiene actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, observándose el mayor halo de inhibición de 9.0 mm al 75% a las 24 horas. Además, se evidenció actividad antibacteriana frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, observándose un halo de inhibición de 12.0 mm al 50% a las 24 horas y un halo de inhibición de 14.63 mm a las 48 y 72 horas, presentando una mayor eficacia inhibitoria del extracto hidroalcohólico al 50 % frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. El análisis estadístico mediante la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) y la comparación de medias de Duncan ($p < 0.05$) determinó que existe diferencia significativa entre las dos cepas ensayadas y las diferentes concentraciones del extracto. Por otro lado, el tamizaje fitoquímico demostró la presencia de componentes bioactivos como alcaloides, taninos, compuestos fenoles, terpenos, glicósidos y saponinas que podrían estar implicados en la inhibición bacteriana. **Conclusión:** El extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) tiene efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 al 75% y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 al 50%.

Palabras clave: Savia de *Musa cavendishii* Lamb, extracto hidroalcohólico, actividad antibacteriana, agar, halo de inhibición, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*.

ABSTRACT

Objective: Determine antibacterial activity *in vitro* of the hydroalcoholic extract of *Musa cavendishii* Lamb. (purple banana) versus the strain of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and the strain of *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. **Materials and methods:** An explanatory level longitudinal experimental study was carried out. The vegetable sample study was collected in the center of Naranjal, district of San Ramón, Chanchamayo province, Junín department. To evaluate the activity antibacterial, the Diffusion in Agar technique (Kirby-Bauer method) was used, distributed in concentrated extracts at 10%, 25%, 50% and 75%, a control (+), a negative control (-) and a blank, with 3 replicates on Mueller-Hinton agar plates to *S. aureus* and Mueller-Hinton agar supplemented with blood for *S. pyogenes*. The Incubation was performed at a temperature of 35 ° C for 24, 48 and 72 hours. Subsequently, the information was recorded using an instrument for collecting data to then be processed using the statistical software SPSS vs 21.

Results: Hydroalcoholic extract of *Musa cavendishii* Lamb has activity antibacterial against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, observing the biggest halo of inhibition of 9.0 mm at 75% at 24 hours. Moreover, activity was evidenced antibacterial against *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, showing a halo of inhibition of 12.0 mm at 50% at 24 hours and a halo of inhibition of 14.63 mm at 24 hours 48 and 72 hours, presenting a greater inhibitory efficacy of the hydroalcoholic extract at 50% off *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Statistical analysis using Analysis of Variance (ANOVA) test and Duncan's mean comparison ($p < 0.05$) determined that there is a significant difference between the two strains tested and the different concentrations of the extract. On the other hand, phytochemical screening showed the presence of bioactive components such as alkaloids, tannins, phenolic compounds, terpenes, glycosides and saponins that could be involved in bacterial inhibition.

Conclusion: Hydroalcoholic extract of *Musa cavendishii* Lamb. (purple banana) has antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 at 75% and *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 50%.

Keywords: Sap of *Musa cavendishii* Lamb, hydroalcoholic extract, activity antibacterial, agar, inhibition halo, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*.

INDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT.....	iv
INDICE	v
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	vii
INTRODUCCIÓN.....	1
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
1.1. Planteamiento del problema.....	3
1.2. Formulación del problema	5
1.2.1. Problema general	5
1.2.2. Problemas específicos	5
1.3. Objetivos	6
1.3.1. Objetivo general	6
1.3.2. Objetivos específicos.....	6
1.2. Justificación.....	7
2. MARCO TEÓRICO	8
2.1. Antecedentes	8
2.1.1. Internacionales.....	8
2.1.2. Nacionales	10
2.2. Base teórica	13
2.3. Definición de términos básicos	26
2.4. Hipótesis.....	28
2.4.1. Hipótesis general	28
2.4.2. Hipótesis específicas	28
3. MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1. Tipo de investigación	29
3.2. Nivel de investigación.....	29
3.3. Diseño de investigación	29

3.4. Área de estudio.....	29
3.5. Población y muestra	30
3.5.1. Población	30
3.5.2. Muestra	30
3.5.3. Criterios de inclusión:.....	31
3.5.4. Criterios de exclusión:.....	31
3.6. Variables y operacionalización de variables	32
3.7. Instrumentos de recolección de datos	33
3.8. Validación de los instrumentos de recolección de datos.....	33
3.9. Procedimientos de recolección de datos	33
3.9.1. Obtención de la savia <i>Musa cavendishii</i> Lamb.	33
3.9.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de la savia <i>Musa cavendishii</i> Lamb.	34
3.9.3. Solubilidad.....	34
3.9.4. Tamizaje fitoquímico para la identificación de metabolitos secundarios.....	34
3.9.5. Método microbiológico	35
3.10. Componente ético de la investigación.....	45
3.11. Procesamiento y análisis de datos	45
4. RESULTADOS	46
4.1. Prueba de solubilidad.	46
4.2. Tamizaje fitoquímico para la identificación de metabolitos secundarios	47
4.3. Método microbiológico	49
5. DISCUSIÓN	56
6. CONCLUSIONES	60
7. RECOMENDACIONES.....	61
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
9. ANEXOS	68
9.1. Matriz de consistencia.....	68
9.2. Instrumentos de recolección de datos	69
9.3. Fichas de validación de registro de datos.....	72
9.4. Certificado de la planta y de ambas cepas de estudio.	75
9.5. Esquema de los procedimientos	80

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla	Página
Tabla 1. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> <i>Lamb</i> (plátano morado)	46
Tabla 2. Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> <i>Lamb</i> (plátano morado)	47
Tabla 3. Análisis de varianza del halo de inhibición promedio.....	50
Tabla 4. Análisis de varianza del halo de inhibición promedio por tratamientos frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	51
Tabla 5. Comparación del halo de inhibición promedio por tratamientos frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	52
Tabla 6. Análisis de varianza del halo de inhibición promedio por tratamientos frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.....	53
Tabla 7. Comparación del halo de inhibición promedio por tratamientos frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.....	54
Tabla 8. Comparación del halo de inhibición promedio por tratamientos frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.....	54

Figuras	Página
Figura 1. Partes de la planta.....	18
Figura 2. Observación al microscopio <i>S. aureus</i> en objetivo 10X y 40X.....	36
Figura 3. Observación al microscopio <i>S. pyogenes</i> en objetivo 10X y 40X	37
Figura 4: Prueba de catalasa para <i>S. aureus</i> y <i>S. pyogenes</i>	37
Figura 5. Estructura química de la Amoxicilina.	42
Figura 6: Estructura química de la Eritromicina.	43
Figura 7: Estructura química de penicilina G Sódica.	44
Figura 8. Halo de inhibición promedio por tratamientos frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923..	52
Figura 9. Halo de inhibición promedio por tratamientos <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615.....	55
Figura 10. Muestra de <i>Musa cavendishii</i> Lamb (plátano morado)	80
Figura 11. Etapas en la recolección de la savia de <i>Musa cavendishii</i> Lamb (plátano morado).....	81
Figura 12. Proceso de maceración de la savia de <i>Musa cavendishii</i> Lamb (plátano morado).....	81
Figura 13. Filtración del extracto hidroalcohólico <i>Musa cavendishii</i> Lamb (plátano morado).....	82
Figura 14. Proceso de concentración al extracto hidroalcohólico <i>Musa cavendishii</i> Lamb (plátano morado).....	82
Figura 15. Prueba de solubilidad extracto hidroalcohólico <i>Musa cavendishii</i> Lamb	83
Figura 16. Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico <i>Musa cavendishii</i> Lamb	83
Figura 17. Observación del análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico <i>Musa</i> <i>cavendishii</i> Lamb (plátano morado).....	84
Figura 18. Procedimiento tinción Gram en ambas cepas de estudio.	86
Figura 19. Tinción Gram realizada en ambas cepas de estudio.	86
Figura 20. Prueba de catalasa realizada en ambas cepas de estudio.....	87
Figura 21. Preparación de medios de cultivo.....	89
Figura 22. Homogenización, dilución y autoclavado de medios de cultivo.	89
Figura 23. Enfriado y plaquedo de medios de cultivo.....	90
Figura 24. Enfriado de medios de cultivo dentro de la campana de bioseguridad	90
Figura 25. Preparación de extractos impregnados en discos de papel Whatman N° 4.	92

Figura 26. Diluciones de extracto impregnados en discos de papel Whatman al 10%, 25%, 50% y 75%	92
Figura 27. Observación al microscopio extractos impregnados en discos de papel Whatman al 10% y 25%.....	93
Figura 28. Observación al microscopio extractos impregnados en discos de papel Whatman al 50% y 75%.....	93
Figura 29. Procedimiento para preparar el caldo de cultivo Mueller-Hinton.	94
Figura 30. Preparación del caldo de cultivo Mueller-Hinton.	94
Figura 31. Preparación del caldo de cultivo Mueller-Hinton controlando T° y pH	95
Figura 32. Preparación del caldo de cultivo Mueller-Hinton colocando en tubos de ensayo estéril.....	95
Figura 33. Crecimiento de colonias aisladas tanto de <i>S. aureus</i> y <i>S. pyogenes</i>	97
Figura 34. Sembrado de colonias aisladas para incubar entre las 18 y 24h tanto de <i>S. aureus</i> y <i>S. pyogenes</i>	97
Figura 35. Inocular las colonias que fueron incubadas en caldo Mueller-Hinton <i>S. pyogenes</i>	98
Figura 36. Sembrado de las colonias incubadas <i>S. pyogenes</i> con agar Mueller-Hinton suplementado con sangre.....	98
Figura 37. Colocación de extractos en discos y los antibioticos de control sobre la siembra con cepas de <i>S. pyogenes</i>	99
Figura 38. Incubación en una estufa a temperatura de 35°C durante 24, 48 y 72 horas.....	99
Figura 39. Sembrado de las colonias incubadas de <i>S. aureus</i> con agar Mueller-Hinton	100
Figura 40. Colocación de extractos en discos sobre la siembra en placas con cepas de <i>S. aureus</i>	100
Figura 41. Lectura de resultados en 24, 48 y 72 horas de <i>S. aureus</i> con la ayuda de un vernier.	101
Figura 42. Lectura de resultados en 24, 48 y 72 horas de <i>S. pyogenes</i> con la ayuda de un vernier.	101
Figura 43. Lectura de los controles realizados	102
Figura 44. Materiales, equipos y reactivos utilizados.	102

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el interés de la comunidad científica por el estudio de productos naturales medicinales debido a que son una fuente importante de principios activos, aproximadamente el 30% de los fármacos empleados en los países industrializados se han fabricado a partir de productos naturales medicinales siendo los más conocidos por su gran utilidad clínica la morfina y la codeína, alcaloides extraídos del opio, el jugo extraído de la adormidera *Papaver somnifera*, glucósidos cardiotónicos como la digoxina obtenido de las hojas de *Digitalis lanata*, la digitoxina obtenido de la *Digitalis purpurea*, y los alcaloides con efecto antimuscarínico, atropina (o dl-hiosciamina), extraída de las plantas *Atropa belladonna* y *Datura stramonium*^{1,2}.

El uso de productos naturales medicinales como sustitutos de fármacos se viene aplicando desde la antigüedad para el tratamiento de diversas enfermedades que afecta a la población, dentro de dichos productos, el plátano es usado como un antibacteriano según refieren los pobladores del distrito de San Ramón, Junín. El plátano tiene diversas propiedades medicinales, la savia sirve para tratar una variedad de enfermedades, incluyendo la lepra, la fiebre, trastornos digestivos, hemorragia, epilepsia, hemorroides y picaduras de insectos porque se relaciona con propiedades astringentes. También se le atribuye propiedades antidiarreicas, antioxidantes y antimicrobianos. Sus flores se utilizan para tratar la disentería, úlceras y bronquitis, además se considera un buen alimento para los diabéticos, así mismo contiene neurotransmisores como la norepinefrina, serotonina y dopamina, mensajeros químicos del sistema nervioso³.

En los últimos años el aumento de la incidencia de infecciones en la piel y partes blandas producidas por *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* adquirida en la comunidad ha sido elevada en América, mientras que en Europa y España parece ser mucho menor⁴. *S. aureus* y *S. pyogenes* son las principales especies patógenas causante de infecciones bacterianas en la piel y tejidos blandos, faringitis aguda, infecciones cutáneas y sistémicas, bacteriemia, sepsis, peritonitis, neumonía y endocarditis, produciendo mecanismos

patógenos en infecciones crónicas persistentes, incluso es necesario la intervención antibiótica o quirúrgica^{5,6,7}.

En la selva central ciertos pobladores utilizan la savia del plátano para tratar las infecciones en la piel. Según los pobladores de la zona indicaron que la savia del plátano logró aliviar las infecciones en la piel producidas por cortes ocasionados en accidentes laborales.

Considerando que la mayoría de las infecciones son causadas principalmente por *Staphylococcus aureus* y en algunos casos por *Streptococcus pyogenes*, y tomando como referencia las propiedades atribuidas al plátano indicada por los pobladores, además de algunas investigaciones referentes sobre la actividad antimicrobiana de sus principios activos. El presente trabajo pretende demostrar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, para dar a conocer el uso adecuado y seguro de la propiedad antibacteriana del plátano en las comunidades alejadas las cuales pocos tienen acceso a una atención primaria de salud.

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la resistencia antibiótica genera un gran problema a nivel mundial en los países desarrollados y en vías de desarrollo. La resistencia a los antibióticos ensancha la duración de las enfermedades y amplía el riesgo de muerte. Se calcula que las personas infectadas por *Staphylococcus aureus* resistente tienen la probabilidad de morir un 64% mayor que las infectadas por cepas no resistentes, además de aumentar el costo de la atención sanitaria⁸.

En el año 2018, la OMS ha revelado que 500 000 personas de 22 países presentaron resistencia a los antibióticos, siendo *Staphylococcus aureus* la bacteria más frecuente⁹.

En los últimos años, la incidencia de infecciones por *Staphylococcus* ha aumentado significativamente debido a la gravedad de su virulencia y resistencia. La especie *S. aureus* es importante no solo porque ocasiona infecciones en diversas partes del organismo humano, sino porque es una de las principales bacterias implicadas en causar infecciones de la piel y tejidos blandos en Latinoamérica, específicamente en algunos sectores de la población desfavorecida por la falta del sistema de salud¹⁰. Las infecciones mixtas en la piel son mayormente causadas por *Staphylococcus aureus* en combinación con *Streptococcus pyogenes*, principal patógeno estreptocócico causante de faringoamigdalitis e infecciones cutáneas.

El tratamiento para las enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* está basada en reducir el crecimiento bacteriano usando fármacos de elección. Sin embargo, según la literatura se ha manifestado ciertos beneficios potenciales para la salud que se obtienen gracias al consumo de ciertas frutas, verduras y plantas medicinales. Por ejemplo, el plátano posee ciertas propiedades medicinales altamente favorables para tratar infecciones causadas por bacterias, siendo para ellos más factible y económico.

En el Perú existe una elevada prevalencia sobre la prescripción de diversos antibióticos superando el 50%, esta cifra se encuentra por encima de los valores reportados internacionalmente siendo del 20.0 – 40.0 %. El consumo innecesario o inadecuado de los antibióticos genera resistencia a ellos, lo que conlleva a un gran problema de salud en el manejo de las enfermedades infecciosas. Sin embargo, hoy en día existe una tendencia en cuanto al uso de plantas medicinales de origen natural con beneficios terapéuticos, el cual brinda otra alternativa para tratar infecciones causadas por microorganismos patógenos.

Muchas de las comunidades que no tienen acceso a un centro de salud, se ven obligados a usar como alternativa terapéutica plantas medicinales para tratar infecciones causadas por microorganismos patógenos como el *S. aureus* y *S. pyogenes*. Estos microorganismos habitan de manera natural en la piel, pero pueden ingresar por una ruptura causada por cortes y raspaduras. Esta infección puede propagarse a través del torrente sanguíneo y afectar órganos distantes si no es tratado a tiempo⁴.

Con el presente trabajo de investigación se espera encontrar actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, así brindar un aporte para reducir el índice de resistencia bacteriana aprovechando los recursos naturales.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Tendrá actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615?

1.2.2. Problemas específicos

¿Cuáles son los metabolitos secundarios principales del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado)?

¿Cuál es el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado) en concentraciones de 10%, 25%, 50% y 75% frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615?

¿Cuál será la concentración efectiva inhibitoria del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

1.3.2. Objetivos específicos

Determinar cualitativamente los principales metabolitos secundarios mediante tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado).

Identificar el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (Plátano morado) en concentraciones de 10%, 25%, 50% y 75% frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Identificar la concentración efectiva inhibitoria del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

1.2 Justificación

Las infecciones causadas por bacterias y su resistencia ante los medicamentos se asocian a una mayor morbilidad y mortalidad a nivel mundial.

La resistencia antibacteriana pone en riesgo la salud de los individuos que demandan de tratamiento del especialista como en el caso de combatir las infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, que generan problemas mayores como discapacidad e incluso la muerte del paciente. Por ello, los profesionales de la Salud, entre ellos el Químico Farmacéutico dentro de sus facultades, le corresponde orientar e informar a los pacientes sobre el uso racional de medicamentos, principalmente antimicrobianos y evitar la automedicación.

El estudio de las plantas medicinales presentes en nuestro país incrementa la matriz productiva de una manera que mejora la economía, además del desarrollo social, educativo y cultural, beneficiando en el costo y en la accesibilidad en personas de bajos recursos económicos, en comparación a los productos farmacéuticos, ofreciendo así ventajas terapéuticas y complementarias que sirve para disminuir la incidencia de infecciones microbianas comenzando por la atención primaria de salud.

Es por ello que determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado) frente a las cepas de *S. aureus* y *S.pyogenes*, tiene como propósito utilizar esta planta como alternativa terapéutica para reducir el uso de fármacos que generan la resistencia bacteriana, además de ser productos naturales de fácil acceso y con un menor costo.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1 Internacionales

Mayorga J.¹¹, realizó un estudio *in vitro* del efecto inhibitorio del extracto de la *Musa paradisiaca* frente a *Porphyromona gingivalis*, en Quito - Ecuador (2017). Concentró los extractos en 25%, 50% y 100% siendo la última concentración la que formó un halo inhibitorio notable frente a *Porphyromona gingivalis*. Utilizó clorhexidina como control positivo y agua destilada como control negativo. Sus resultados muestran un halo de inhibición con un valor máximo de 13mm en el extracto puro al 100% sobre la *Porphyromona gingivalis*. Concluyó que el extracto de la *Musa paradisiaca* en concentraciones 50% y 100% presentaron un mayor efecto inhibitorio.

Molina G. *et al.*¹², evaluaron la actividad anti *Mycobacterium tuberculosis* de extractos de hexano, acetato de etilo y etanol de todas las partes de *Musa paradisiaca* frente a una cepa sensible (H37Rv) y otra resistente (CIBIN-99), en la ciudad de México (2016). Para ello, utilizaron el ensayo del Alamar Azul en micro placa siendo la concentración mínima inhibitoria de 630 µg/mL contra la cepa sensible H37Rv y la cepa resistente CIBIN-99. Observaron que el extracto hexánico de las hojas y el extracto de acetato de etilo del rizoma del espécimen tiene actividad anti-*M. tuberculosis*, expresando una potencia por las hojas y el rizoma de *Musa paradisiaca* colectada en invierno contra *M. tuberculosis* sensible o fármacorresistente moderada.

Noles T.¹³, evaluó la capacidad antibacteriana de los taninos del plátano verde frente a *Staphylococcus aureus* ATCC:12600, en la ciudad de Cuenca - Ecuador (2018). Para la extracción de los taninos usó dos tecnologías: maceración y agitación. Para ello utilizó dos solventes (agua destilada y etanol) para la cáscara y el fruto. Los dos extractos preparados por agitación (ACE) y

maceración (MCE) utilizaron etanol. Los resultados en la prueba de sensibilidad por discos, evidenció un halo de inhibición con porcentajes altos para el extracto ACE con 27.45% y 34.31% para el extracto MCE. Concluyó que los taninos extraídos del plátano verde tienen actividad antibacteriana sobre el género *Staphylococcus aureus*, exhibiendo halos de inhibición entre los 7 y 12 mm en extracto acuoso y etanólico de la cáscara y el fruto.

Tamri P, *et al.*¹⁴, evaluaron la actividad de curación del extracto de la cáscara de plátano en heridas de conejo, en Irán (2016). Para inducir la herida de grosor completo en conejos, utilizaron el modelo de herida por escisión. Trabajaron con grupos control negativo, control estándar y de tratamientos, los cuales se administraron tópicamente dos veces al día. Para evaluar la curación fue mediante la contracción de la herida y la tasa de revitalización aplicando resistencia a la tracción de la muestra de tejido de la herida. Observaron una alta tasa de contracción de la herida ($P < 0.05$), presentó una disminución significativa en el período de epitelización ($P < 0.05$) y una alta resistencia a la rotura de la piel ($P < 0.01$) en animales tratados con piel de plátano. Concluyeron que el extracto hidroalcohólico de las cáscaras de plátano tiene fuerte potencial para la curación de heridas y también puede usarse para diferentes tipos de heridas en humanos.

Kapadia, *et al.*¹⁵, determinaron la actividad antimicrobiana de la cáscara de plátano en extracto alcohólico frente a las cepas de *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, en India (2015). Para el estudio utilizaron el método de difusión en agar para evaluar la actividad antibacteriana frente a las cepas estándar de *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* y el método de dilución de caldo en serie para determinar la concentración mínima inhibitoria. Los resultados para el extracto alcohólico de la cáscara de plátano, reveló un halo de inhibición de 15 mm para *P. gingivalis* y 12 mm de halo para *A. actinomycetemcomitans*. Concluyeron que el extracto alcohólico de cáscara

de plátano tiene actividad antimicrobiana contra *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans*.

2.1.2 Nacionales

Alcalde M.¹⁶, determinó la eficacia de savia de *Musa acuminata* (plátano) como bactericida sobre cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 90%, en Trujillo- Perú (2017). En este trabajo se utilizó el método MOODS, y se obtuvo en los resultados que en las concentraciones seleccionadas hay crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* observadas mediante un microscopio óptico, además se encontró Unidad Formadora de Colonias UFC ≥ 2 , lo cual determina resistencia a dicho microorganismo. Sin embargo, al trabajar 10 cepas diferentes por duplicado tuvieron resultados indeterminados expresados en 1 unidad formadora de colonias (UFC). El trabajo concluyó que no hay eficacia bactericida de “savia de *Musa acuminata*” (plátano) sobre cepas de *Mycobacterium tuberculosis* en distintas concentraciones.

Bonilla J. y Gonzales E.¹⁷, investigaron el efecto antibacteriano del extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) var. Seda a concentraciones de 5, 10, 20, 30 %v/v frente a cinco cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina aisladas de pacientes con infecciones de vías respiratorias del Hospital docente Belén, Lambayeque - Perú (2017). Comprobaron el efecto inhibitorio siguiendo la metodología de siembra por el método de extensión en superficie en placas con agar nutritivo con el extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano var. Seda) y el bioensayo de toxicidad con *Nauplius* de *Artemia salina*. El extracto líquido de *Musa acuminata* en concentraciones de 5, 10, 20, 30%v/v inhibió a *S. aureus* resistente a metilicina 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 3×10^5 ufc/mL y 6×10^5 ufc/mL, siendo el efecto inhibitorio dependiente de la cepa y directamente proporcional a la concentración. Además, indicaron que el extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda no es tóxico para

Artemia salina. Concluyeron que el extracto de *Musa acuminata* “plátano” var. Seda a las concentraciones de 5, 10, 20, 30 % v/v tiene efecto inhibitorio frente a las especies de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina y no resultó ser tóxico frente a *Artemia salina*.

Ortiz F.¹⁸, realizó una investigación con el objetivo de determinar el efecto antibacteriano de la *Musa acuminata* (plátano) frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 – *in vitro* en Trujillo, Perú (2018). El estudio fue de tipo prospectivo, transversal, comparativo y experimental. Su muestra consistió en 12 repeticiones para la sensibilidad bacteriana y 12 repeticiones para la Concentración Mínima Inhibitoria de la *M. acuminata* al 50%, 100%, un control positivo y control negativo. Dentro de sus resultados revelaron similitud al determinar la susceptibilidad del *E. faecalis* frente al extracto etanólico de *M. acuminata* al 100% con la clorhexidina al 0.12%, y un menor efecto en la concentración del extracto etanólico al 50%. Además, comprobaron la CMI del extracto de *M. acuminata* frente al *E. faecalis*, el cuál mostró un parecido entre el extracto etanólico al 100% y la clorhexidina al 0.12%, pero el extracto etanólico al 50% tuvo menos efecto. Concluyó que la *M. acuminata* (plátano) presenta efecto antibacteriano frente al *E. faecalis*.

Loyaga M.¹⁹, realizó un estudio con el objetivo de evaluar el efecto antifúngico del extracto hidroetanólico de *Musa paradisiaca* (plátano) frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231, Trujillo (2019). En su estudio utilizó las concentraciones de 10%, 30% y 50% del extracto hidroetanólico. Utilizó método de difusión en agar con medio de cultivo agar Sabouraud. Colocó en placas petri concentraciones de 10%, 30% y 50% del extracto hidroetanólico, siendo su control positivo Nistatina y control negativo etanol 96%. Su resultado frente a la actividad antifúngica en las distintas concentraciones del extracto varía, según se muestra en el ANOVA ($p=0.000$), al compararlas entre sí, según la prueba de Duncan mostró una mayor actividad al 50%. Concluyó que el extracto hidroetanólico de *Musa*

paradisiaca al 50% presenta mayor efecto antifúngico sobre las cepas de *Candida albicans*.

Tasayco N.²⁰, con el objetivo de determinar la medida en que la savia liofilizada de la *Musa acuminata Colla* incide en la seguridad y actividad antiulcerosa en ratas inducidas a úlcera gástrica *in vitro*, Lima (2017). La actividad antiulcerosa evaluó en ratas inducidas a úlcera gástrica con indometacina 80 mg/Kg por vía oral. En el estudio *in vitro* evaluó la actividad frente al *Helicobacter pylori*. Los resultados mostraron una inhibición de 86% con una dosis de 800 mg/Kg en la actividad antiulcerosa comparado con el grupo control fue el que evidenció al 65% de inhibición; la actividad frente al *Helicobacter pylori* en concentraciones de savia liofilizada de 1000 ug/mL, 500 ug/mL, 250 ug/mL y 125 ug/mL reflejó ser inactivo. La actividad antiulcerosa probablemente se debe a la presencia de taninos, alcaloides y flavonoides. Concluyó que la savia liofilizada de la *Musa acuminata Colla* tiene actividad antiulcerosa en ratas pero no tienen actividad *in vitro* frente al *Helicobacter pylori*.

2.2. Base teórica

2.2.1. Plátano

El cultivo del plátano es considerado de importancia mundial y destaca un interés en nuestro territorio en la región selva y costa norte del Perú. Está considerado como el alimento más importante a nivel mundial después del arroz, el trigo y el maíz. Ubicado en segundo lugar en comercialización de frutas después de la naranja²⁰.

En el Perú el cultivo del plátano se destaca por ser de importancia social y económica ya que forman parte de la dieta del poblador peruano, siendo un ingrediente característico de la cocina de la selva²⁰.

2.2.2. Origen y características botánicas

El plátano es una planta herbácea perenne gigante, con rizoma y un pseudotallo que resulta del conjunto de las vainas foliares, cónico y de 3,5- 7,5 m de altura, terminado en una corona de hojas. La morfología del plátano está conformada por raíz, pseudotallo, raquis, hojas, racimo e inflorescencia o chira. Las hojas son enormes, alargadas y ovales, con nervios abundantes y 16 paralelos, es decir casi en ángulo recto con el nervio central. Mucho antes de que aparezca la inflorescencia van muriendo sucesivamente las hojas más viejas. Los pecíolos se secan y se encorvan y la hoja surcada cuelga hacia abajo ocultando a menudo el pseudotallo²¹.

El verdadero tallo es un rizoma grande, almidonoso, subterráneo, que está coronado con yemas; éstas se desarrollan una vez que la planta ha florecido y fructificado. Cuando un pseudotallo ha producido el racimo de fruto, ya no tiene ninguna utilidad para la misma planta, por lo que generalmente se corta y trocea para agregarlo como abono al terreno²¹.

2.2.3. Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son compuestos derivados del metabolismo primario pero de limitada distribución en el reino de las plantas, restringidos a un grupo taxonómico particular²². Los metabolitos secundarios pueden

agruparse en 4 grandes grupos: a) Terpenos (hormonas, pigmentos o aceites esenciales), b) Compuestos fenólicos (flavonoides, cumarinas, ligninas y taninos), c) Glicósidos (saponinas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianogénicos y glucocinolatos) y d) Alcaloides²³.

a) Terpenos.- Los terpenos, o terpenoides, constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (más de 40.000 moléculas diferentes). Los terpenos se clasifican por el número de unidades de isopreno (C5) que contienen. Los terpenos de 10 C contienen dos unidades C5 y se llaman monoterpenos; los de 15 C tienen tres unidades de isopreno y se denominan sesquiterpenos, y los de 20 C tienen cuatro unidades C5 y son los diterpenos. Los triterpenos tienen 30 C, los tetraterpenos tienen 40 C y se habla de politerpenos cuando contienen más de 8 unidades de isoprenos. Muchos terpenoides son comercialmente interesantes por su uso como aromas y fragancias en alimentación y cosmética. Otros compuestos terpenoides tienen importancia medicinal por sus propiedades anticarcinogénicas, antiulcerosas, antimalaricales, antimicrobianas²³.

b) Compuestos fenólicos:

Flavonoides.- son compuestos polifenólicos que tienen un núcleo básico de flavano con dos anillos aromáticos (A y B) interrelacionados por un anillo heterocíclico de tres átomos de carbono (anillo C). La mayoría de los flavonoides contienen una doble ligadura entre el C-2 y C-3 y un grupo ceto en C-4 del anillo C, el cual está unido al anillo B en C-2 (flavona) o en C-3 (isoflavona). Los flavonoides son compuestos fenólicos, se definen por tener diversas actividades como antioxidante, antiinflamatoria, antiviral, antibacteriana, papel protector contra enfermedades cardiovasculares, cáncer y diversas enfermedades. Los flavonoides constituyen una fuente considerable para la exploración de nuevos candidatos de fármacos para dichas enfermedades²⁴.

Taninos.- son compuestos químicos fenólicos de alto peso molecular, su naturaleza química es diferente entre un tipo de tanino y otro, pero sus propiedades son semejantes, debido a la presencia de grupos fenólicos en ellos. Se distinguen en dos grupos de taninos que difieren por su estructura y por su origen biogénico:

a. Taninos hidrolizables: También nombrados como gálicos o pirogálicos donde la hidrólisis se puede realizar por medio de ácido diluido y caliente o por la acción de una diastasa especial, producida por el *Aspergillus Niger* llamada tanasa. Según los productos que se obtengan en la hidrólisis, este grupo de taninos se divide en 2 subgrupos: los galotaninos y los elagiotaninos. Estos últimos se difieren de los galotaninos en que sus grupos galoil están vinculados a través de enlaces C-C, mientras que el grupo galoil en galotaninos están unidos por dépsidos. .

b. Tanino no hidrolizables, condensado o catéquico: Se trata de principios curtientes que no se pueden hidrolizar porque contienen un esqueleto carbonado continuo²³.

c) **Glicósidos**

Saponinas.- son un conjunto de glucósidos oleosos, los cuales son solubles en agua causando espumosis cuando la solución es agitada. Las saponinas esteroidales son compuestos que tienen una estructura compleja formada por un núcleo esteroidal hidrofóbico y una parte hidrofílica formada por unidades de monosacáridos. Estas están ampliamente distribuidas en el reino vegetal y aunque en mayor o menor medida se encuentran en una gran cantidad de plantas, son una alternativa para aspectos médicos²⁵.

d) **Alcaloides.**- uno de los metabolitos secundarios más encontrados en los organismos vivos. Son compuestos cíclicos que poseen nitrógeno en un estado de oxidación negativo, los alcaloides han sido aislados tradicionalmente de las plantas en un 20%, aproximadamente. En la actualidad se ha reportado la presencia de este tipo de metabolito en

animales en aumento, como en los insectos, invertebrados marinos y microorganismos. Hoy en día muchos de estos alcaloides son destinados a la medicina y son utilizados como analgésicos, anestésicos, curativos o psicotrópicos²⁶.

Existen diferentes alcaloides conocidos por su procedencia. Dentro de ellos resalta los verdaderos alcaloides que provienen de los aminoácidos, moléculas que tiene un carbono quiral con un grupo amino (-NH₂) en un extremo y en el otro extremo un grupo carboxilo (-COOH), se condensan entre el grupo amino y el grupo carboxilo liberando una molécula de agua, así formando un enlace amida al que se le denomina enlace peptídico. Los aminoácidos son necesarios para la formación de proteínas y es clave en casi todos los procesos biológicos. La cáscara de plátano es rica en aminoácidos esenciales siendo encontrados la leucina, valina, fenilalanina y treonina mientras que la pulpa del plátano es rica en carbohidratos y en aminoácidos como la lisina, leucina y valina, entre otros; sus beneficios son múltiples y ayuda a neutralizar a los ácidos retenidos en el cuerpo, principalmente el ácido úrico, el ácido fosfórico y el ácido sulfúrico^{23,26}.

- e) **Mucilagos.-** son moléculas complejas compuestas de varios monosacáridos que en su mayoría son semejantes en su composición química, forman parte de las células normales de la planta. También son hidrocoloides, macromoléculas polisacáridos que tienen gran capacidad de retener agua y formar suspensiones coloidales. Los mucilagos tienen una extensa capacidad de acción, como antiinflamatorias, emolientes y cicatrizantes, actúan como protectoras de las mucosas, son también anti diarreicas y antibacterianas²⁷.
- f) **Gomas.-** son carbohidratos complejos de alto peso molecular, con largas cadenas de monosacáridos, también conocidos como coloides hidrofílicos o hidrocoloides, se forman por la destrucción de la pared celular de la planta, poseen un amplio espectro de acción, como antiinflamatorias, emolientes

(ablandan) y cicatrizantes, actúan como protectoras de las mucosas, son también anti-diarreicas (en bajas dosis), laxantes (en altas dosis) y antibióticas²⁷.

2.2.4. Taxonomía

De acuerdo a la constancia emitida por el Museo de Historia Natural de la Universidad Mayor de San Marcos, la muestra vegetal de plátano morado fue estudiada y clasificada según el sistema de clasificación de Cronquist (1988) tal como se menciona a continuación:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Zingiberidae

Orden: zingiberales

Familia: *Musaceae*

Género: *Musa*

Especie: *Musa cavendishii* Lamb

Nombre común: Plátano morado.

2.2.5. Descripción de la especie:

Musa cavendishii Lamb. (plátano morado)

Planta que contiene uno o más tallos aparentes (las partes erectas que se asemeja a troncos), rizoma subterráneo y sistema de raíces fibrosas, el pseudotallo sostiene a las hojas, flores y fruto²⁸.

El rizoma o bulbo es un tallo subterráneo con numerosos puntos de crecimiento (meristemas) que dan origen a pseudotallos, raíces y yemas vegetativas. Su sistema radicular posee raíces superficiales que se distribuyen en una capa de 30-40 cm, concentrándose la mayor parte de ellas en los 15-20 cm²⁸.

Las raíces de color blanco, su diámetro oscila entre 5 y 8 mm y su longitud puede alcanzar los 2,5-3 m en crecimiento lateral y hasta 1,5 m en profundidad²⁸.

El verdadero tallo es un rizoma grande, almidonoso, subterráneo, que está coronado con yemas, las cuales se desarrollan una vez que la planta ha florecido y fructificado²⁸.

Las hojas se originan en el punto central de crecimiento o meristemo terminal situado en la parte superior del rizoma. Al principio, se observa la formación del pecíolo y la nervadura central terminada en filamento, lo que será la vaina posteriormente. Las hojas son grandes, verdes y dispuestas en forma de espiral, de 2-4 m de largo y hasta 1,5 m de ancho, con un peciolo de 1 m o más de longitud y un limbo elíptico alargado, ligeramente decurrente hacia el peciolo, un poco ondulado y glabro²⁸.

Las flores amarillentas, irregulares y con seis estambres, de los cuales uno es estéril. El gineceo tiene tres pistilos, con ovario ínfero. El conjunto de la inflorescencia constituye el “régimen” de la platanera²⁸.

El fruto es una baya oblonga. Los plátanos son polimórficos, pudiendo contener de 5-20 manos, cada una con 2-20 frutos. Los plátanos comestibles son de partenocarpia vegetativa, es decir, desarrollan una masa de pulpa comestible sin ser necesaria la polinización. Los óvulos se atrofian pronto, pero pueden reconocerse en la pulpa comestible²⁸.

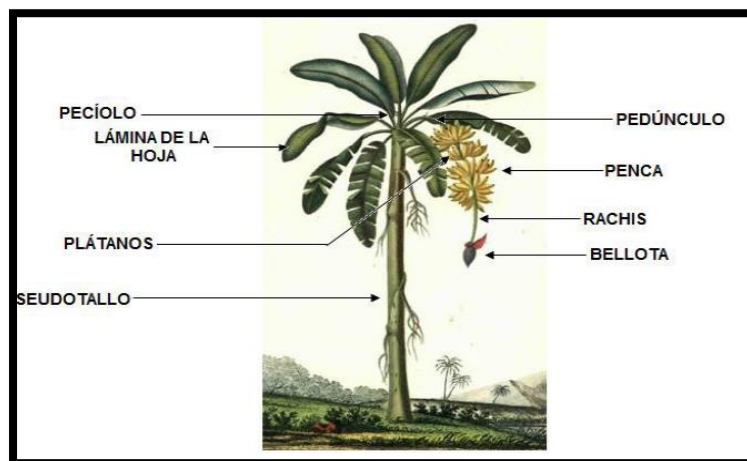


Figura 1. Partes de la planta.
Fuente: Blasco G y Gómez F. (2014).

2.2.6. Propiedades de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado)

Sus propiedades medicinales son conocidas desde la antigüedad, previene el colesterol y con su poder protector resulta ideal para combatir la gastritis o prevenir las úlceras, es un producto remineralizante, antidiarreico²⁹.

Existen asociaciones promovidas por los gobiernos regionales y estas se desarrollan acorde a la exigencia de los mercados ya que son eficientes. Además, aparte de buscar un bienestar económico también permite un desarrollo social dando mejoras de salud, dentro de ello contar con el servicio básico como el agua y la educación. El Perú, forma parte de la lista de proveedores de cultivo del plátano, siendo sus principales competidores Costa Rica y Ecuador²⁰.

2.2.7. *Staphylococcus*

Comprenden el mayor número de especies patógenas para los seres humanos. Son organismos unicelulares y contienen DNA y RNA, pero no están diferenciadas en núcleo y citoplasma; y se reproducen por fisión binaria. Existen unas pocas familias de bacterias que carecen de algunas estructuras necesarias para la replicación y deben interactuar con la célula del huésped para reproducirse³⁰.

2.2.8. *Staphylococcus aureus*

2.2.8.1. Características generales

Staphylococcus aureus, es una bacteria anaerobia Gram positiva facultativa, que mayormente se encuentra como parte de la flora normal de la piel y en las fosas nasales³¹.

Staphylococcus aureus es una bacteria de forma esférica (cocos) de 0,5 a 1,5 μm de diámetro, se agrupan de forma irregular, muy resistentes al calor y la desecación se puede desarrollar en medios con elevada salinidad (7,5 % de Cloruro de Sodio)¹⁰.

Sus propiedades como parte de sus componentes de la pared celular como el peptidoglicano, favorecen al desencadenamiento de la

inflamación por la activación del complemento, siendo capaz de atraer leucocitos polimorfonucleares que estimula la producción de anticuerpos, sus enzimas como la coagulasa favorecen la formación de abscesos y la enzima estafiloquinasa produce la destrucción del coágulo. Algunas de sus toxinas como leucocidina provocan la alteración de la permeabilidad celular de fagocitos, estas son significativas para explicar algunos aspectos epidémicos de esta bacteria. En la actualidad está incluida dentro de las 42 especies diferentes de *Staphylococcus*, algunas de ellas forman parte de la flora microbiana normal de piel y mucosas, siendo la más importante de todo el género en patología infecciosa¹⁰.

2.2.8.2. Taxonomía

S. aureus de acuerdo a la primera edición del Manual de Bacteriología Sistemática de Bergey de los años 80, situaba a este microorganismo entre la Familia Micrococcaceae compartiendo ubicación con otros géneros: *Planococcus*, *Micrococcus* y *Stomatococcus*. La segunda edición de este manual lo ubica dentro de una Familia particular: Staphylococcaceae, compartiendo esta ubicación con otros tres géneros distintos como *Nesterenkonia halobia*, *Kytococcus sedentarius* y *Dermacoccus nishinomiyaensis*¹⁰.

2.2.8.3. Estructura

La membrana citoplasmática está formada por un complejo de proteínas, lípidos e hidratos de carbono y sirve de barrera osmótica para la célula. Su cápsula está recubierta por una capa de polisacáridos externos, denominada slime o cápsula mucoide que confiere, en ciertas condiciones, una mayor capacidad de adherencia, así como un aumento del efecto antifagocítico¹⁰.

2.2.8.4. Factor de Virulencia

Los Factores de Virulencia están relacionado con diversos componentes de la superficie bacteriana, de manera general como el peptidoglicano, ácido teicoico y la proteína A. La patogenia provocada por este microorganismo surge cuando se produce la combinación de los factores de virulencia con la disminución de las defensas del huésped. *S. aureus* es una especie muy virulenta debido a su gran resistencia al calor y la desecación por el crecimiento en medios con elevada salinidad a pesar de contar con antibióticos de amplio espectro³¹.

2.2.8.5. Patogenia

S. aureus produce infecciones de dos maneras:

1. En forma directa, por invasión y posterior destrucción tisular local (proceso supurado), o luego de haberse diseminado por vía sanguínea. Esta infección ocurre por medio de la adherencia y colonización de las células del huésped. Esto se describe en tres tipos de adherencia: 1) Adherencia a las células de la mucosa nasal mediante el ácido teicoico. 2) Adherencia a la piel traumatizada, en esta adherencia interactúan varias proteínas de la matriz extracelular como fibrinógeno, elastina, colágeno, etc. con los receptores de *S. aureus*. 3) Adherencia a las células endoteliales durante los eventos de sepsis es un proceso complejo donde están involucradas la fibronectina, el fibrinógeno y la laminina. Los microorganismos que atravesaron la barrera cutaneomucosa, llegan al tejido subcutáneo o submucoso y se diseminan rápidamente, formando abscesos. Manifestación de una coagulopatía intravascular diseminada, como ocurre también en las sepsis meningocócica o en algunas infecciones por *Rickettsia*⁴.
2. A través de efectos de toxinas, se manifiestan como síndrome de piel escaldada; aquí se debe a la producción de la toxina exfoliativa por la formación de ampollas y la subsiguiente descamación de láminas

epidérmicas, que puede estar localizada o diseminada por todo el cuerpo. En el síndrome del shock tóxico; el cuadro es grave aquí el microorganismo prolifera en una área contaminada y produce la toxina del shock tóxico. También se da la contaminación de alimentos, que suelen ser de elevado contenido en proteínas e hidratos de carbono como pasteles, helados y salsas, y con pH superior a 5, que permitirán un rápido crecimiento bacteriano⁴.

2.2.8.6. Patología

S. aureus desarrolla en el huésped un gran número de afecciones, como impétigo y dermatitis exfoliativa e infecciones de la piel; foliculitis (es la menos grave), abscesos (forúnculos), celulitis y necrólisis epidérmica tóxica, y tejido blandos; osteomielitis, neumonía, sepsis, endocarditis, síndrome de shock tóxico estafilocócico o fascitis necrotizante. Afecta también a las mucosas como la orofaringe, la piel en la región como las axilas, el perineo y la vagina³².

2.2.9. *Streptococcus pyogenes*

2.2.9.1. Características generales

Streptococcus pyogenes, es una bacteria coco Gram positivo que origina un mayor porcentaje de faringitis, además de infecciones al tejido epitelial. Uno de los mayores problemas originados por esta cepa son consecuencias *post-streptococcicas* que no generan purulencia, las cuales son: la Glomerulonefritis y la Fiebre Reumática; considerados graves porque puede causar la muerte³³.

2.2.9.2. Taxonomía

La primera clasificación de los *Streptococcus* fue según la presencia de hemólisis y el tipo de hemólisis que presentan en agar sangre. Se denomina γ -hemolíticos, a las colonias que están rodeadas por un halo de color tenue, área donde muestra que los hematíes se han lisado en su

conjunto. Se denomina β -hemolíticos, cuando la hemólisis no es completa y en el medio de cultivo se observa una tonalidad verdosa, los γ -hemolíticos no presentan en el medio un halo de hemólisis. Por último, posee una cápsula de ácido hialurónico y en su pared celular contiene un carbono C que le proporciona la especificidad del grupo. El carbohidrato está constituido por L-ramnosa y N-acetil-D-glucosamina y está unido covalentemente al péptidoglicano, gracias a este carbohidrato los *Streptococcus* pueden clasificarse por grupos (A, B, C y D) dicha clasificación fue realizada por Lancefield. En el caso de *Streptococcus pyogenes* corresponde al grupo serológico A debido a su naturaleza β -hemolítica³⁴.

2.2.9.3. Estructura

Las cepas de *S. pyogenes* es beta hemolítico del grupo A son cocos esféricos de 0,5 a 1,0 μ m Gram positivo que se agrupa en cadenas, posee cápsula y su pared está constituida por carbohidratos, proteínas y ácido lipoteicoico, catalasa negativa, forman cadenas cortas en las muestras clínicas y cadenas más largas cuando crecen en medio de cultivo. El desarrollo es óptimo en un medio de agar sangre enriquecido, pero se inhibe si el medio contiene una concentración elevada de glucosa. Las cepas encapsuladas pueden mostrar un aspecto mucoso en los medios recién preparados pero pueden estar arrugadas en los medios secos. Las colonias no encapsuladas son pequeñas y brillantes³³.

2.2.9.4. Factor de Virulencia

Los factores de virulencia están a menudo involucrados en la interacción directa con los tejidos del huésped o en el recubrimiento de la superficie bacteriana ante los mecanismos de defensa del huésped, identificando un gran número de componentes somáticos y productos extracelulares

en la bacteria que a veces actúan como factores de virulencia, como la proteína M, el ácido hialurónico, los ácidos lipoteicoicos, enzimas y toxinas³⁵.

2.2.9.5. Patogenia

S. pyogenes logra causar daño por acción local, superficial, diseminación, a distancia a través del torrente sanguíneo o por producción de toxinas. El requisito primario es la adherencia, a la piel o a la mucosa faríngea; donde hay interacción entre el ácido lipoteicoico de su pared celular y la fibronectina de la célula epitelial humana. Entre las proteínas de su pared celular, con mayor importancia es la M que además de conferirle resistencia a la fagocitosis, es citotóxica y antigénica. El *estreptococo* produce algunas enzimas y toxinas que favorecen a su patogenicidad, entre ellas se destacan la pirogénica (A, B, C) que tiene propiedades citotóxicas, siendo responsable de la fiebre escarlatina, de las formas invasoras y del choque tóxico estreptocócica⁷.

2.2.9.6. Patología

S. pyogenes es responsable de una serie de infecciones más o menos graves que, por orden de frecuencia, son: faringitis, infecciones cutáneas (impétigo y erisipela) y de tejidos blandos, sepsis puerperal, neumonía, endocarditis, meningitis y artritis. Incluso origina cuadros de fiebre escarlatiniforme y el síndrome del *shock* tóxico, debido a cepas productoras de toxinas. *Streptococcus pyogenes*, es causante de infecciones leves en un 20% a 30% de los casos³³.

2.2.10. Tratamiento

El tratamiento contra las infecciones causadas por el *S. aureus*, utilizado usualmente en forúnculos, foliculitis, ántrax, hidradenitis y celulitis, incluye los antibióticos de primera elección: amoxicilina, dicloxacilina, oxacilina (parenteral), cloxacilina, cefadroxilo, cefradina, cefalexina,

naftilina (no hay en el Perú), los de segunda elección: cefalosporinas de segunda, tercera y cuarta generaciones: cefuroxima, cefaclor, ceftriaxona, cefepima y los de tercera elección: clindamicina, claritromicina, azitromicina y roxitromicina³⁶. En el tratamiento contra las infecciones causadas por *S. pyogenes* grupo A, como el impétigo infantil, linfangitis y erisipela, incluye los antibióticos de primera elección: penicilina G sódica, penicilina G potásica (endovenosas), penicilina procaínica (intramuscular), penicilina clemizol (intramuscular), amoxicilina (oral), amoxicilina-ácido clavulánico (oral), los antibióticos de segunda elección: eritromicina y los antibióticos de tercera elección: clindamicina. En general, deberían administrarse los antibióticos de menor espectro y con mejor perfil farmacocinético^{4, 37}.

2.2.11. Resistencia bacteriana

Las cepas resistentes se hacen sobresalientes por la presión selectiva de los antibióticos que hacen desaparecer las bacterias sensibles, no estando implicados solamente los antibióticos utilizados en medicina. Si los portadores toman antibióticos, estos matan las cepas que no son resistentes y sobreviven las cepas que son resistentes. Estas bacterias pueden expandirse, y en caso de que causen infección, esta será más difícil de tratar. Por su estructura de la pared celular se va desarrollar afinidad en el huésped, también se desarrollan varios mecanismos que median la resistencia, esto debido a la presencia de varias enzimas que producen las bacterias, parte de la enzima que se produce es excretada al medio externo y parte permanece adherida a la membrana celular, es donde se inactiva la acción del antibiótico volviéndolos resistente^{32,37}.

2.3. Definición de términos básicos

Actividad antibacteriano in vitro: Propiedad para eliminar bacterias inoculadas en condiciones controladas y estandarizadas dentro de un laboratorio³⁸.

Agar: Polímero sulfatado complejo de unidades de galactosa, extraído del *Gelidium cartilagineum*, *Gracilaria confervoides* y otras algas rojas asociadas. Se usa en forma de gel en la preparación de medios de cultivo sólidos para microorganismos³⁹.

Antibacteriano: El término se refiere a una sustancia cuyas propiedades son capaces de eliminar agentes bacterianos o la inhibición de su crecimiento o proliferación sin incurrir en el daño del objeto, ambiente u organismo que las porta. Son en esencia fármacos como es el caso de los antibióticos u otros agentes químicos capaces de combatir estos cuerpos⁴⁰.

Antibiótico: Sustancia procedente del metabolismo de organismos vivos, principalmente hongos y bacterias, que posee la propiedad de inhibir el crecimiento o destruir microorganismos⁴⁰.

ATCC: Marca registrada de la colección de cultivos de tipo americano⁴¹.

Bacterias Gram Positivas: Las bacterias Gram positivas se tiñen de color púrpura con la tinción Gram, el colorante queda atrapado en la capa de peptidoglucano⁴².

Cepa: Cultivo formado por microorganismos de tipo fenotípico provenientes de una porción derivada de un organismo mayor⁴².

Disco de sensibilidad: Son discos impregnados de un antibiótico, específico que es utilizado para realizar pruebas de sensibilidad por el método de difusión en agar³⁸.

Medios de cultivo: Composición de nutrientes en concentraciones apropiadas y en condiciones físicas óptimas, permiten el desarrollo de los microorganismos⁴³.

Extracto hidroalcohólico: Es el extracto líquido concentrado, obtenido de la extracción de una planta o parte de ella, utilizando como solvente alcohol y agua. Presentan sedimento, color y aroma característicos de la planta de la cual se obtienen⁴⁴.

Halo de inhibición: Las zonas de inhibición que rodean a los discos que se miden a fin de determinar la susceptibilidad (resistente, intermedia, susceptible). El diámetro de la zona de inhibición es proporcional a la susceptibilidad de la cepa bacteriana comprobada de 18 a 24 horas y es observado por la formación de halos alrededor del disco⁴¹.

In vitro: Es un método que se realiza para el estudio de los procesos o reacciones que ocurre en un ambiente artificial fuera del organismo vivo³⁹.

Incubación: Proceso que facilita el crecimiento antibacteriano que debe contar con una temperatura óptima³⁹.

Microbiología: Ciencia encargada del estudio y análisis de los microorganismos, seres vivos pequeños no visibles al ojo humano también conocidos como microbios⁴⁰.

Morfología bacteriana: Son las diferentes formas y tamaños que tienen las bacterias donde puede variar entre las diferentes especies, las células pueden tener entre un décimo del tamaño de una célula eucariota y tienen una longitud de aproximadamente 0.5 a 5 micrómetros⁴⁵.

Solvente: Es aquella que puede disolver la mezcla entre un soluto y solvente de manera homogénea⁴⁶.

Riesgo: Es cuando hay la posibilidad de ocurrir un suceso en la que interviene un peligro y genera una consecuencia⁴⁷.

Taxonomía: Ciencia de la clasificación, una subdisciplina de la Biología Sistemática, cuyo objetivo consiste en organizar la gran diversidad a través de una jerarquía y nomenclatura⁴⁸.

2.4. Hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) tiene actividad antibacteriana *in vitro* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

2.4.2. Hipótesis específicas

El extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) presenta metabolitos secundarios principales.

El extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) en las concentraciones del 10%, 25%, 50% y 75% presenta diferencias en su efecto inhibitorio frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

La concentración efectiva inhibitoria del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 es al 75%.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Tipo de investigación

El estudio es de tipo experimental, prospectivo y transversal.

Experimental. - Se presenta mediante la manipulación de una variable empírica no comprobada, en condiciones rigurosamente controladas con el fin de describir de qué modo o por qué causa se produce una situación o acontecimiento particular.

Prospectivo. – Una vez definido el inicio del estudio se realiza un seguimiento y se recogen los datos en el tiempo que van sucediendo.

Longitudinal. - Estudio observacional diseñado para medir la exposición y/o resultado en una población definida y en diferentes tiempos.

3.2. Nivel de investigación

Explicativa. - Se encarga de buscar el porqué de los hechos mediante la relación causa-efecto, en ese sentido los estudios explicativos pueden ocuparse tanto de la determinación de las causas, como de los efectos.

3.3. Diseño de investigación

Experimental puro con grupos de control y grupos de tratamiento.

3.4. Área de estudio

Localidad área geográfica

El estudio se realizó en el laboratorio de la Universidad María Auxiliadora, Av. Canto Bello 434, ubicada en el distrito de San Juan de Lurigancho, Lima-Perú.

Localidad de la obtención de la planta de estudio

La planta de estudio se cultiva en uno de los distritos más prósperos de la provincia de Chanchamayo, San Ramón conocido como "La Puerta de Oro de la Selva Central". Está ubicado a 15 minutos antes de La Merced y a una hora y media después de Tarma. Tiene una superficie de 591,67 km. Cuenta con varios anexos, entre los cuales destaca el centro poblado de Naranjal, donde quedan aún vestigios de la Hacienda de dicho nombre. Geográficamente ubicada entre las siguientes

coordenadas: Latitud Sur 11° 08' 25 y longitud oeste 75° 20' 00; en la zona centro del Perú⁴⁹.

3.5. Población y muestra

3.5.1. Población

3.5.1.1. Población

- Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 adquiridas del Laboratorio GenLab del Perú SAC con su certificación como cepas de referencia.
- Plantaciones de *Musa cavendishii* Lamb. (Plátano morado).

3.5.1.2. Población del estudio

- Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 que fueron activadas en el Laboratorio de origen, los cuales se mantuvieron en óptimas condiciones para los fines de la investigación.
- Árbol de *Musa cavendishii* Lamb. (Plátano morado) identificado para los fines del proyecto.

3.5.2. Muestra

3.5.2.1. Muestra

- Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, que crecieron con morfología bacteriana conveniente y adecuada.
- Savia de *Musa cavendishii* Lamb. (Plátano morado).

3.5.2.2 Muestra experimental

- Formado por colonias aisladas, previamente seleccionadas de cada una de las cepas de estudio antes mencionadas.
- Extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) que fue concentrado a partir de la savia extraída.

3.5.3. Criterios de inclusión:

- Extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) concentrado al 10%,25%,50% y 75%.
- La cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 aisladas y con crecimiento no menor a 24 horas.

3.5.4. Criterios de exclusión:

- Cultivos de *S. aureus* y *S. pyogenes* que hayan sido contaminados con cualquier microorganismo.
- Extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) en concentraciones que no hayan sido descritas en el proyecto.
- Extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) que haya sido contaminado con cualquier microorganismo.

3.6. Variables y operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición	Criterios de medición
Variable Independiente: Extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb.	Plátano morado es una planta que tiene propiedades terapéuticas.	Concentración del principio activo para luego ser aplicado al tratamiento.	Concentración del principio activo al 10%, 25%, 50% y 75%.	Concentración que tiene actividad antibacteriana.	Intervalo	Registros de medición
Variable Dependiente: Actividad antibacteriana (<i>Staphylococcus aureus</i>) y (<i>Streptococcus pyogenes</i>).	Capacidad de inhibir el crecimiento y propagación de las bacterias.	Tiempo adecuado para poder visualizar la inhibición en el crecimiento bacteriano, menor tiempo en que se muestra el halo de inhibición será efectivo.	Halo de inhibición	Crecimiento del halo de inhibición	Razón	Intervalo de 1-6mm: Resistente Mayor a 6 mm: Sensible

3.7. Instrumentos de recolección de datos

Se trabajó con una ficha de registro en donde se registró toda la información a partir del proceso de recolección de datos considerando cada una de las unidades de análisis correspondientes al grupo blanco, grupo control (sensible y resistente) y los respectivos grupos de tratamiento (extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. 10%,25%, 50% y 75 %).

Para efectos de la investigación, se realizó fichas en el cual se registró los datos obtenidos (ver anexo 6.2 a), b), c) y d)). El instrumento establece para ambos microorganismos de estudio por separado.

3.8. Validación de los instrumentos de recolección de datos

La ficha de registro de datos desarrollada fue evaluada y estandarizada por un grado de confianza de 99.8% calificada por tres especialistas en investigación Dr. Q.F Jhonnell Samaniego Joaquín, Dr. José Oruna Lara y Dr. Mg. Víctor Chero Pacheco con la finalidad de valorar la idoneidad de la estructura y contenida acorde a los objetivos de la investigación.

3.9. Procedimientos de recolección de datos

La recolección de datos será experimental (intervención), no participativa, ya que los investigadores solo recopilaban información y tomarán notas para la construcción de procesamiento estadístico, descrita a continuación.

3.9.1. Obtención de la savia *Musa cavendishii* Lamb.

Las muestras vegetales fueron recolectadas del Centro Poblado Naranjal del Distrito de San Ramón, Provincia de Chanchamayo, Departamento de Junín.

La savia de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado) fue extraída del pseudotallo del plátano, el cual pasará previamente por un proceso de lavado con agua para eliminar los restos de polvo. El corte se realizó en el pseudotallo para la extracción de la savia con el fin de reducir la posibilidad de contaminación del extracto. El corte se realizó a una altura de un metro en relación al suelo. Con ayuda de un embudo se colocó en un frasco de vidrio estéril ámbar de 4 L de

capacidad, la sustancia fue llevada al laboratorio de la Universidad María Auxiliadora¹⁶. (Ver anexos Figura 11).

3.9.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de la savia *Musa cavendishii* Lamb.

Una vez recolectada la savia del plátano, se procedió a pesar el contenido recolectado. Inmediatamente, se vertió en un frasco de vidrio ámbar para macerar la muestra durante 30 días en alcohol al 70%. Después de la maceración se colocó el extracto hidroalcohólico en el rotavapor a una temperatura de 40°C. A partir del resultado del extracto se realizará el tamizaje fitoquímico y la aplicación de los tratamientos en las diferentes concentraciones⁵⁰. (Véase anexo 9.4 Esquema N°1 obtención del extracto hidroalcohólico de la savia *Musa cavendishii* Lamb y figuras 12-14).

3.9.3. Solubilidad

En tubos de ensayo se rotularon con los nombres de los solventes de diferente polaridad. Se adicionó a cada tubo de ensayo 0.5 mg de extracto hidroalcohólico y en cada tubo se añadió 1mL de solvente (Agua destilada, suero fisiológico, etanol 96 %, etanol 70 %, metanol, acetato de etilo, cloroformo, acetona, éter y éter de petróleo). Se agitó cada tubo de ensayo para observar los resultados de solubilidad por un tiempo máximo de 10 minutos⁵⁰. (Ver anexos: formato en 6.2 c y figura 15).

3.9.4. Tamizaje fitoquímico para la identificación de metabolitos secundarios

Para la identificación de los metabolitos secundarios (alcaloides, esteroides, flavonoides, saponinas, taninos) de *Musa cavendishii* Lamb, se utilizó el análisis cualitativo que está basado en la observación visual de cambio de color y/o la formación de precipitados después de adicionar un reactivo⁵⁰. (Ver anexos: formato en 6.2 d y figuras 16 y 17).

3.9.5. Método microbiológico

3.9.5.1. Identificación de la cepa

Las cepas han sido identificadas por los siguientes métodos microbiológicos:

Tinción de Gram.- Aporta dos ideas básicas para la definición de las bacterias: el color que adquieren tras la tinción y la forma que presentan las células bacterianas. En lo relativo a la coloración tenemos:

- Gram positivo: color azul-violeta.

- Gram negativo: color rojo-rosado.

La tinción Gram consiste en una técnica de tinción que utiliza 4 componentes: un colorante básico (cristal violeta), un mordiente (lugol), un decolorante (alcohol cetona) y un colorante de contraste (safranina o fucsina).

De cada colonia aislada resuspendida en 500 µl de suero fisiológico se colocó una gota en la lámina porta objeto con asa de siembra bacteriológica. (Véase anexo 9.4 Esquema N°2 y figuras 18 y19). Luego, se procedió de la siguiente manera:

Se fijó la cepa en la lámina porta objeto flambeando con un poco de calor del mechero. Luego, se adicionó una gota de cristal violeta por 1 minuto, y se enjuagó suavemente con agua destilada.

Después, se agregó una gota de lugol por 30" y luego se enjuagó ligeramente con agua destilada.

Posteriormente, se colocó unas gotas de alcohol 96° por 15" y se enjuagó. Finalmente se agregó unas gotas de safranina por 30" a 1 minuto, se enjuagó y se dejó secar.

Para observar las cepas al microscopio, se colocó una gota de aceite de inmersión encima de la muestra fijada.

Con la utilización de la técnica de tinción Gram, se consiguió identificar a las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. En el caso de la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se observó en el microscopio cocos de color azul/violeta que muestra una pared Gram positiva, forman grupos de células semejantes a racimo de uvas de 2 en 2 o en forma de cadenas cortas.

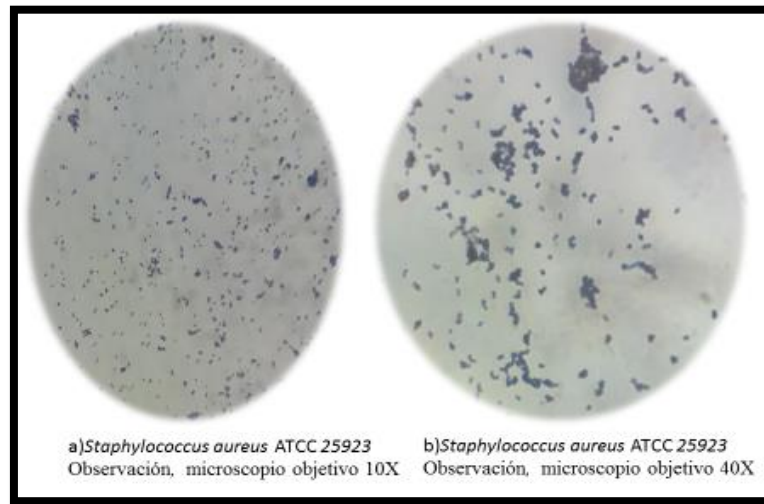


Figura 2. Observación al microscopio *S. aureus* en objetivo 10X y 40X
Fuente: Elaboración propia

Para el caso de la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 se observó cocos de color azul-violeta que determinan ser Gram positivos, además se disponen en cadenas cortas o semi largas formados de 4 a 10 bacterias aproximadamente.

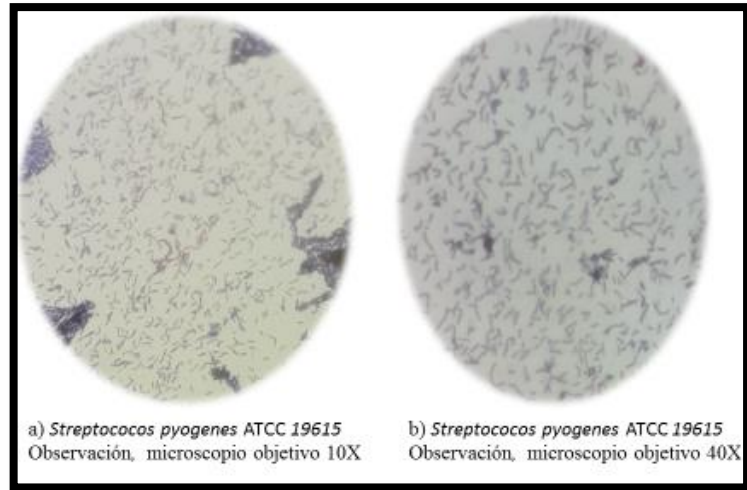


Figura 3. Observación al microscopio *S. pyogenes* en objetivo 10X y 40X
Fuente: Elaboración propia

Catalasa.- Prueba que permite identificar la presencia de la enzima catalasa. Esta enzima está presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos, donde las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso que se libera en forma de burbuja⁵¹.

La prueba se realizó agregando una gota de peróxido de hidrógeno sobre la muestra en una lámina porta objeto de vidrio. Es positiva si se observa un burbujeo intenso.



Figura 4: Prueba de catalasa para *S. aureus* y *S. pyogenes*
Fuente: Elaboración propia

Oxidasa.- La reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromo oxidasa que activa la oxidación del citocromo el cual es reducido por el oxígeno molecular para producir el peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana, el oxígeno actúa tanto como aceptor final de electrones en la cadena transportadora de electrones. Asimismo, la presencia de oxidasa va ligada a la producción de catalasa, ya que ésta degrada el peróxido de hidrógeno que se produce como consecuencia de la reducción del oxígeno y cuya acumulación es tóxica⁵¹.

Medios de cultivo selectivo:

Agar salino manitol (SM, MS “mannitol saline”, Medio de Chapman)

Es un medio selectivo para estafilococos debido a la alta concentración de cloruro sódico (75 g/L). Los estafilococos incorporan manitol como fuente de carbono y rojo fenol como indicador, lo que permite aprovechar la correlación que existe entre la patogenia y la capacidad fermentadora del manitol de los estafilococos para establecer un diagnóstico presuntivo y sirve, por lo tanto, como indicativo de la presencia de *Staphylococcus aureus*. Los estafilococos patógenos fermentan el manitol y producen colonias amarillas. Nos sirvió para identificar la cepa de *S. aureus* y para el aislamiento de las mismas en colonias⁵².

Agar sangre.- Medio de cultivo altamente nutritivo, adecuado para el cultivo de una gran variedad de microorganismos incluyendo aquellos de mayores exigencias para su desarrollo. Su formulación permite la recuperación de la mayoría de los patógenos de importancia clínica. La utilización del medio Agar sangre fue favorable para la identificación de *S. pyogenes*, también para el aislamiento de las mismas en colonias⁵³.

Preparación de las placas con medio de cultivo:

Se dispensó agar Manitol Salado, Agar sangre y agar Mueller-Hinton cada uno según cálculos referidos por el fabricante en un frasco de vidrio con tapa rosca de 250mL, se agregó agua destilada para diluir el medio

de cultivo. Una vez diluida se colocó la cinta indicadora de autoclavado en la tapa del frasco identificando el tipo de medio a autoclavar a 121°C durante 20 minutos, después se sacó cuidadosamente y se trasladó a la campana de bioseguridad para esperar que enfrié a una temperatura de 45 a 50 °C. Finalmente, se vertió de 20 a 25 ml de agar (4mm) fundido en placas petri estériles de 100mm de diámetro para el caso de Agar sangre y Agar Mueller-Hinton suplementado con sangre, se esperó que baje a una temperatura de 35-40°C, es ahí donde se agregó la sangre por las paredes del frasco después se agito cuidadosamente y se dispensó en las placas petri. Para eliminar la humedad las placas se colocaron en la campana de bioseguridad por un promedio de 15 a 30 min a una temperatura de 37°C. (Véase anexo 9.4 Esquema N°3 y figuras 21-24).

3.9.5.2. Determinación del efecto antibacteriano:

La determinación de la actividad antibacteriana se evaluó por la técnica de Difusión en Agar utilizando el medio Agar Mueller-Hinton para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y Agar Mueller-Hinton suplementado con Sangre para *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Esta técnica es una prueba rápida, práctica y reproducible.

Preparación de los discos con el extracto hidroalcohólico

Se utilizó 5 placas petri esterilizadas y rotuladas a concentraciones del 10%, 25%, 50%, 75% y el blanco. Con el uso de un perforador previamente esterilizado se procedió a perforar 22 discos del papel whatman esterilizado (UV) para cada concentración. Se pesó en una balanza analítica el extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishi* Lamb concentrado, luego se trasladó a la campana de bioseguridad para hacer las diluciones de 10%, 25%, 50%, 75% las cuales se colocaron en las placas petri antes mencionadas. Se colocaron los discos perforados con la ayuda de una pinza en las concentraciones preparadas, se esperó 4 horas aproximadamente para el secado y la absorción de las concentraciones.

Finalmente, se observó en el microscopio si los discos habían absorbido el extracto. (Véase anexo 9.4 Esquema N°4 y figuras 25-28).

Preparación del inóculo

De una placa con cultivo de cada microorganismo de estudio se seleccionó 3 colonias bien aisladas y de igual morfología con crecimiento entre las 18 y 24 horas, preferentemente de un cultivo puro. Cada colonia se transfirió tocando la parte superior de cada una con el asa bacteriológica a un tubo que contenga de 3-4 cm³ de caldo estéril de Mueller-Hinton (Véase anexo 9.4 Esquema N° 4 y figuras 29-32). Se preparó 3 tubos por cada microorganismo de estudio. Se incubó el cultivo a 35°C en una estufa por un tiempo prudencial de 2 a 8 horas hasta que se produzca un crecimiento moderado. Diluir el cultivo con solución salina estéril o caldo estéril hasta obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland lo cual corresponde aproximadamente a 108 microorganismos viables por mL.

Siembra de la muestra

1. Se sumergió un aplicador de algodón estéril, dentro de la suspensión del microorganismo en estudio.
2. Se colocó el aplicador por encima del nivel del contenido del tubo y se roto contra las paredes del mismo para remover el exceso del inóculo.
3. El inóculo se sembró uniformemente en tres direcciones sobre la superficie del medio con el aplicador. Se evitó inóculos muy concentrados o muy diluidos.
4. La superficie del medio sembrado se dejó que seque durante 5-20 minutos, manteniendo la placa con la tapa cerrada.
5. Utilizando pinzas estériles se colocó los discos de antibióticos y de los extractos en sus diferentes concentraciones sobre la superficie del agar; se presionó los discos ligeramente sobre el agar para asegurar un contacto uniforme.

6. Se colocaron los discos con el extracto en la periferia y 1 control positivo en el centro dejando entre disco y disco un espacio uniforme (aproximadamente de 2 cm.); para evitar que las zonas de inhibición queden imbricadas⁵⁴.

El instrumento se establece para ambos microorganismos de estudio por separado. (Véase anexo 9.4 Esquema N°5, figuras 33-38 y figuras 39 y 40).

Utilizando un Vernier calibrado se midió el crecimiento del microorganismo alrededor del disco de papel Whatman (halos de inhibición) impregnado con las diferentes concentraciones de los extractos y los antibióticos de referencia utilizados como control positivo y negativo. (Véase anexo 9.4 figuras 41 y 42).

Finalmente, se procedió a registrar los datos obtenidos en la ficha de registro elaborada para ambos microorganismos de estudio (instrumento de recolección de datos), de forma visual y manual y en las horas establecidas. (Véase anexo 9.4 figura 43).

3.9.5.3 Tipos de halos de inhibición que se puede desarrollar

Para determinar la sensibilidad de la bacteria hacia un antibiótico, se mide el diámetro de la inhibición producida por el antibiótico. La manera correcta de hacer la medición es midiendo con el vernier el radio del halo de inhibición y multiplicándolo por 2, cotejarlo con la tabla estandarizada por bacteria y antibiótico proporcionada por Emarin SDA S.A.⁵⁵.

En la lectura de la prueba de sensibilidad se interpreta los resultados como:

Resistente (R): Indica una lectura de 6mm que es el tamaño del disco por tanto, no hay halo de inhibición o si existe, su diámetro es muy estrecho.

Sensible (S): Indica que hay un halo amplio libre de crecimiento bacteriano alrededor del sensidisco.

3.9.5.4 Antibióticos utilizados como referencia (sensible y resistente).

Amoxicilina.- Es un antibiótico semisintético derivado de la penicilina. Se trata de un amino penicilina. Actúa inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana uniéndose a unas proteínas específicas llamadas PBPs (*Penicillin-Binding Proteins*) encontradas en la pared celular. La amoxicilina impide la formación de la pared bacteriana provocando la lisis de la bacteria. Su farmacocinética se absorbe en un 75 a 90 % en el tracto gastro intestinal (TGI), provocando concentraciones superiores a nivel de plasma y tejido, su buena distribución, pasa al líquido pleural, peritoneal y sinovial, líquido cefalorraquídeo a menos que estén las meninges inflamadas; sus excreciones son por los senos maxilares, bronquiales, oído medio. Se excreta por vía renal sin cambio un 80 % de la dosis oral después de 6 h de su administración. Presenta contraindicaciones tales como hipersensibilidad a la amoxicilina, penicilina o algún componente de su formulación^{56,57}.

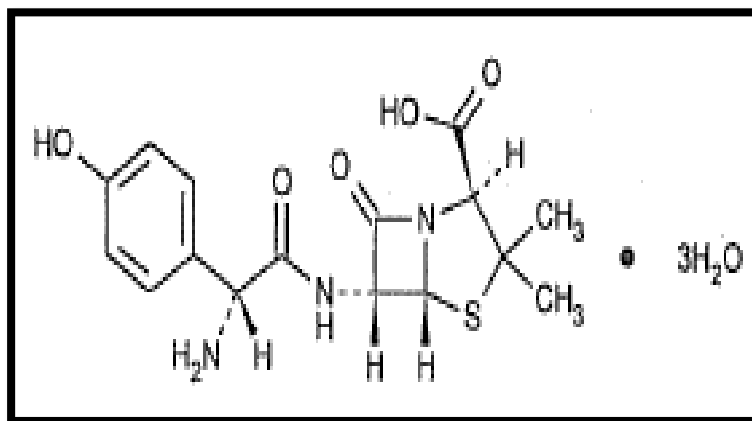


Figura 5. Estructura química de la Amoxicilina.
Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos 38 - NF 33. (2015)

La amoxicilina se utilizó en discos de sensibilidad para antibiograma a una concentración de 25µg como antibiótico resistente para las cepas de *S. aureus*, su fecha de vencimiento diciembre 2021, se mantuvo refrigerado a una temperatura de 2 a 8°C.

Eritromicina.- Es un antibiótico de la familia de los macrólidos, trabaja impidiendo la síntesis de proteínas en las bacterias. Ejerce su acción antimicrobiana mediante la asociación a la subunidad 50S ribosomal de los microorganismos sensibles y por medio de la inhibición de la síntesis proteica sin afectar la síntesis de ácidos nucleicos. Su biodisponibilidad es de 30 a 65%, depende de la sal, se distribuye en los tejidos y fluidos, habiendo concentraciones elevadas en el hígado, bilis y bazo, y pocas concentraciones en Liquido Céfal Raquídeo, se une de 70 al 90% a proteínas plasmáticas. Su metabolismo hepático, mayor al 90% y es excretada en bilis^{58,57}.

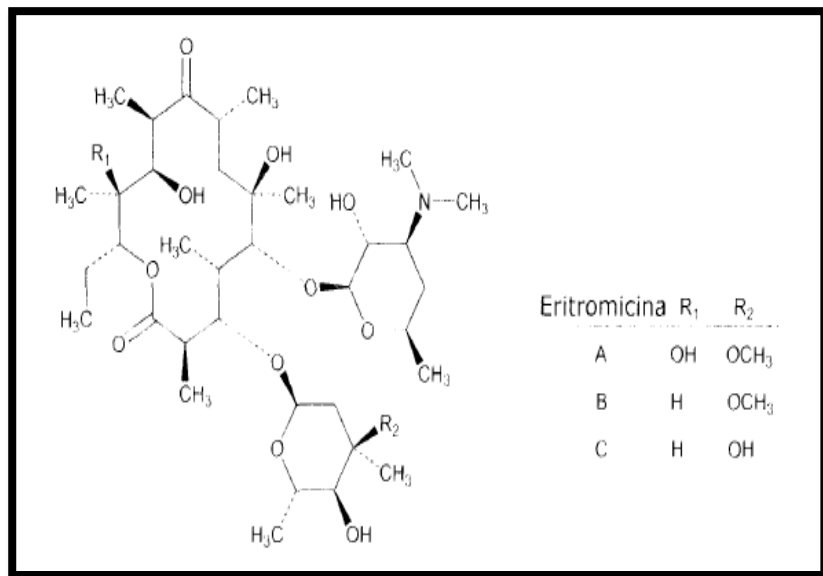


Figura 6: Estructura química de la Eritromicina
Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos 38 - NF 33. (2015)

La eritromicina fue utilizada en discos de sensibilidad para antibiograma a una concentración de 15µg como antibiótico resistente para en caso de las cepas de *S. pyogenes* y sensible para las cepas *S. aureus*, su fecha de vencimiento es julio 2020, se mantuvo refrigerado a una temperatura de 2 a 8°C.

Penicilina G sódica.- Son antibióticos del grupo de los betalactámicos utilizados permanentemente en el proceso de infecciones causadas por bacterias sensibles. Las penicilinas son derivados del ácido 6-aminopenicilánico, difiriendo entre sí según la sustitución en la cadena lateral de su grupo amino. Actúa destruyendo a las bacterias e inhibiendo su crecimiento; sólo puede destruir a los organismos que están creciendo y multiplicándose, no a los que se encuentran en estado latente. Su farmacocinética alcanza concentraciones plasmáticas de pico a los 15 o 30 minutos luego de su administración. Se une a proteína plasmática en un 45 a 68%. Asimismo, es rápidamente excretada en orina, cerca del 60 a 90% en 1 hora. Efectiva contra un amplio espectro de microorganismos como los neumococos, los estreptococos, los gonococos, los meningococos, el bacilo *Clostridium tetani* causante del tétanos y la espiroqueta responsable de la sífilis^{59,57}.

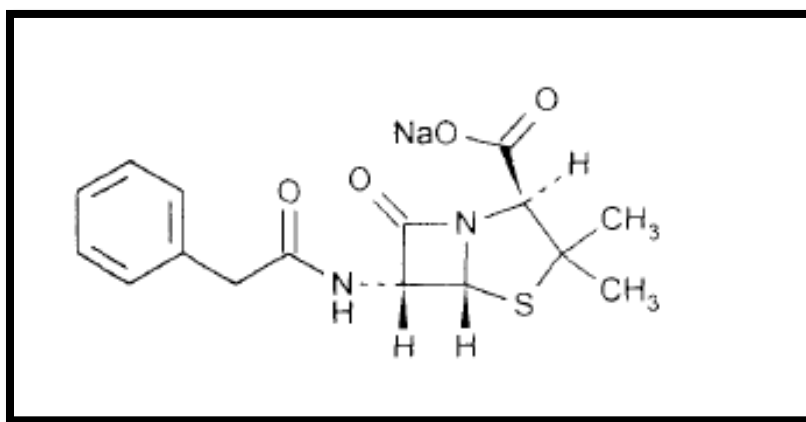


Figura 7: Estructura química de penicilina G Sódica
Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos 38 - NF 33. (2015)

La penicilina fue usada en discos de sensibilidad a una concentración de 10UI como antibiótico sensible a las cepas de *S. pyogenes*, su fecha de vencimiento diciembre 2021, también se mantuvo refrigerado a una temperatura de 2 a 8°C.

3.10. Componente ético de la investigación

La presente investigación se enfoca en evitar la contaminación bacteriana, para ello se utilizó los medios obligatorios para no perjudicar a las personas que trabajan y transitan en dicho ambiente. Se utilizó las medidas de protección específicas de bioseguridad y vestimenta durante toda la ejecución de la investigación teniendo en cuenta que se trabajó con cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Además, se realizaron controles internos ambientales en todo el proceso experimental. Al final se respetó los resultados que fueron encontrados durante la ejecución del proyecto.

3.11. Procesamiento y análisis de datos

El análisis de datos utilizado para esta evaluación fue el análisis de varianza ANOVA del programa estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 21) y la comparación de medias de Duncan. Los datos recolectados permitieron la elaboración de una matriz a partir de la cual se desarrolló el análisis estadístico de varianza factorial dando a conocer medidas de tendencia central y tomando en cuenta el análisis inferencial que se constituyó los valores de significancia respectivos que serán de utilidad para la contratación de hipótesis.

4. RESULTADOS

4.1. Prueba de solubilidad.

Se realizó la prueba de solubilidad en la muestra del extracto hidroalcohólico de la savia de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado) mostrando los siguientes resultados:

El extracto hidroalcohólico indicó mayor solubilidad para los compuestos polares, principalmente para el agua, etanol 96% y etanol 70%, seguido de una menor solubilidad con el metanol. Además, también mostró ser poco soluble con la Acetona. (Tabla 1).

Tabla 1. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado)

Solvente	Resultado
Agua destilada	+++
Etanol 96%	+++
Etanol 70%	+++
Metanol	+
Acetato de etilo	-
Cloroformo	-
Acetona	+
Éter	-
Éter de petróleo	-

Leyenda: - : Insoluble, + : Poco soluble, ++ : Soluble, +++ : Muy soluble

4.2. Tamizaje fitoquímico para la identificación de metabolitos secundarios

Para la identificación de los metabolitos secundarios (alcaloides, esteroides, flavonoides, saponinas, taninos) de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado), se utilizó el análisis cualitativo que está basado en la observación visual de cambio de color y/o la formación de precipitados después de adicionar un reactivo específico como muestra la tabla 2, con reacciones positivas y negativas para algunos metabolitos presentes en el extracto de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado).

En el análisis fitoquímico, se observa en la tabla 2 abundante concentración de alcaloides, compuestos fenólicos y saponinas; seguida de una moderada concentración de flavonoides, monosacáridos, glicósidos, aminoácidos, gomas, mucilagos, taninos y pocas cantidades de azúcares, con ausencia de esteroides.

Tabla 2. Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado).

Metabolitos Secundarios	Reactivo	Reacción	Observación	Resultado
	Blanco del extracto sin reactivos	1 mL de extracto hidroalcohólico	Coloración característica del extracto	Marrón claro
Monosacáridos	Molish	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 4 gts de reactivo + 10 gts de Ácido sulfúrico concentrado	Formación de un halo rojo	++
	Fehling	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + (1 ml de fehling A + 1 ml de fehling B), llevar a calor	Precipitado rojo ladrillo	+
	Benedict	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 1 ml de reactivo Benedict, ebullición	Precipitado rojo ladrillo	+
Glicósidos	Fehling	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + (1 ml de Ácido sulfúrico concentrado llevar que hierva, neutralizar con NaOH y hacer actuar con reactivo Fehling	Precipitado rojo ladrillo	++
	Benedict	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 1 ml de reactivo Benedict, ebullición	Precipitado rojo ladrillo	+

Aminoácidos	Ninhidrina	0.5 ml de extracto hidroalcohólico acidificado con HCl al 1% + 3 gts de solución ninhidrina al 1% calentar 5min.	Coloración rojizas, vioetas, amarillentas o rojizas anaranjadas	++
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 2 gts de cloruro férrico al 1%	Precipitados, coloraciones azuladas-verdosas	+++
	Ácido sulfúrico	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 2 gts de ácido sulfúrico concentrado	Coloración roja	-
Flavonoides	Shinoda	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + limaduras de magnesio metálico y 2 a 3 gts de HCl concentrado	Coloraciones anaranjado o rojo	-
	Cloruro férrico	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 2 gts de cloruro férrico al 1%	coloraciones azuladas-verdosas	++
	Ácido sulfúrico	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 2 gts de ácido sulfúrico concentrado	Coloración roja, amarillo, guinda, anaranjado	-
Taninos	Cloruro de gelatina-sal	Tb 1: a 0.5 ml de extracto + 5gts de NaCl a 5% Tb 2: a 0.5 ml de extracto + solución de gelatina al 1% Tb 3: a 0.5 ml de extracto + cloruro gelatina-sal	Formación de precipitado en el segundo y tercer tubo	+
	Acetato de plomo	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 3 gts de acetato de plomo al 5%	Precipitado pardo	++
	Cloruro férrico	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 2 gts de cloruro férrico al 1%	coloraciones azuladas-verdosas	++
Saponinas	Ácido sulfúrico	0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 2 gts de ácido sulfúrico concentrado	Coloración roja, amarillo, guinda, anaranjado	-
	Espuma	En tub. 2 ml de extracto hidroalcohólico diluir 5 veces el volumen en agua y filtrar, agitar x 30 segundos	Espuma persistente por 30 minutos	+++
Esteroides	Lieberman-Burchard	A 0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 2-3 gts de reactivo Lieberman-burchard	Coloración azul o azul verdosa	-
Alcaloides	Dragendorff	A 0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 2-3 gts de reactivo Dragendorff	Precipitado color naranja o marrón	+++
	Mayer	A 0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 2-3 gts de reactivo de Mayer.	Precipitado blanco o amarillento	++

	Wagner	A 0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 2-3 gts de reactivo Wagner	Precipitado marrón	+++
	Cloruro de Mercurio	A 0.5 ml de extracto hidroalcohólico agregar cloruro de mercurio al 5%	Precipitado blanco o amarillento	-
Gomas	Acetato Básico de Plomo	A 0.5 ml de extracto hidroalcohólico agregar 2-3 gts de acetato básico de plomo.	Coloración rosada o púrpura	++
Mucilagos	Acetato neutro de Plomo	A 0.5 ml de extracto hidroalcohólico agregar 2-3 gts de acetato neutro de plomo.	Coloración rosada o púrpura	++

Leyenda: - : Ausencia, +: Leve, ++ : Moderado, +++ : Abundante.

4.3. Método microbiológico

Determinación de la actividad antibacteriana

Se evaluó la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de la savia de *Musa cavendishii* Lamb. en concentraciones de 10%, 25%, 50% y 75% frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 en diferentes tiempos siendo 24, 48 y 72 horas. Mediante el análisis de varianza factorial se encontró diferencias significativas entre las cepas ensayadas, entre las dosis del extracto y las horas de crecimiento de las colonias. De igual manera se demuestra que la cepa y el tratamiento tienen interacción, es decir, el tratamiento difiere entre las cepas ensayadas o no tienen el mismo efecto en ambas.

Tabla 3. Análisis de varianza del halo de inhibición promedio del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 a las 24, 48 y 72 horas.

Fuente de Variación	SC	GL	CM	FC	P-VALOR
Cepa	103,714	1	103,714	29,858	,000
Tratamiento	30436,106	6	5072,684	1460,377	,000
Hora	53,143	2	26,571	7,650	,001
Cepa / Tratamiento	1173,841	6	195,640	56,323	,000
Cepa / Hora	14,159	2	7,079	2,038	,132
Tratamiento / Hora	18,116	12	1,510	,435	,949
Cepa / Tratamiento / Hora	10,286	12	,857	,247	,996
Error	1167,111	336	3,474		
Total	32976,476	377			

FV (Fuente de Variabilidad), SC (Suma de Cuadrados), GL (Grado de Libertad), CM (Cuadro Medido), FC (F Calculado) y P Valor (Valor de probabilidad).

Hi = Existe diferencias entre los promedios de halos de inhibición en las diferentes muestras.
 Ho= No existe diferencias entre los promedios de halos de inhibición en las diferentes muestras.

En la tabla 3, podemos observar el valor de la probabilidad de ,000 que es menor a 0.5 lo cual se puede rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis inicial donde existe diferencias significativas entre las cepas ensayadas, entre las diferentes dosis del extracto y las horas de crecimiento de las colonias. Del mismo modo se muestra que la cepa y tratamiento tienen interacción, es decir, el tratamiento difiere entre las cepas ensayadas o no tienen el mismo efecto en ambas cepas.

Luego se determinó las diferencias entre tratamientos dividiendo la data en dos ensayos, uno para cada cepa ensayada respectivamente, para determinar las diferencias entre los tratamientos.

Tabla 4. Análisis de varianza del halo de inhibición promedio por tratamientos frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

FV	SC	GL	CM	FC	P-VALOR
Tratamiento	19178.921	6	3196.487	888.435	0.000
Hora	6.222	2	3.111	0.865	0.423
Tratamiento vs. Hora	14.222	12	1.185	0.329	0.983
Error	604.444	168	3.598		
Total corregido	19803.810	188			

FV (Fuente de Variabilidad), SC (Suma de Cuadrados), GL (Grado de Libertad), CM (Cuadro Medido), FC (F Calculado) y P Valor (Valor de probabilidad).

Hi = Existe diferencia en el halo de inhibición promedio por tratamientos en las cepas *Staphylococcus aureus*.

Ho= No existe diferencia en el halo de inhibición promedio por tratamientos en las cepas *Staphylococcus aureus*.

En cuanto a la eficacia antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, aceptamos la hipótesis inicial debido a que se encontró diferencias entre las dosis ensayadas (Tabla 4) independientemente de la hora y la evaluación del crecimiento de las colonias bacterianas; sin embargo, entre las mismas no se encontró diferencias respecto a los antibióticos utilizados como controles.

Tabla 5. Comparación del halo de inhibición promedio por tratamientos frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tratamiento	Halo de inhibición
Blanco	6.0 a
Extracto 10%	6.0 a
Extracto 25%	6.0 a
Extracto 50%	8.4 b
Extracto 75%	9.0 b
Amoxicilina	21.9 c
Eritromicina	34.1 d

*Promedios unidos por la misma letra son estadísticamente similares ($p < 0.05$)

Según la prueba de comparación de medias de Duncan ($p < 0.05$) en la Tabla 5, los promedios unidos por la misma letra son estadísticamente similares, para los tratamientos con extractos al 75% evidenciaron un halo de inhibición de 9.0mm similar a los extractos de 50% con un halo de 8.4mm, evidenciando menor actividad antibacteriana, mientras que los extractos al 10% y 25% no mostró actividad antibacteriana (Ver anexos 9.4; figuras 25-28).

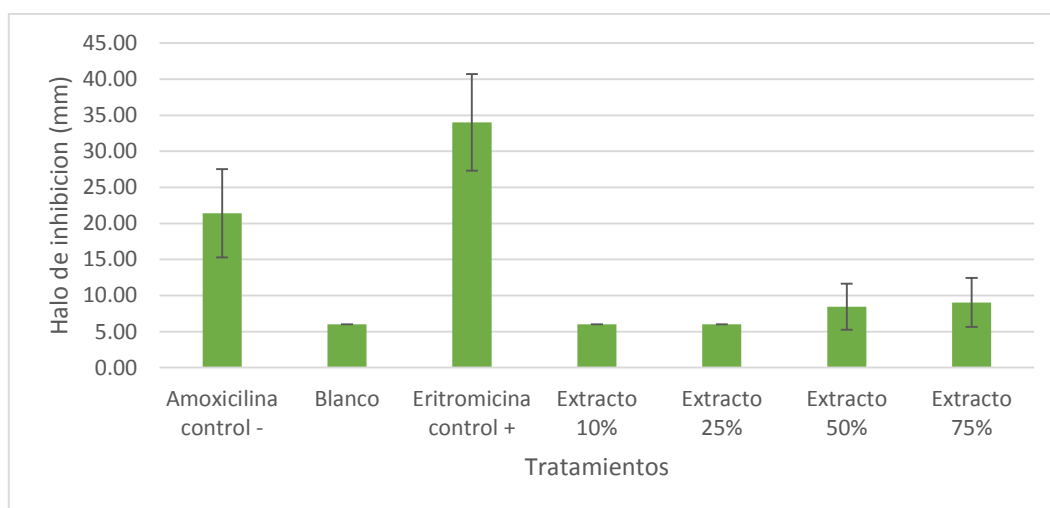


Figura 8. Halo de inhibición promedio por tratamientos frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

En la figura 8 podemos observar dentro de los antibióticos ensayados que la Eritromicina es uno de los macrólidos que evidenció efecto inhibitor frente a la cepa de *S. aureus* con 34.1mm de halo de inhibición, siendo un control positivo predilecto. No obstante, el control negativo Amoxicilina generó 21.9mm de halo de inhibición, mostrando que esta cepa no es resistente a este antibiótico. Por otro lado, el ensayo demostró que el extracto al 50% y 75% tuvo menor actividad antibacteriana en comparación a la Eritromicina (Ver anexos 9.4 figura 42).

Tabla 6. Análisis de varianza del halo de inhibición promedio por tratamientos frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

FV	SC	GL	CM	FC	P-VALOR
Tratamiento	12431.026	6	2071.838	618.606	0.000
Hora	61.079	2	30.540	9.118	0.000
Tratamiento vs. Hora	14.180	12	1.182	0.353	0.977
Error	562.667	168	3.349		
Total corregido	13068.952	188			

FV (Fuente de Variabilidad), SC (Suma de Cuadrados), GL (Grado de Libertad), CM (Cuadro Medido), FC (F Calculado) y P Valor (Valor de probabilidad).

Hi = Existe diferencia en el halo de inhibición promedio por tratamientos en las cepas *Streptococcus pyogenes*.

Ho= No existe diferencia en el halo de inhibición promedio por tratamientos en las cepas *Streptococcus pyogenes*.

En relación sobre la eficacia antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 aceptamos la hipótesis inicial debido a que el valor de probabilidad es menor a 0.05 se halló diferencias entre las dosis ensayadas y entre las horas de evaluación del crecimiento de las colonias bacterianas (Tabla 6).

Tabla 7. Comparación del halo de inhibición promedio por tratamientos frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Tratamiento	Halo de inhibición
Blanco	6.0 a
Extracto 10%	9.4 b
Extracto 25%	11.0 c
Extracto 75%	11.6 c
Extracto 50%	12.0 c
Eritromicina	15.9 d
Penicilina	32.8 e

*Promedios unidos por la misma letra son estadísticamente similares ($p < 0.05$)

En relación a los halos de inhibición ensayados (Tabla 7), el extracto al 50% dio halos de inhibición de 12.0mm siendo esta la de mayor tamaño entre los extractos, mientras que el extracto al 10% exhibió halos de 9.4mm, siendo favorable la actividad antibacteriana en comparación con los halos que se evidenciaron con las cepas de *S. aureus* (Ver anexos 9.4: figuras 25-28).

Tabla 8. Comparación del halo de inhibición promedio por tratamientos frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 según las horas de control

Hora	Halo de inhibición
24 horas	13.33 a
48 horas	14.41 b
72 horas	14.63 b

*Promedios unidos por la misma letra son estadísticamente similares ($p < 0.05$)

Se observó actividad antibacteriana con mayor eficacia inhibitoria entre las 48 y 72 horas, con halos más altos que a las 24 horas, dentro de las primeras 24 horas expuso un halo de 13.33mm, pero en las posteriores 48 y 72 horas se observó un ligero incremento del tamaño de halo de inhibición de 14.63mm (Tabla 8).

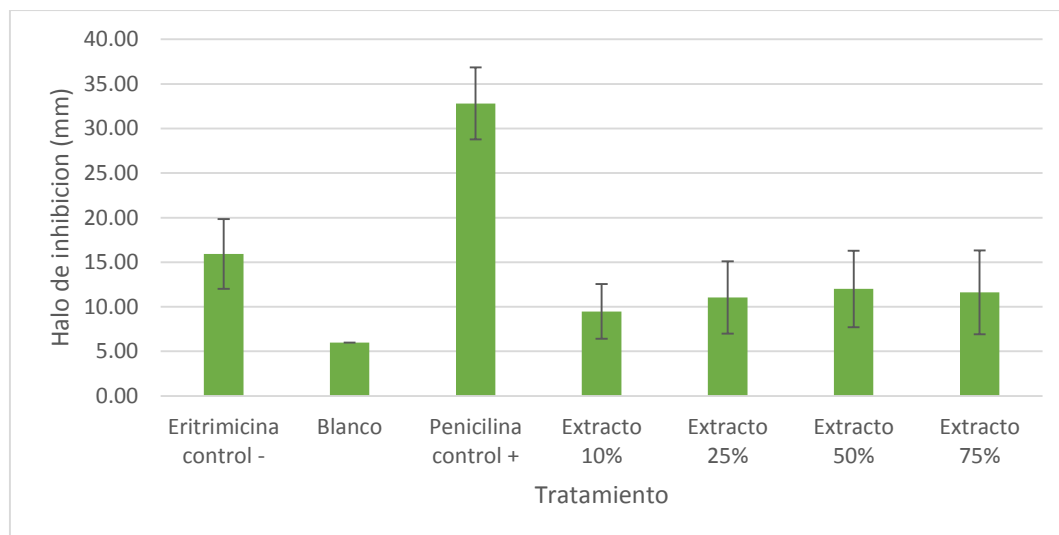


Figura 9. Halo de inhibición promedio por tratamientos *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

La penicilina evidenció mayor efecto inhibitor frente a la cepa de *S. pyogenes* con 32.8mm de halo de inhibición, mostrando la efectividad del control positivo. Sin embargo, la Eritromicina con 15.9mm de halo de inhibición demostró que este antibiótico no es considerado como un control negativo para esta cepa comercial. En cuanto a los extractos del 10%, 25% y 75% tuvieron halos de inhibición entre 9-11mm, pero cabe resaltar que el extracto de 50% tuvo un halo de 12mm mostrando una mayor actividad antibacteriana en comparación de los otros extractos. (Figura 9) (Ver anexos 9.4 figura 41).

5. DISCUSIÓN

Los microorganismos como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* poseen características particulares de virulencia y resistencia contra antibióticos, lo cual constituye un grave problema de salud afectando a las personas y generando diversas enfermedades infecciosas en la piel, tejidos blandos, algunos órganos y sistemas, esto es, gracias a que su distribución se extiende a nivel mundial y el impacto en la morbimortalidad es considerable a nivel comunitario e intrahospitalario¹⁰.

Según estudios realizados en España las bacterias más importantes como flora transitoria de la piel son *S. aureus* y *S. pyogenes*, por ello están implicadas en infecciones cutáneas. Tal es así, hasta un 20-40% de adultos sanos presentan colonización nasal por *S. aureus*, y un 20% perineal, pero sólo contaminan de forma transitoria el resto de zonas del organismo⁴.

En la prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado), los compuestos polares solubles fueron el agua, etanol y metanol según se visualiza en la Tabla 1 del presente estudio. Amparándose dichos resultados con el estudio de Tasayco N. (2017), donde analizó las mismas pruebas de solubilidad en la especie de *Musa acuminata* comprobando que la mayor solubilidad en este género fue en solventes polares (agua, etanol y metanol). Lo que nos revelaría la presencia de compuestos fenólicos de alta polaridad en nuestro extracto, los cuales nuestros resultados son confirmados por el estudio de Tasayco N²⁰.

En relación al ensayo de análisis fitoquímico según se muestra en la Tabla 2, el extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado) posee metabolitos secundarios como saponinas, fenoles y alcaloides en abundancia, gomas, mucilagos, flavonoides y taninos en moderada concentración. Se conoce que los taninos poseen la destreza de constituir complejos con proteínas y polisacáridos, además de estar relacionado con la actividad antibacteriana. La presencia de este metabolito en el extracto de *Musa cavendishii* Lamb podría favorecer la inhibición bacteriana en nuestro estudio,

estos resultados se apoyan con el estudio de Sumathy, *et al* (2011) que fue mencionado por los autores Bonilla J y Gonzales E (2017), quienes demostraron que el extracto líquido de *Musa acuminata* posee un efecto bactericida contra *Staphylococcus aureus* donde revelan la presencia de saponinas, taninos y flavonoides¹⁷.

La presencia de los metabolitos secundarios antes mencionados en la savia del género *Musa* de manera particular posee componentes activos como: los glucósidos, que crean un medio hipertónico para la bacteria y los taninos que se agrupan a los esteroides de las saponinas, de esta forma estos pasan al interior de la bacteria ocasionando astringencia de la célula bacteriana. En cuanto a los fenoles y flavonoides a pesar que se encargan de desnaturalizar las proteínas de la membrana celular, no necesariamente es letal para *Staphylococcus aureus* cuya pared celular es muy resistente por la gran cantidad de peptidoglucano que contiene. Los metabolitos mencionados están fuertemente relacionados con el efecto antibacteriano, información ratificada en los estudios realizados por Bonilla J y Gonzales E (2017), quienes demostraron que el extracto líquido de *Musa acuminata* posee un efecto inhibitorio contra *Staphylococcus aureus*¹⁷.

Otros investigadores afirman que los terpenos, saponinas, flavonoides, alcaloides, gomas y mucilagos de una u otra forma tienen inferencia en sus propiedades antibacterianas. Los flavonoides, se definen por tener diversas actividades como antioxidante, antiinflamatoria, antiviral, antibacteriana, papel protector contra enfermedades cardiovasculares, cáncer y diversas enfermedades²⁶.

Existen diferentes investigaciones desarrolladas sobre las propiedades medicinales del género *Musa* en diferentes partes del mundo. En nuestro país se han reportado investigaciones con *Musa paradisiaca* y *Musa acuminata*, pero en la región Junín, Chanchamayo selva central, la savia de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado) lo usan como medicina tradicional a través de aplicación directa sobre infecciones, y esta planta tiene diferentes propiedades las cuales aún no ha sido investigada a fondo. Teniendo en cuenta, la información brindada por los pobladores de las propiedades medicinales que tiene dicha planta, nuestro estudio demostró el efecto antibacteriano del extracto de *Musa*

cavendishii Lamb (plátano morado) frente a las dos cepas de *S. pyogenes* y *S. aureus*, siendo la primera cepa la que evidenció actividad antibacteriana favorable al 50% de extracto con halos de inhibición de 12.0mm. Sin embargo, podemos afirmar que la savia del plátano tendría menor actividad antibacteriana en comparación a los medicamentos sintéticos (Tabla 5 y 7).

En relación a los resultados obtenidos para las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 según la tabla 4 existe diferencias entre las distintas concentraciones del extracto, independientemente de la hora de evaluación. En la tabla 5 se observa que las concentraciones del 50% formaron halo de inhibición de 8.4mm y los de 75% halos de inhibición de 9.0mm. Estos resultados se asemejan a los que presentó Noles T. (2018), el cuál investigó sobre la capacidad antibacteriana de los taninos del plátano verde frente a *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600, exhibiendo halos de inhibición entre los 7mm para el extracto acuoso y 12 mm para el extracto etanólico tanto de la cáscara y el fruto, mostrando que el género *Musa* tiene mínima actividad antibacteriana frente a *S. aureus*¹³.

Verificando los resultados de la presente investigación en cuanto a las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 según la figura 8, las concentraciones del extracto de 50% y 75% mostraron menor tamaño de halos de inhibición en comparación con los antibióticos utilizados como controles, estos resultados son parecidos a los que reportaron Yarlequé M y Wong J (2018), el cual estudiaron el efecto antibacteriano *in vitro* de apitoxina de *Apis mellifera* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y su comparación con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica, donde el efecto antibacteriano de la apitoxina comercial fue menor en comparación a los antibióticos betalactámicos utilizados. A pesar que los extractos y/o productos naturales están teniendo efecto antibacteriano si lo comparamos con la efectividad de los antibióticos sintéticos se observa que tiene menor efecto para la cepa de *S. aureus*⁶⁰.

Los resultados hallados según la tabla 5 y 7 muestra que a mayor concentración del extracto, considerando extractos al 50% y 75%, forman mayor tamaño de halo de inhibición. En la primera concentración muestra 12.0mm y para el segundo 9.0mm

desarrolladas en ambas cepas del presente estudio, estos resultados son estadísticamente similares a los que evidencio Mayorga J. (2017), realizando un estudio *in vitro* del efecto inhibitorio del extracto de la *Musa paradisiaca* frente a *Porphyromona gingivalis*, donde concentró el extracto en 25%, 50% y 100% donde la última concentración fue el que formó un halo inhibitorio importante frente a *Porphyromona gingivalis*, notándose un halo de inhibición con un valor superior de 13mm dándonos a entender que a mayor concentración del extracto del género *Musa* tendrá efectos más favorables¹¹.

6. CONCLUSIONES

Existe eficacia en la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (Plátano morado) frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Se determinó cualitativamente los principales metabolitos secundarios mediante análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado), encontrando mayor cantidad de compuestos fenólicos, alcaloides y saponinas, lo cual se podría considerar que de una u otra forma tienen inferencia en sus propiedades antibacterianas.

En las cepas de *S. aureus* ATCC 25923, los extractos al 50% con halo de inhibición de 8.4 mm y al 75% con halos de inhibición de 9.0 mm tiene poca efectividad inhibitoria en comparación a los antibióticos utilizados en este estudio.

En la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 el extracto al 50% mostró un halo de inhibición de 12.00 mm, mayor a las demás concentraciones, y se vio incrementado ligeramente entre las 48h y 72h con halo de inhibición de 14mm demostrando que tiene efectividad inhibitoria, pero es menor en comparación a los antibióticos como la penicilina que exhibió 32.8 mm de halos de inhibición.

La concentración efectiva inhibitoria del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (Plátano morado) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es al 75%, mientras que en la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 es al 50%.

7. RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer estudios con otros microorganismos que pueden ser hongos o parásitos y así poder evaluar su actividad cicatrizante, antiulcerosa, gastroprotector y antiinflamatorio ya que no existen referencias sobre estos temas en relación a la savia de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado).

Realizar estudios cuantitativos para identificar los metabolitos primarios y secundarios del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado), siendo entre las más selectivas la Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la Cromatografía en capa fina (TLC). Estas técnicas son las más utilizadas en las investigaciones relacionados a plantas medicinales donde se pueden identificar su estructura de cada metabolito hallado.

También se puede realizar estudios con las hojas o frutos de *Musa cavendishii* Lamb. (plátano morado), donde algunos estudios reportan resultados más favorables sobre su actividad antibacteriana del género *Musa*.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Villareal L, *et al.* (A. GSW. actividad contra *Porphyromonas gingivalis*, evaluación citotóxica y mutagénica. Rev Mex ciencias Farm. 2014;8(45):2.
2. Universidad Autónoma de México. Medicamentos, plantas y productos naturales. p. 1–5.
3. Tom K, *et al.* Flowers with Antibacterial Property- A Survey in Meenachil Taluk. J Pharm , Chem Biol Sci. 2016;4(Agosto):252–61.
4. Saavedra J, *et al.* Infecciones bacterianas de la piel y tejidos blandos. Protocolo de diagnóstico terapéuticos la AEP Infectología pediátrica. 17:160–74.
5. Alvarado G, *et al.* Riesgo de aparición de cepas *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina en pacientes hospitalarios de un hospital del Perú. CIMEL. 2008;15(2):59–62.
6. Fetsch A. *Staphylococcus aureus*. Acad Press ed. 2018;10(1016):8.
7. Aracil B y Alós J. *Streptococcus pyogenes* resistentes a Macrólidos [Internet]. Availablefrom:
<https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/fenotm.pdf>
8. Un Nuevo Informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Ginebra; 2014.
9. Organización Mundial de la Salud (OMS) [Internet]. 2018. Available from:
<https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/es/>
10. Zendejas G, *et al.* Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Rev Biomédica [Internet]. 2014;25(3):129–43.Availablefrom:
<http://revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed/article/view/42/54>
11. Mayorga J. “Efecto Inhibitorio del extracto de la *Musa Paradisiaca* en diferentes concentraciones y tiempos diferentes frente a la *Porphyromona gingivalis*, estudio in vitro.” Ecuador.; 2017. p. Resumen.

12. Molina G, *et al.* *Musa paradisiaca* L. (plátano): El extracto hexánico de las hojas y el de acetato de etilo del rizoma son activos contra *Mycobacterium tuberculosis* resistente a los medicamentos de primera línea. *Rev Mex Cienc Farm.* 2016;47(2):68–73.
13. Noles T. Evaluación de la capacidad antibacteriana de los taninos extraídos del banano verde (*Musa sp.*), rechazo de las bananeras, frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600. 2018.
14. Tamri P, *et al.* Evaluation Of Wound Healing Activity Of Hydroalcoholic Extract Of Banana (*Musa Acuminata*) Fruit’S Peel In Rabbit. *Farmacology Line.* 2016;3:203–8.
15. Kapadia S, *et al.* Detection of antimicrobial activity of banana peel (*Musa paradisiaca* L.) on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* : An in vitro study. *Contemp Clin Dent.* 2015;6(4):496–9.
16. Alcalde M. Eficacia bactericida de savia de *Musa acuminata* “plátano” sobre cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, estudio in vitro. 2017.
17. Bonilla J y Gonzales E. Efecto Inhibitorio in vitro 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. 2017.
18. Ortíz F. Efecto antibacteriano de la *Musa acuminata* (plátano) frente al *Enterococcus faecalis* atcc 29212 - in vitro. 2018.
19. Loyaga M. Actividad antifúngica de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de la cáscara de *Musa paradisiaca* (plátano) sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, trujillo - 2017. 2019.
20. Tasayco N. Seguridad y Actividad Antiulcerosa de la savia liofilizada de la *Musa acuminata* colla (plátano de seda) en ratas inducidas a úlcera gástrica e in vitro. 2017.
21. Ministerio de Agricultura y Riego. El Banano Peruano, Producto Estrella de Exportación. 2014. 47 p.

22. Escobar J. Produccion Moderna de Bananas [Internet]. 1965. p. 16. Available from: <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/848/1/AL445 Ref. 3359.pdf>.
23. Ávalos A y Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología) [Internet]. 2009;2(3):119–45. Available from: <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798>.
24. Ramírez M, *et al.* Flavonoides con actividad antiprotozoaria. Rev Mex Ciencias Farm [Internet]. 2010;41(1):6–21. Available from: http://afmac.org.mx/wp-content/uploads/rmcf_enemarzo2010.pdf%0Ahttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed12&NEWS=N&AN=358911295.
25. Cervantes A. Presencia de saponinas en *Agave spp* de México. Bioz [Internet]. 2016;1:3. Available from: <http://editorial-uaie.uaz.edu.mx/index.php/bioz/article/viewFile/108/80>.
26. Loyola V, *et al.* Biosíntesis de los alcaloides indólicos. Una revisión crítica. J Mex Chem Soc [Internet]. 2004;48:67–94. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=47548113>.
27. Soto D y Gysling J. Productos con oportunidad de desarrollo en Chile: Mucílago de algarrobo Chileno (*Prosopis Chilensis*). Cienc e Investig For - Inst For Chile. 2009;15(2):256–76.
28. Champion J. El plátano. Técnicas agrícolas y producciones tropicales. Ed. Blume. 1969. 247 p.
29. Blasco G y Gómez F. Propiedades funcionales del plátano (*Musa sp*). Rev Med UV. 2014;23–5.
30. Koneman Diagnostico Microbiologico. Introducción Parte I: El papel del laboratorio de microbiología en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas: guía para la práctica y el tratamiento. Editorial. 2012. 3 p.
31. Deng J, *et al.* Broad and Effective Protection against *Staphylococcus aureus* Is Elicited by a Multivalent Vaccine Formulated with Novel Antigens. Ther Prev Broad. 2019;4(5):1–14.

32. Larry M. Infecciones por *Staphylococcus aureus*. MD, FACP, Charles E. Schmidt College of Medicine, Florida Atlantic University. 2015.
33. Rodríguez G. Géneros *Streptococcus* y *enterococcus*. Rev Bacteriol y Virol médica. 2006;1:273 – 290.
34. Gonzáles M. Pruebas de detección rápida para el diagnóstico. Infecciones Respiratorias. Rev Form Act en Pediatría Atención Primarias. 2009;2(4):220–4.
35. Cross A. What is a virulence factor. Crit Care. 2008;12(6):196.
36. Taroco R, et al. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Rev Bacteriol y Virol Médica. 1:663–71.
37. Herrera V, et al. Actualización en el manejo de antibióticos en las infecciones superficiales de piel y partes blandas. Acta Médica Peru. 2006;23(1):32–4.
38. Cercenadoa E y Ruiz de Gopeguib E. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina de origen comunitario. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2008;26(13):19–24.
39. Biblioteca virtual de salud. Descriptores de la ciencia de la salud [Internet]. 2003. Available from: <http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decsserver/>. 47.
40. Guillem P. Microbiología y Parasitología Medica. Editorial Panamericana, editor. 9na Edición; 2013. 234 p.
41. Perilla M, et al. Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo. Manual. Organización Mundial de la Salud; 2004.
42. Murray P, et al. Microbiología Médica. 7º Edición; 2014.
43. Casado C, et al. Medios de cultivo en un laboratorio de Microbiología. Universidad Cesar Vallejo; 2012.
44. Dueñas R. Extracto Hidroalcoholico. [Internet]. 2017. Available from: http://redsa.com.mx/descargas/herbolaria/catalogos_hidroalcoholicos.pdf.

45. Organizacon Panamericana de Salud. Buenas Prácticas de la OMS para Laboratorios de Microbiología Farmacéutica, Red Panamericana de Armonización de la Reglamentación Farmacéutica. 2013. p. Red PARF Documento Técnico N° 1.
46. Gonzáles A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólico de plantas del amazonas. Universidad Nacional de Colombia.; 2014.
47. Instituto de Salud Pública. Guía de Bioseguridad para Laboratorios Clínicos. Gobierno de Chile; 2013.
48. Taxonomía vegetal: La utilidad de la taxonomía de las plantas [Internet]. Available from: [jardinesverticales.net/taxonomia-vegetal/#targetText=Taxonomía botánica o taxonomía vegetal&targetText=Este sistema está basado en, plantas o vegetales y animales.](http://jardinesverticales.net/taxonomia-vegetal/#targetText=Taxonomía%20botánica%20o%20taxonomía%20vegetal&targetText=Este%20sistema%20está%20basado%20en,%20plantas%20o%20vegetales%20y%20animales.)
49. Juan Ludeña Orihuela. Municipalidad Distrital De San Ramón. 2012.
50. Olga Lock Sing. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. ultima edicion, editor. Lima, Perú.: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.
51. Fernández A, *et al.* Bacteriana en el laboratorio de microbiología. 2010. 6 p
52. Medios de Cultivo. Microbiología clínica. 2013. 5–8 p.
53. Valtek SA. Agar Sangre. 1943.
54. Maye R y Guzman M. El antibiograma de discos. Técnica de Kirby-Bauer. Biomedica. 1984;4(3):112–21.
55. Emarin SDA S.A. LISTA CLSI-2016 Resitencia y Suceptible. 2017. p. 27690402.
56. Ministerio de Salud DIGEMID. Centro de Atencion Farmaceutica (CAF DIGEMID) Amoxicilina [Internet]. 2019. p. 1–3. Available from: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Amoxicilina.pdf>.
57. Formulario Nacional. Farmacopea de los Estados Unidos de America 38 NF33. 2015. p. V. 2, 3.

58. Ministerio de Salud DIGEMID. Centro De Atención Farmacéutica (CAF DIGEMID) Eritromicina [Internet]. 2019. p. 1–3. Available from: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Eritromicina.pdf>
59. Ministerio de Salud DIGEMID. Centro de Atención Farmacéutica (CAF DIGEMID) Penicilina G Sódica [Internet]. 2011. p. 6–7. Available from: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/upload/uploaded/pdf/magnesio.pdf>
60. Yarlequé M y Wong J. Efecto antibacteriano *in vitro* de apitoxina comercial de *Apis mellifera* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y su comparación con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica. 2018. p. resumen.

9. ANEXOS

9.1. Matriz de consistencia

Título: Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. (Plátano morado) frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.				
PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOSTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
General	General	General	Dependiente	
¿Tendrá actividad antibacteriana in vitro el extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb (plátano morado) frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?	Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. (plátano morado) frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.	El extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. (plátano morado) tiene actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y la cepa <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Actividad antibacteriana (<i>Staphylococcus aureus</i>) y (<i>Streptococcus pyogenes</i>).	<p>Tipo de investigación: Este estudio será tipo experimental, prospectivo y longitudinal.</p> <p>Nivel de investigación: Explicativa</p> <p>Diseño de la investigación: Experimental observacional.</p> <p>Método microbiológico: Antibiograma de discos La prueba de sensibilidad utilizara la técnica de Difusión en Agar (Método de Kirby-Bauer).</p> <p>Población y muestra: Población: plantaciones de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. y la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.</p> <p>Muestra: Extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. (plátano morado). Muestra experimental.- Está constituida por colonias de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 con morfología conveniente.</p> <p>Instrumentos de recolección de datos: Registro, en el cual se registrarán los datos obtenidos como se menciona en el (Anexo 6.2 a) <i>S. aureus</i> y 6.2 b) <i>S. pyogenes</i>.</p> <p>Procesamiento y análisis de datos: Sera empleado el programa SPSS versión 21. Análisis de varianza ANOVA.</p>
Específicos	Específicos	Específicos	Independientes	
<p>¿Cuáles son los metabolitos secundarios principales del extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb (plátano morado)?</p> <p>¿Cuál es el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb (plátano morado) en concentraciones de 10%, 25%, 50% y 75% frente a las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?</p> <p>¿Cuál será la concentración efectiva inhibitoria del extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb (plátano morado) frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?</p>	<p>Determinar cualitativamente los principales metabolitos secundarios mediante tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. (plátano morado).</p> <p>Identificar el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. (Plátano morado) en concentraciones de 10%, 25%, 50% y 75% frente a las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.</p> <p>Identificar la concentración efectiva inhibitoria del extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. (plátano morado) frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615</p>	<p>El extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. (plátano morado) presenta metabolitos secundarios principales.</p> <p>El extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. (plátano morado) en las concentraciones del 10%, 25%, 50% y 75% presenta diferencias en su efecto inhibitorio frente a las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.</p> <p>La concentración efectiva inhibitoria del extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. (plátano morado) en la concentración del 75% frente a las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.</p>	<p>Extracto hidroalcohólico de <i>Musa cavendishii</i> Lamb.</p>	

9.2. Instrumentos de recolección de datos

Anexo 9.2 a) *Staphylococcus aureus*

Determinación de Halos de Inhibición frente a la cepa ATCC 25923 <i>Staphylococcus aureus</i>																							
N° Experimento	Colonias		Blanco			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 10%			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 25%			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 50%			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 75%			Eritromicin a control +			Amoxicilina control -		
			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm					
	N° Placas	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	
1	1	G1																					
		G1																					
		G1																					
	2	G2																					
		G2																					
		G2																					
	3	G3																					
		G3																					
		G3																					

Concentración efectiva Inhibitoria frente a la cepa ATCC 25923 <i>Staphylococcus aureus</i>																							
N° Experimento	Colonias		Blanco			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 10%			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 25%			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 50%			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 75%			Eritromicina control +			Amoxicilina control -		
			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm					
	N° Placas	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	
2	1	G1																					
		G1																					
		G1																					
	2	G2																					
		G2																					
		G2																					
	3	G3																					
		G3																					
		G3																					

Anexo 9.2 b) *Streptococcus pyogenes*

Determinación de Halos de Inhibición frente a la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615																							
N° Experimento	Colonias	N° Placas	Blanco			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 10%			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 25%			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 50%			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 75%			Penicilina G Sódica control +			Eritromicina control -		
			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm					
			24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
2	1	G1																					
		G1																					
		G1																					
	2	G2																					
		G2																					
		G2																					
	3	G3																					
		G3																					
		G3																					

Concentración efectiva Inhibitoria frente a la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615																							
N° Experimento	Colonias	N° Placas	Blanco			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 10%			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 25%			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 50%			Extracto de <i>M. cavendishii</i> Lamb. 75%			Penicilina G Sódica control +			Eritromicina control -		
			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm			tiempo (h)/mm					
			24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
2	1	G1																					
		G1																					
		G1																					
	2	G2																					
		G2																					
		G2																					
	3	G3																					
		G3																					
		G3																					

Anexo 9.2 c) Ensayo de Solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii*

Lamb.

Solvente	Resultado
Agua destilada	
Suero fisiológico	
Etanol 96%	
Etanol 70%	
Metanol	
Acetato de etilo	
Cloroformo	
Acetona	
Éter	
Hexano	

Leyenda: - : Insoluble, + : Poco soluble, ++ : Soluble, +++ : Muy soluble

Anexo 9.2 d) Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii*

Lamb.

Metabolito	Reacción	Resultado
Alcaloides y Aminas terciarias	Dragendorff	
Alcaloides	Mayer	
Aminoácidos, sales de amonio y anilina	Ninhidrina	
Taninos	Gelatina - sal	
Naftoquinonas, antraquinonas, antronas o antranoles.	Bortraguer	
Catequinas	Vainilla – Ácido clorhídrico	
Flavonoides	Shinoda	
Esteroides y glicosidos triterpenicos	Liberman - burchar	
Monosacáridos	Molish	
Saponinas, esteroides y saponinas triterpenoides	Espuma	

Leyenda: - : Ausencia, + : Leve, ++ : Moderado, +++ : Abundante.

9.3 Fichas de validación de registro de datos

ANEXO N°.

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima Usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	()	()	()	(X)
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	()	()	(X)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	()	()	()	()	()	(X)
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	()	()	(X)
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	()	()	(X)
6. ¿En qué porcentaje valora Usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	()	()	(X)

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera Usted que deberían agregarse?

.....

2. ¿Qué ítems considera Usted que podrían eliminarse?

.....

3. ¿Qué ítems considera Usted que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....

Fecha: 2019-11-13

Validado por: Dr. Zhannel Samaniego Joaquin

Firma: 

ANEXO N°.
VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100				
1. ¿En qué porcentaje estima Usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	()	()	() (X)
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	()	() (X)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	()	()	()	(X)	()
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	(X)	()
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	()	() (X)
6. ¿En qué porcentaje valora Usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	()	() (X)

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera Usted que deberían agregarse?

.....
.....

2. ¿Qué ítems considera Usted que podrían eliminarse?

.....
.....

3. ¿Qué ítems considera Usted que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....
.....

Fecha: 13-11-19

Validado por: Dr. José A. Oruena Jara

Firma: [Firma manuscrita]

ANEXO N°
VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima Usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	()	()	()	(X)
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	()	()	(X)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	()	()	()	()	()	(X)
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	()	()	(X)
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	()	()	(X)
6. ¿En qué porcentaje valora Usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	()	()	(X)

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera Usted que deberían agregarse?

.....
.....

2. ¿Qué ítems considera Usted que podrían eliminarse?

.....
.....

3. ¿Qué ítems considera Usted que deberán reformularse o precisarse mejor?



.....
.....


Fecha: 12-11-2019

Validado por: Mg. Victor M. Chero Pacheco

Firma: 

9.4 Certificado de la planta y de ambas cepas de estudio.

  **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N° 325-USM-2019

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

La muestra vegetal (planta con fruto) recibida **Mari Renee Tovar Baca, Zoila Silvia Jaimes Garay y Elena Andrea Valverde Reynaga**, estudiantes de la Universidad María Auxiliadora; ha sido estudiada y clasificada como: ***Musa rubra*** Wall. Ex Kurz. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISIÓN: *Magnoliophyta*

CLASE: *Liliopsida*

SUBCLASE: *Zingiberidae*

ORDEN: *Zingiberales*

FAMILIA: *Musaceae*


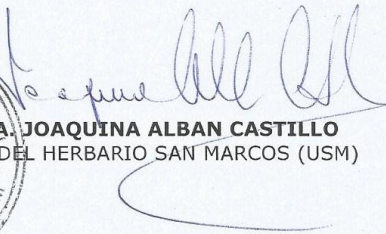
GENERO: *Musa*

ESPECIE: *Musa cavendishii* Lamb.

Nombre vulgar: "plátano morado"
Determinado por: Dra. Joaquina Albán Castillo e Isabeu Cruz

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Lima, 09 de octubre de 2019


 
DRA. JOAQUINA ALBAN CASTILLO
JEFE (E) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/ddb



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Streptococcus pyogenes (group A) Catalog Number: 0385 Lot Number: 385-179** Reference Number: ATCC® 19615™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2021/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Carol J Stanoch Release Date: 2019/4/30
--	--

Performance	
Macroscopic Features: Two colony types, both are circular, convex, entire edge; one is medium & beta hemolytic, other is small and alpha hemolytic, turning to beta as culture ages. Microscopic Features: Gram positive cocci	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase(3% Hydrogen Peroxide): negative Bacitracin differential: Sensitive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Streptococcus pyogenes (group A)
 Sample Description: 0385
 Sample ID: 385-179
 Sample Creation Date/Time: 2019-04-24T14:40:17.097 cjs/mlb
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A3 (+++) (A)	385-179	Streptococcus pyogenes	2.48


Comments:

Species canis / dysgalactiae / pyogenes of the genus Streptococcus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-419** Reference Number: ATCC® 25923™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2020/10/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L Negen Release Date: 2018/11/29
---	--

Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm <div style="text-align: center;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
 Sample Description: 0360
 Sample ID: 360-419
 Sample Creation Date/Time: 2018-11-21T09:07:19.931kl
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C8 (+++)(A)	360-419	Staphylococcus aureus	2.49

Comments:

N/A

9.5 Esquema de los procedimientos

ESQUEMA N° 1

Obtención del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado)

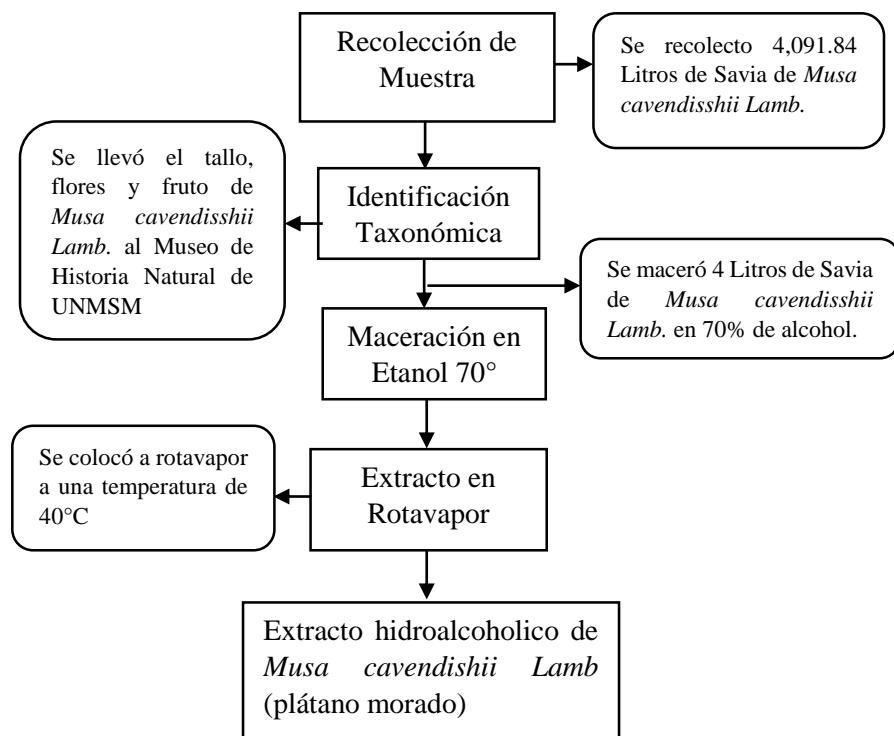


Figura 10. Muestra de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado)



Figura 11. Etapas en la recolección de la savia de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado)



Figura 12. Proceso de maceración de la savia de *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado)



Figura 13. Filtración del extracto hidroalcohólico *Musa cavendishii Lamb* (plátano morado)



Figura 14. Proceso de concentración al extracto hidroalcohólico *Musa cavendishii Lamb* (plátano morado)



Figura 15. Prueba de solubilidad extracto hidroalcohólico *Musa cavendishii* Lamb



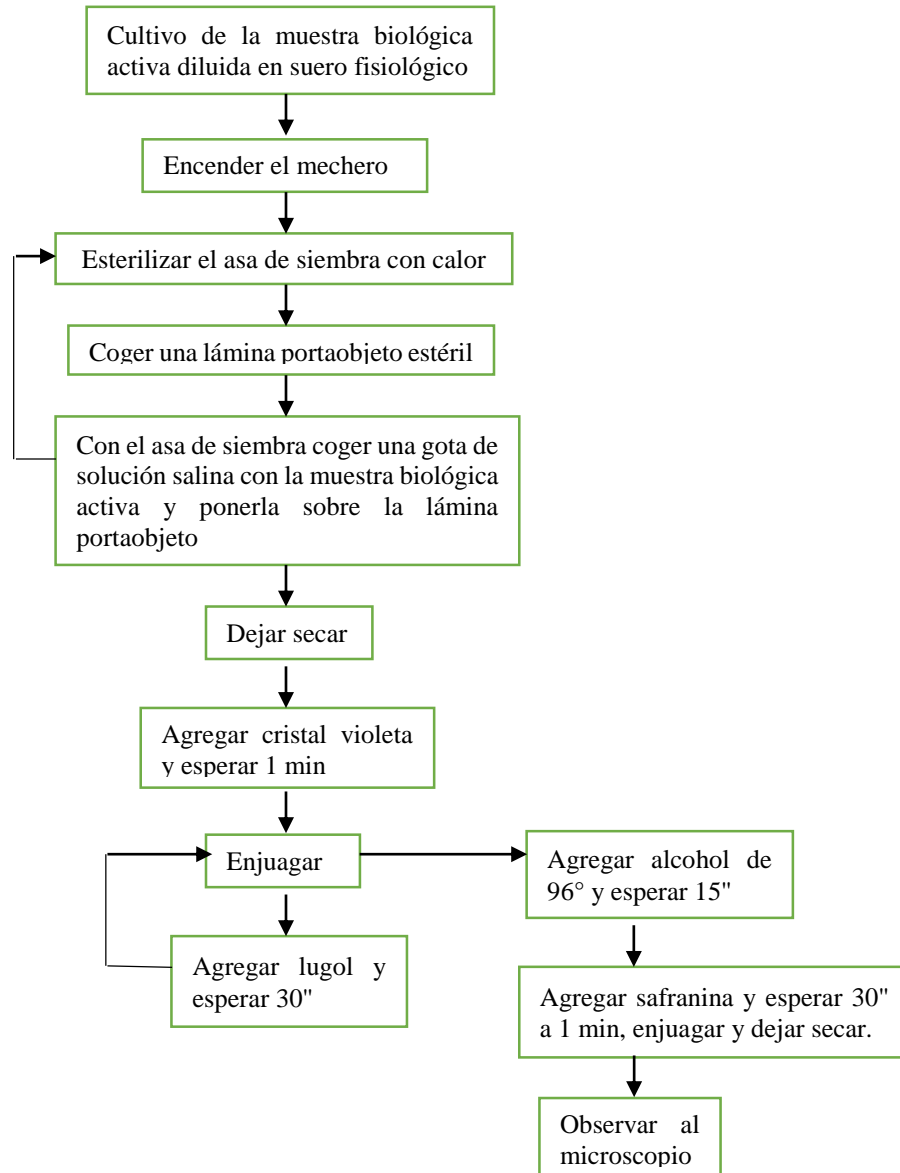
Figura 16. Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico *Musa cavendishii* Lamb



Figura 17. Observación del análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico *Musa cavendishii* Lamb (plátano morado).

ESQUEMA N° 2

Identificación de la cepa (Diagrama de flujo para Tinción Gram)



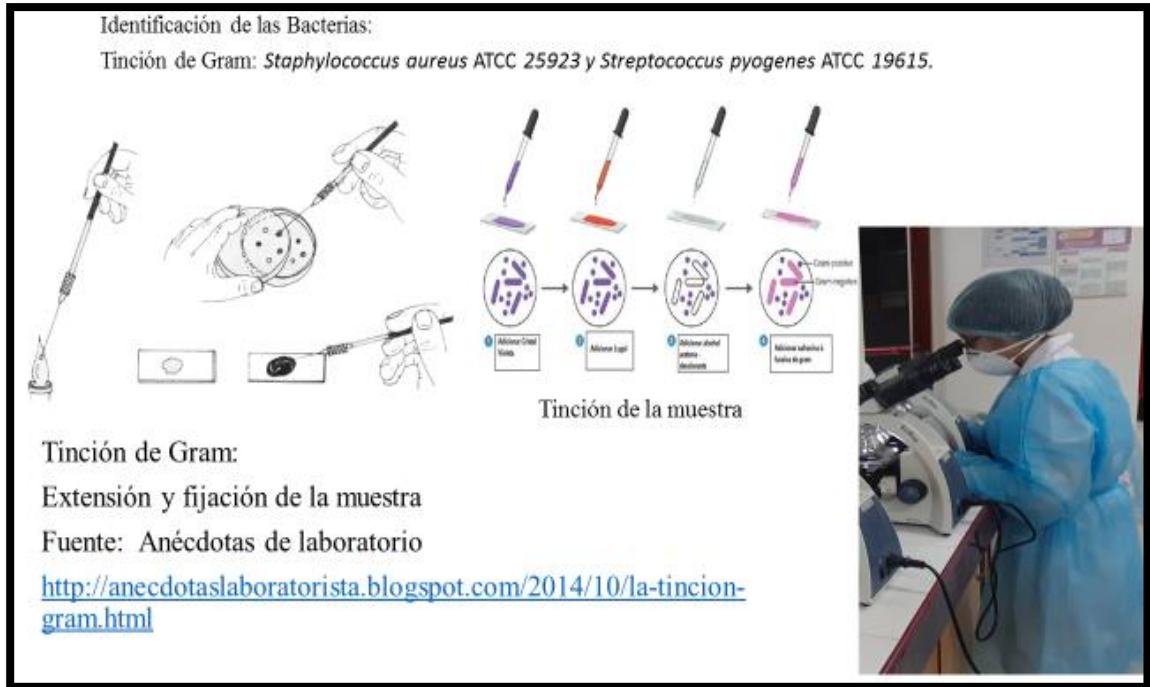


Figura 18. Procedimiento tinción Gram en ambas cepas de estudio

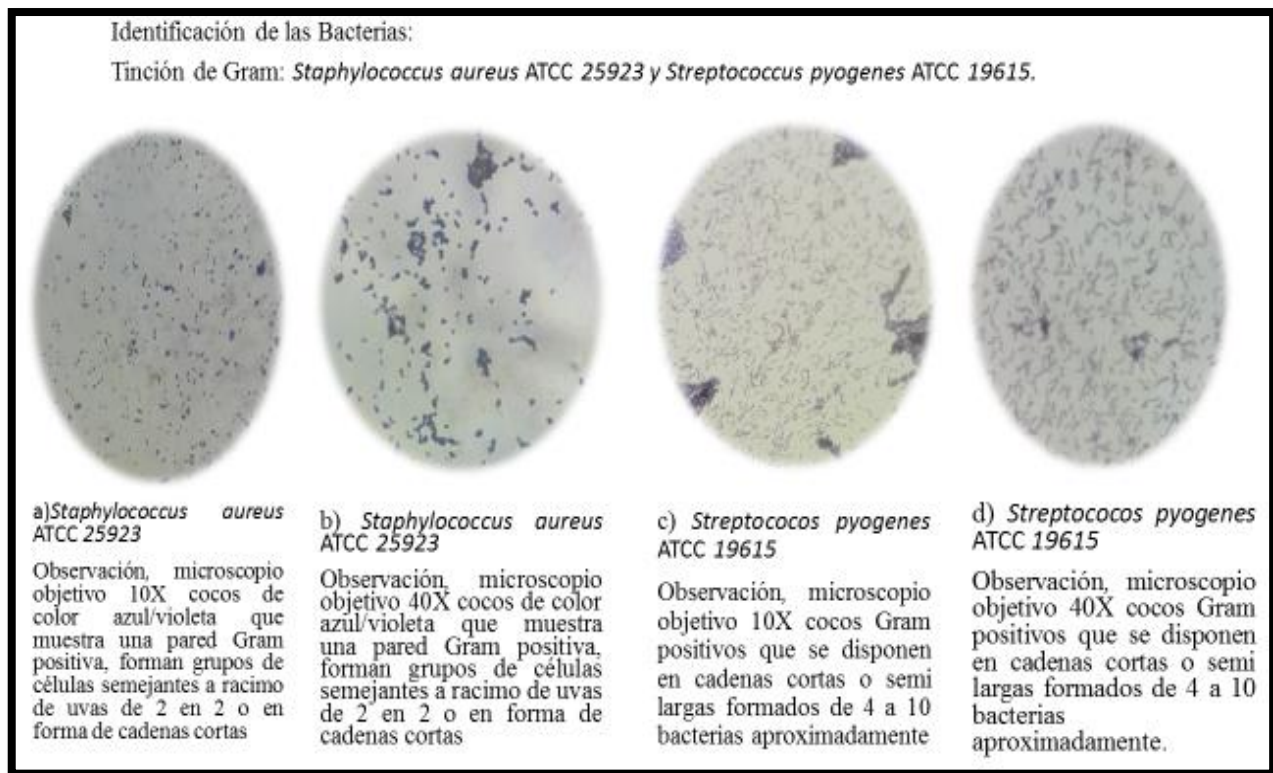


Figura 19. Tinción Gram realizada en ambas cepas de estudio

Prueba de Catalasa: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.



Streptococcus pyogenes
ATCC 19615



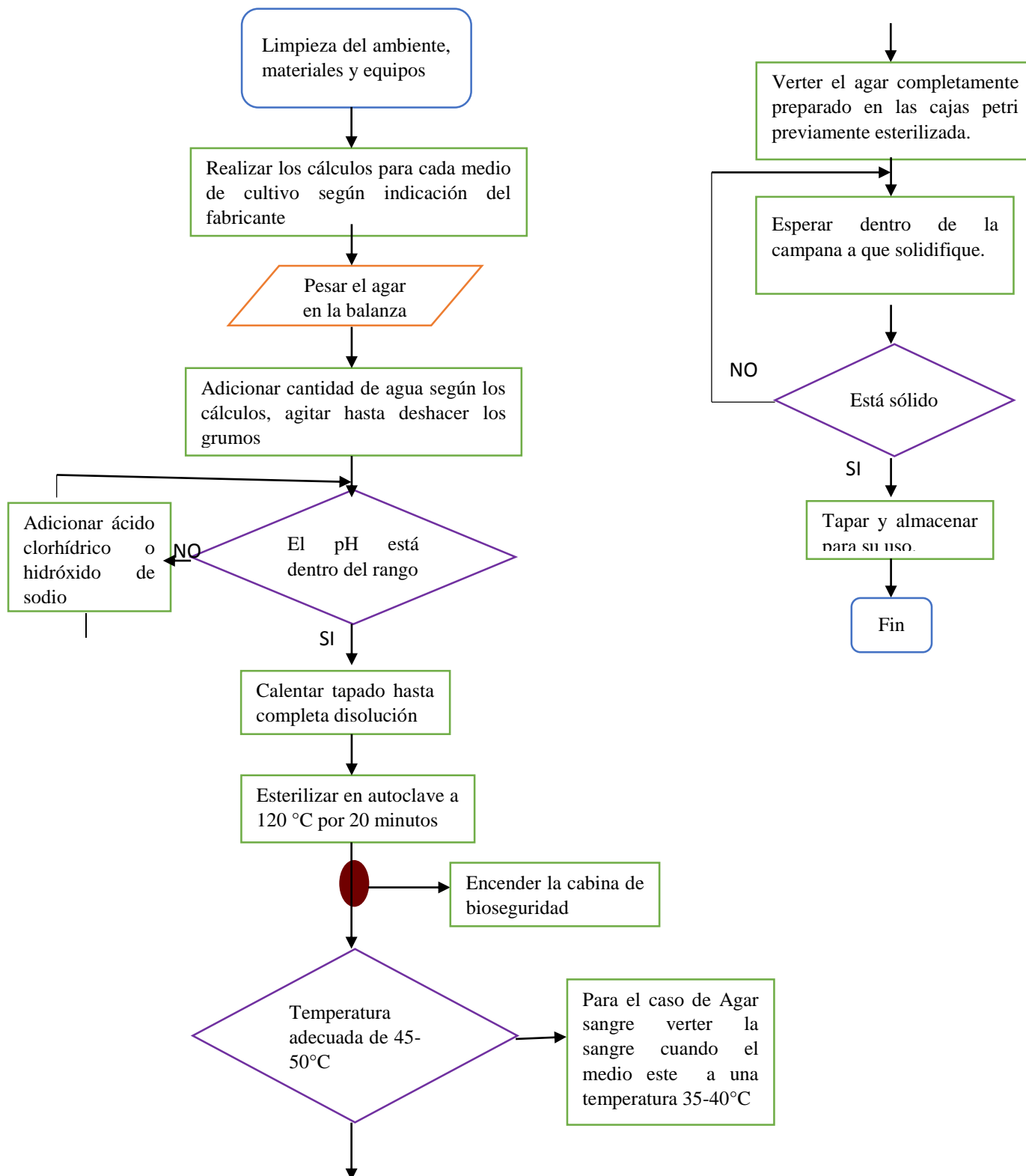
Staphylococcus aureus
ATCC 25923

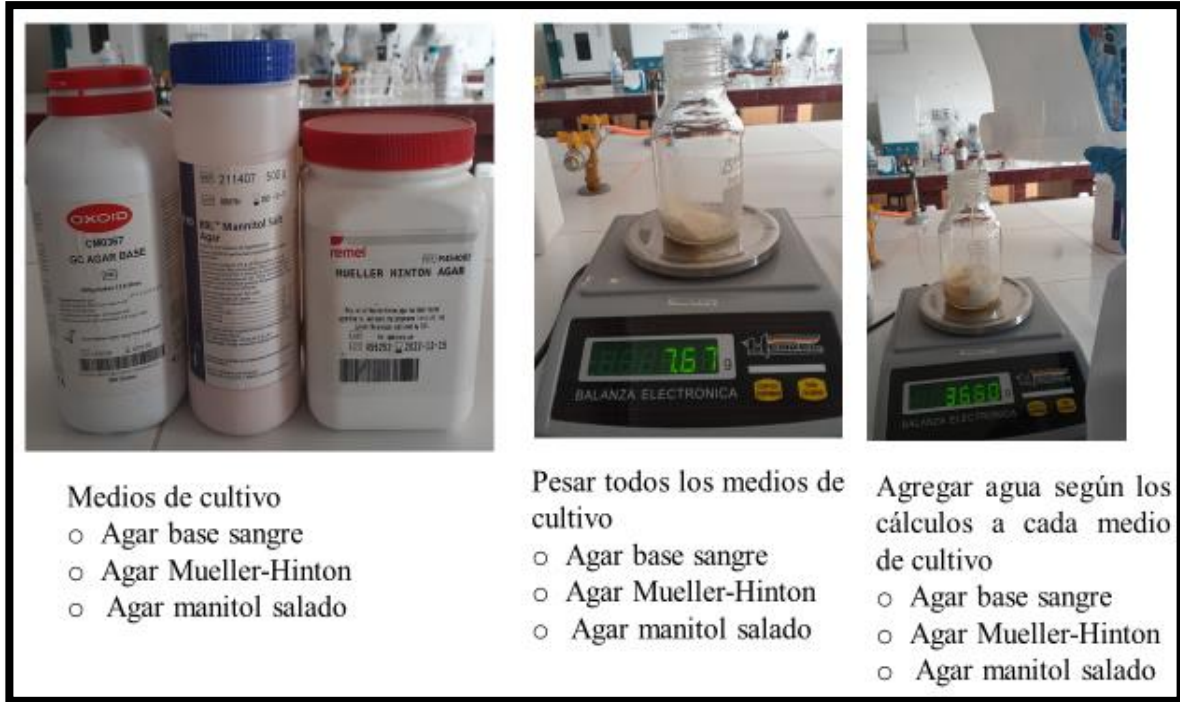
La prueba se realiza agregando una gota de peróxido de hidrógeno sobre la muestra en una lámina porta objeto de vidrio. Es **positiva si se observa un burbujeo intenso**

Figura 20. Prueba de catalasa realizada en ambas cepas de estudio

ESQUEMA N° 3

Diagrama de flujo para preparar medios de cultivo (Agar Manitol Salado, Agar Mueller-Hinton y Agar sangre)





Medios de cultivo

- Agar base sangre
- Agar Mueller-Hinton
- Agar manitol salado

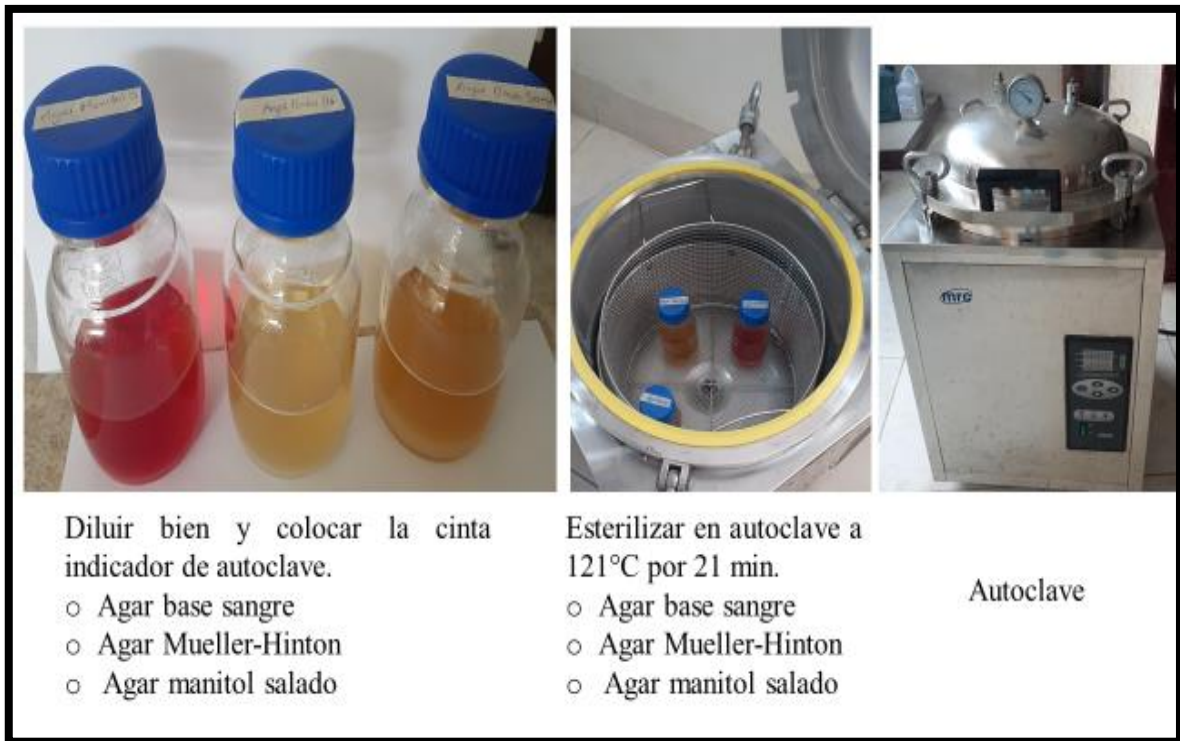
Pesar todos los medios de cultivo

- Agar base sangre
- Agar Mueller-Hinton
- Agar manitol salado

Agregar agua según los cálculos a cada medio de cultivo

- Agar base sangre
- Agar Mueller-Hinton
- Agar manitol salado

Figura 21. Preparación de medios de cultivo



Diluir bien y colocar la cinta indicador de autoclave.

- Agar base sangre
- Agar Mueller-Hinton
- Agar manitol salado

Esterilizar en autoclave a 121°C por 21 min.

- Agar base sangre
- Agar Mueller-Hinton
- Agar manitol salado

Autoclave

Figura 22. Homogenización, dilución y autoclavado de medios de cultivo



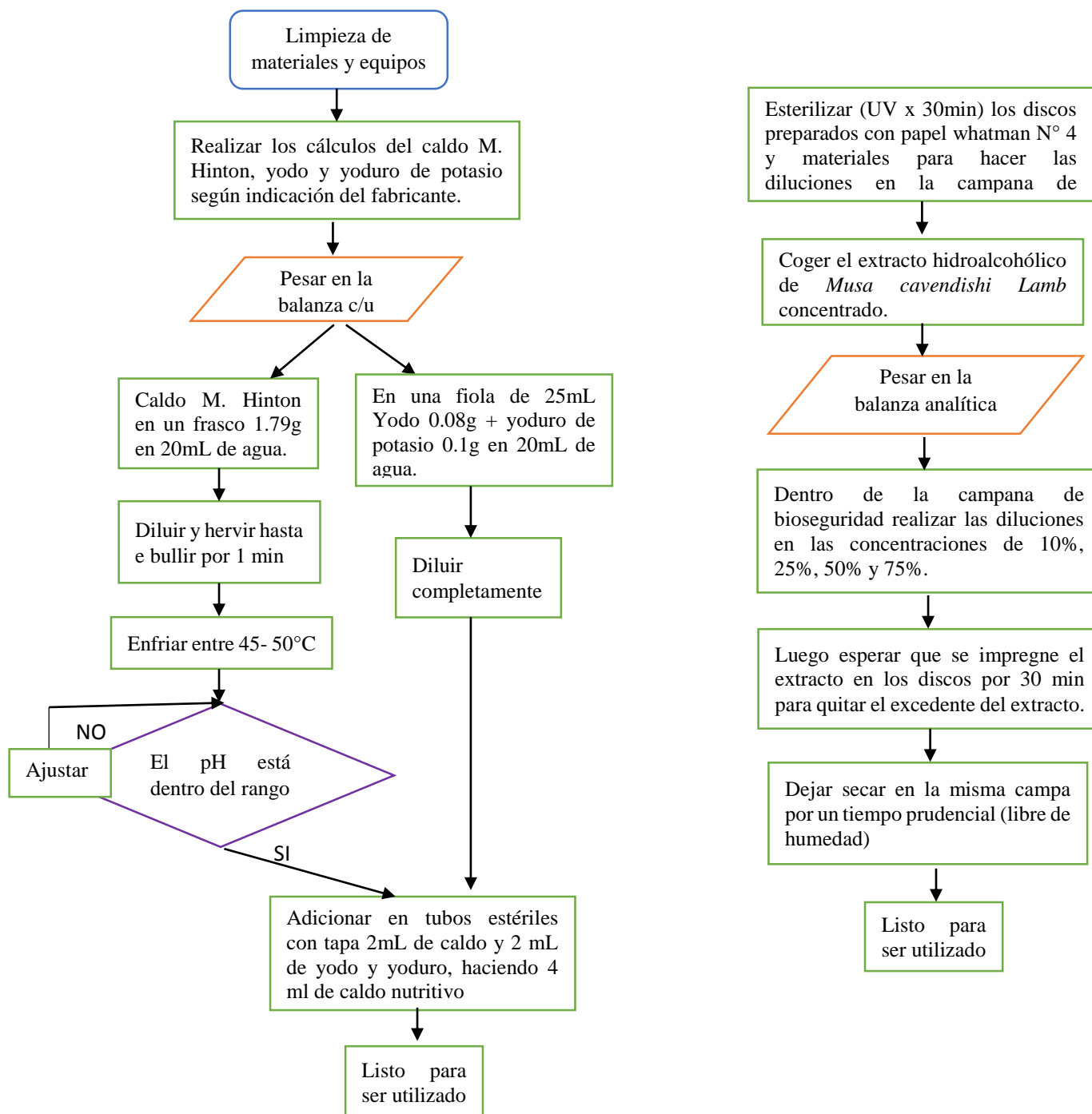
Figura 23. Enfriado y plakeado de medios de cultivo



Figura 24. Enfriado de medios de cultivo dentro de la campana de bioseguridad

ESQUEMA N° 4

Diagrama de flujo preparación de caldo Mueller-Hinton y preparación de los discos con las concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishi* Lamb. (plátano morado)



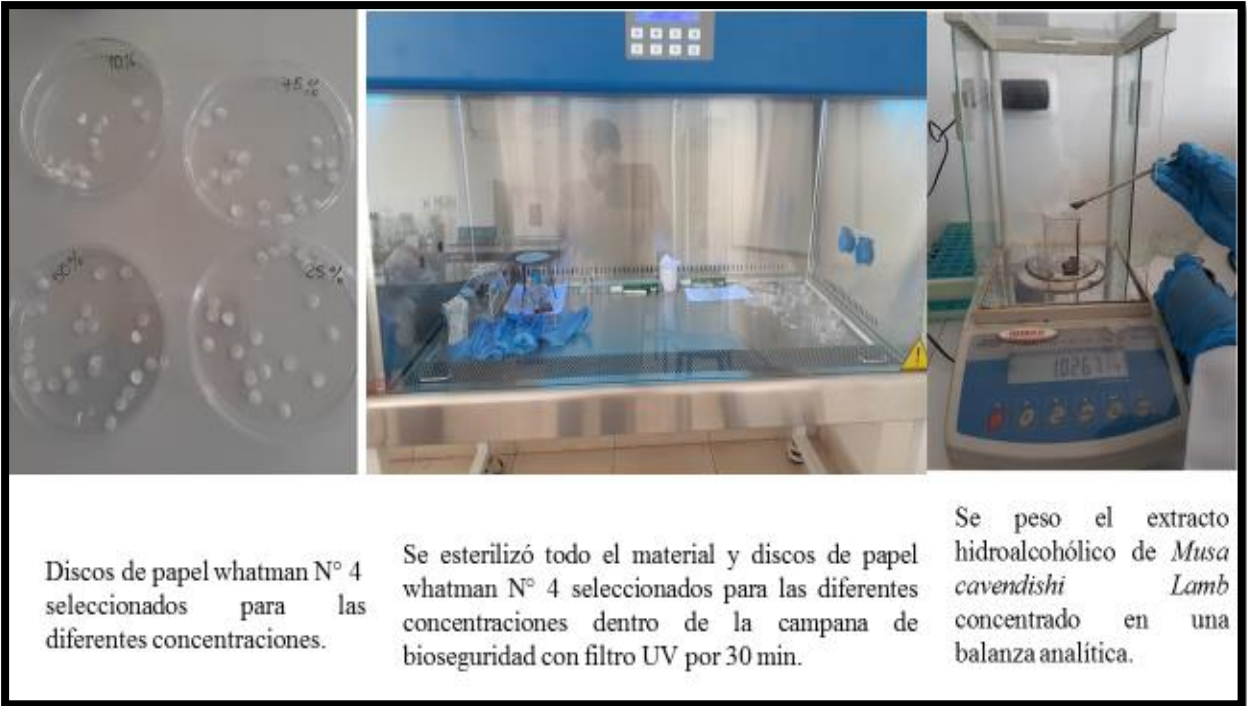


Figura. 25. Preparación de extractos impregnados en discos de papel Whatman N° 4



Figura 26. Diluciones de extracto impregnados en discos de papel whatman al 10%, 25%, 50% y 75%

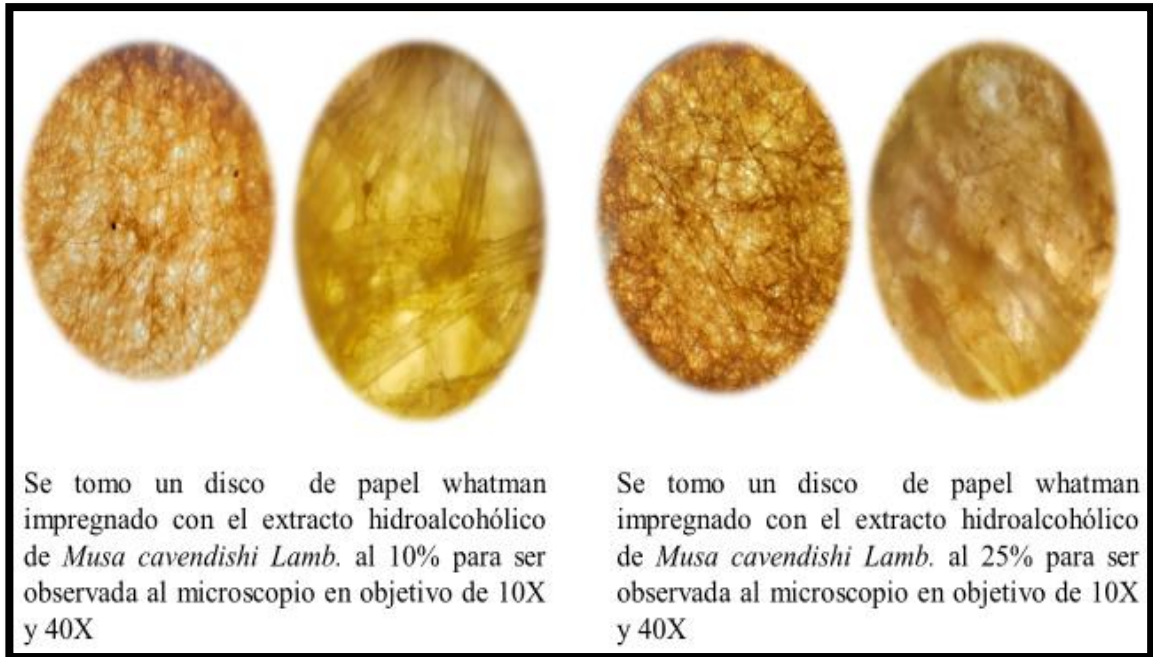


Figura 27. Observación al microscopio extractos impregnados en discos de papel whatman al 10% y 25%

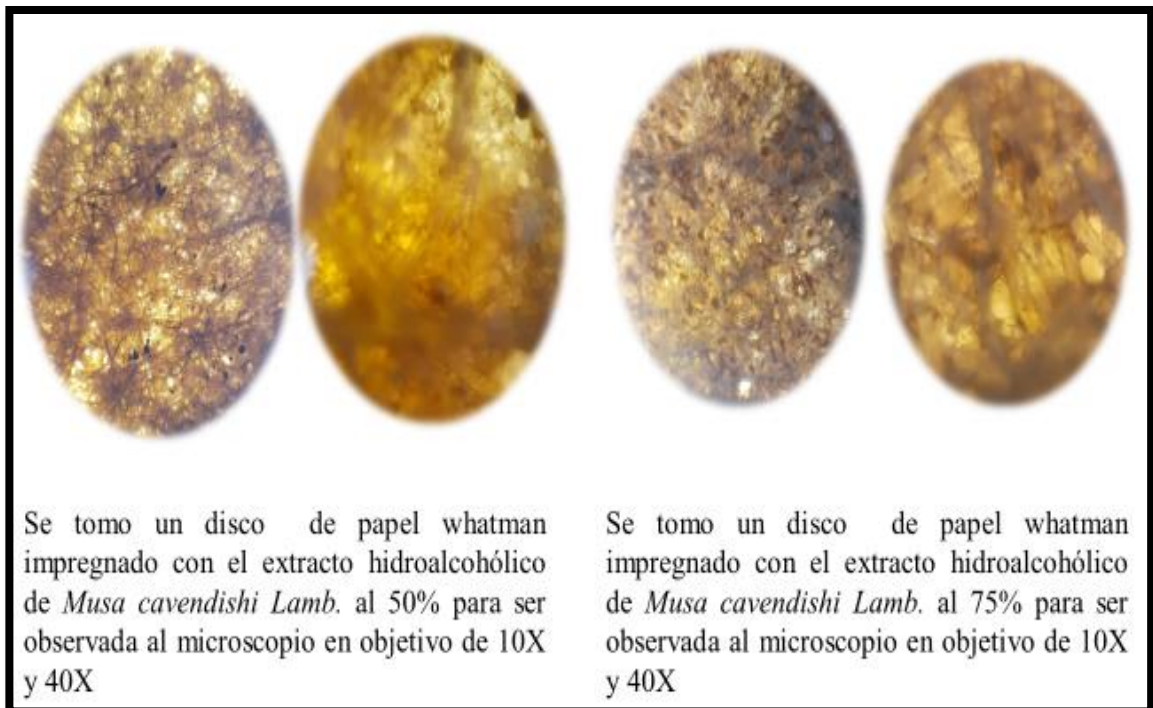


Figura 28. Observación al microscopio extractos impregnados en discos de papel Whatman al 50% y 75%

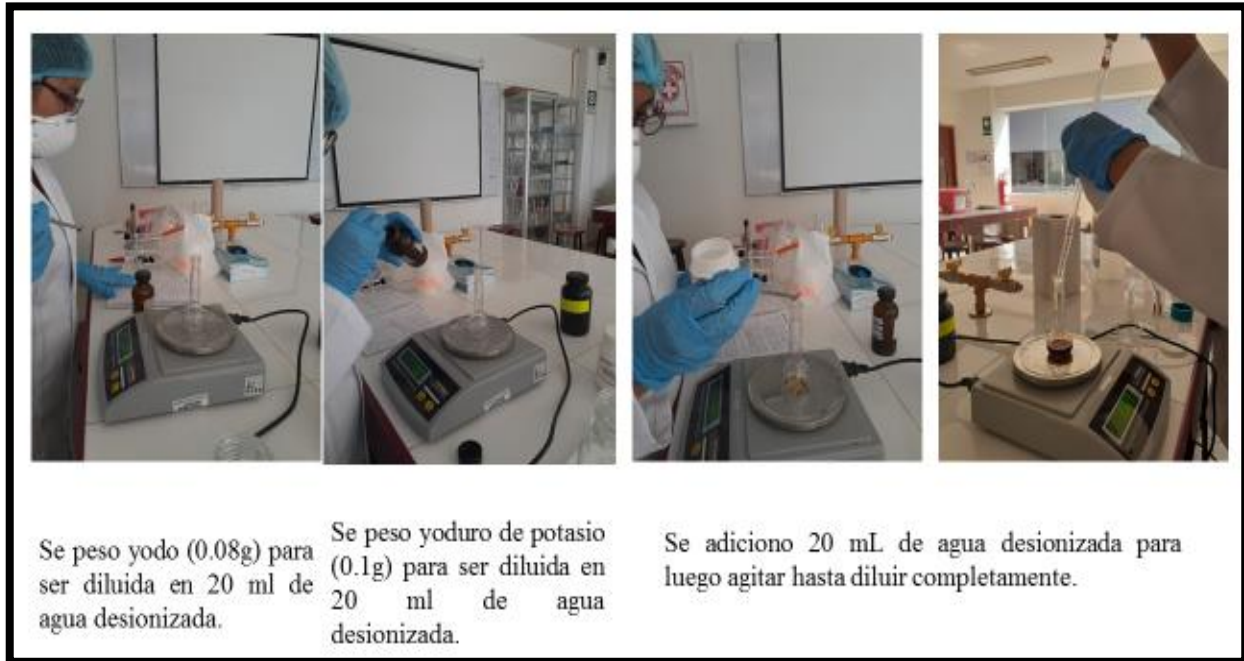


Figura 29. Procedimiento para preparar el caldo de cultivo Mueller-Hinton



Figura 30. Preparación del caldo de cultivo Mueller-Hinton



Figura 31. Preparación del caldo de cultivo Mueller-Hinton controlando T° y pH

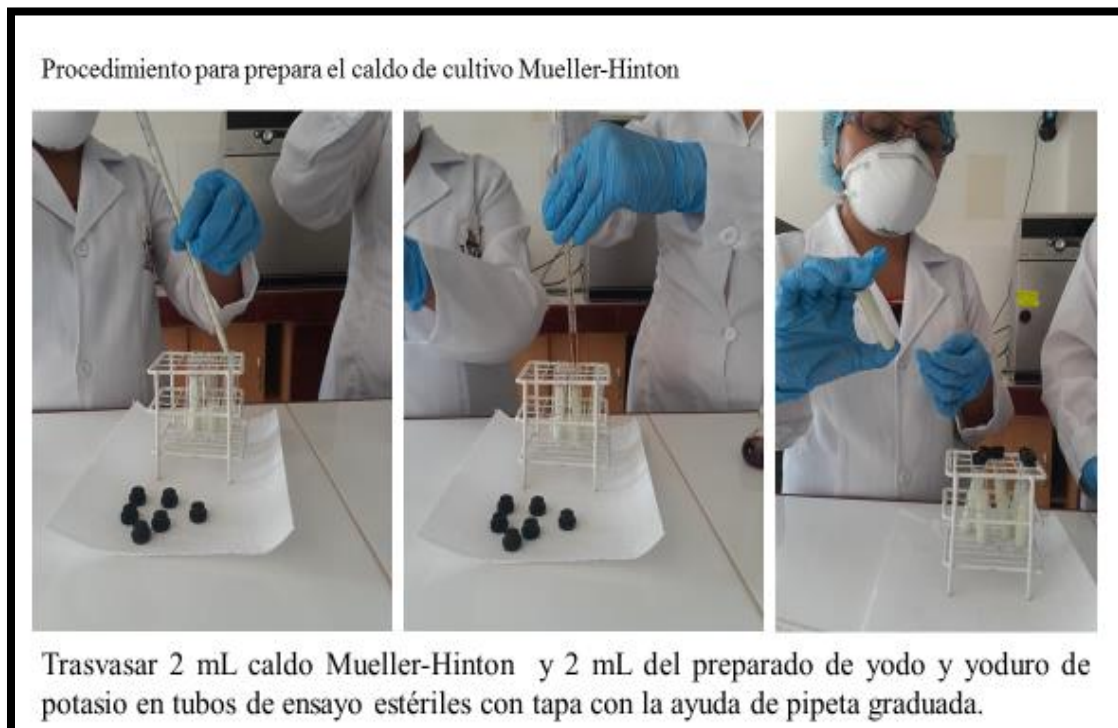
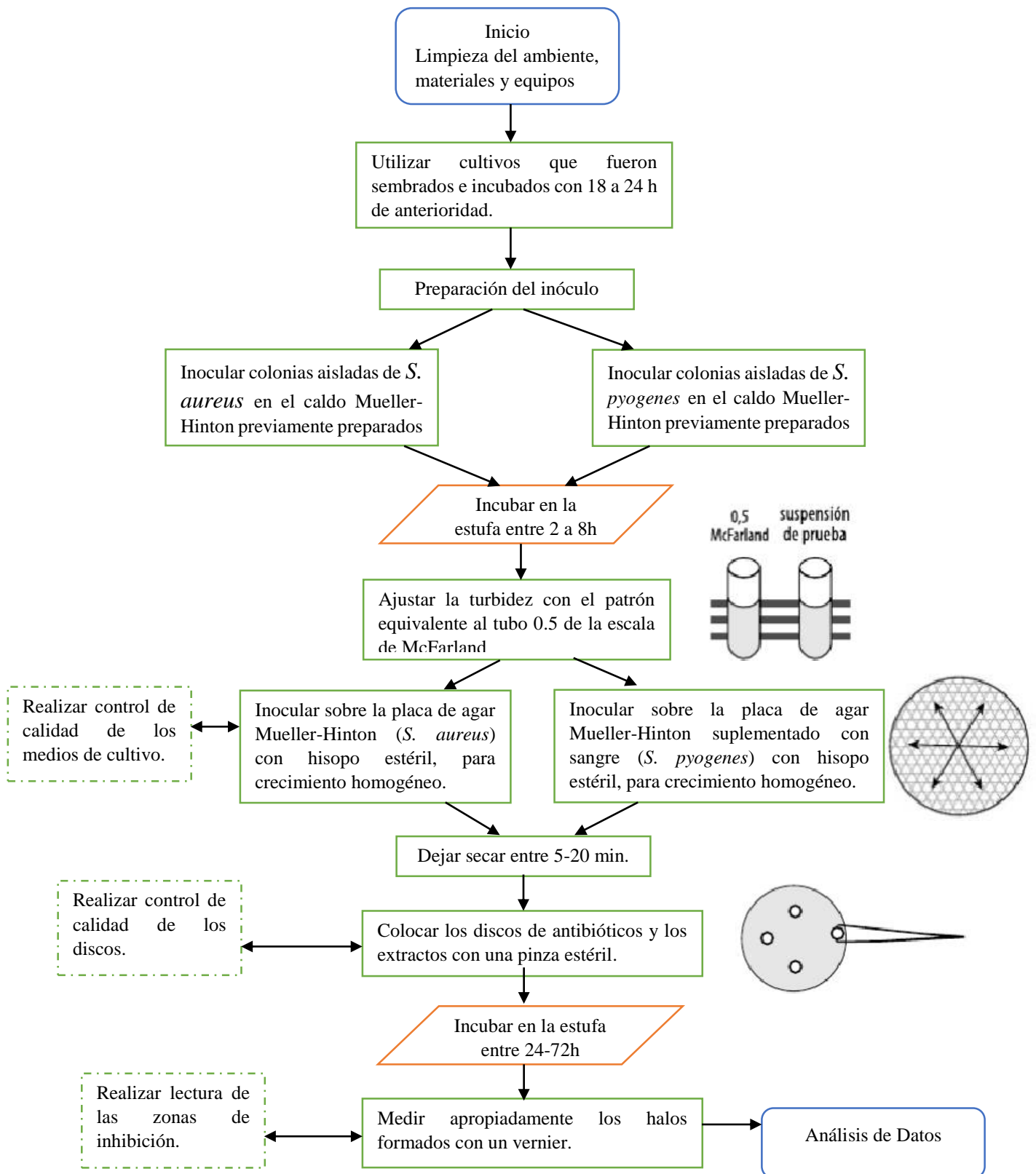


Figura 32. Preparación del caldo de cultivo Mueller-Hinton colocando en tubos de ensayo estéril

ESQUEMA N° 5

Diagrama de flujo de la técnica de Difusión en Agar (Método de Kirby-Bauer).



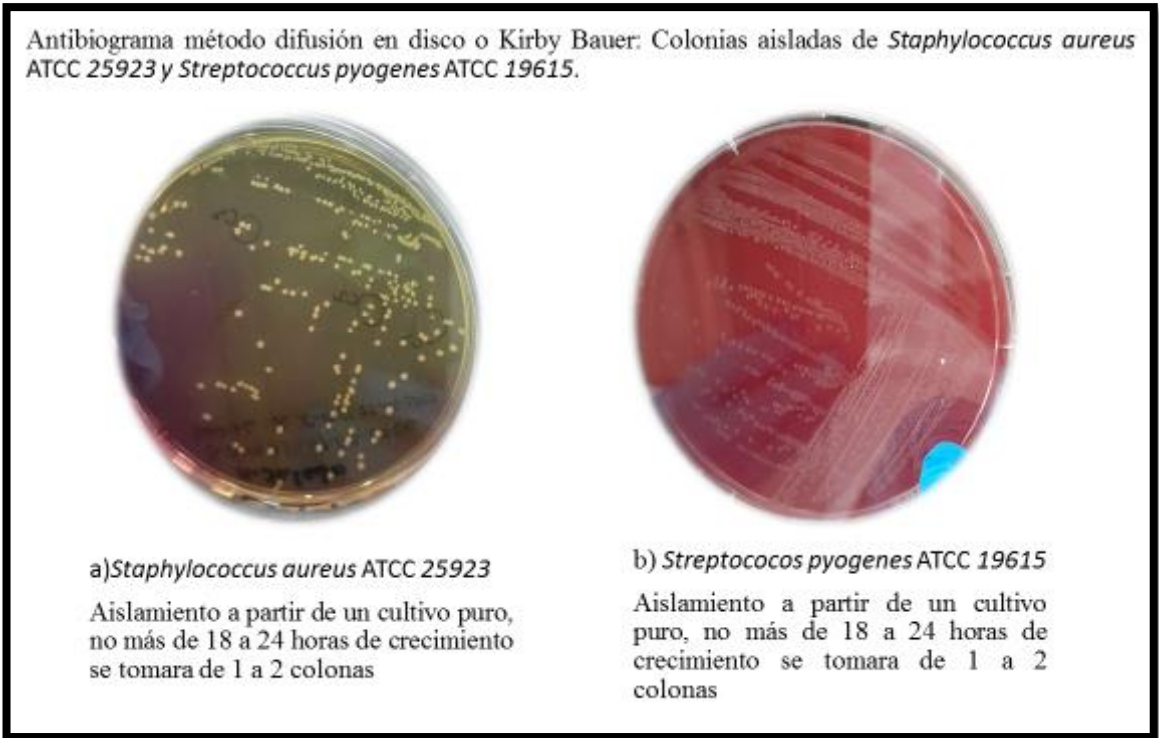


Figura 33. Crecimiento de colonias aisladas tanto de *S. aureus* y *S. pyogenes*



Figura 34. Sembrado de colonias aisladas para incubar entre las 18 y 24h tanto de *S. aureus* y *S. pyogenes*



Figura 35. Inocular las colonias que fueron incubadas en caldo Mueller-Hinton *S. pyogenes*

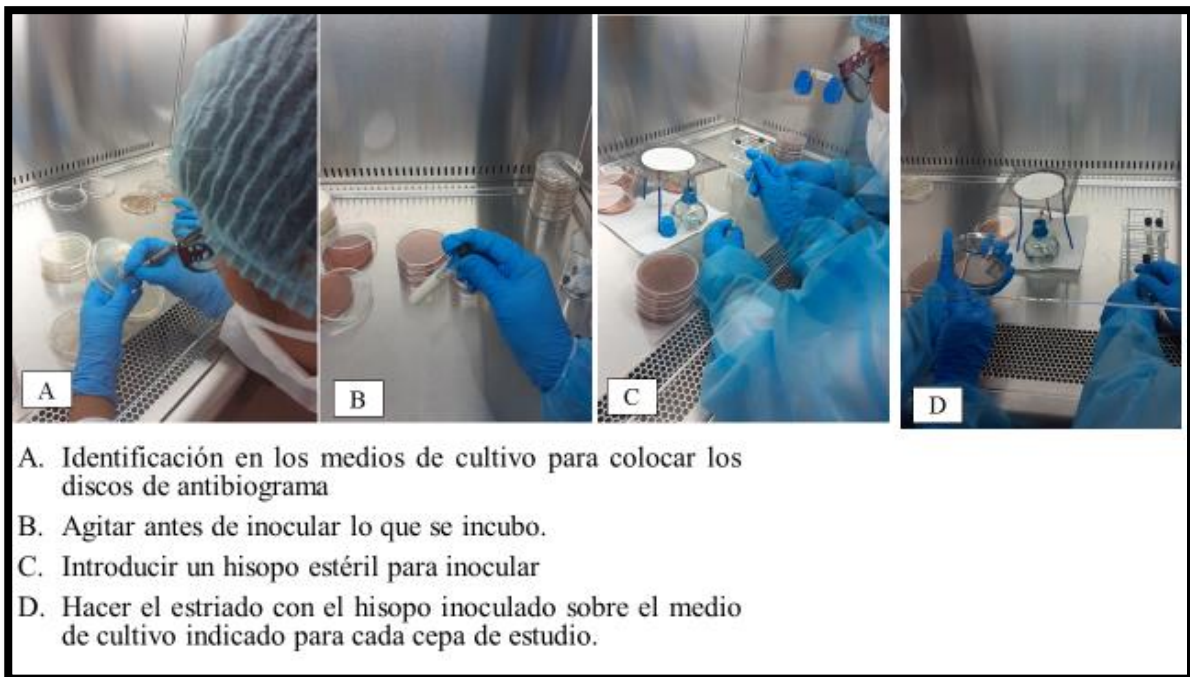


Figura 36. Sembrado de las colonias incubadas *S. pyogenes* con agar Mueller-Hinton suplementado con sangre.



Figura 37. Colocación de extractos en discos y los antibióticos de control sobre la siembra con cepas de *S. pyogenes*



Figura 38. Incubación en una estufa a temperatura de 35°C durante 24, 48 y 72 horas

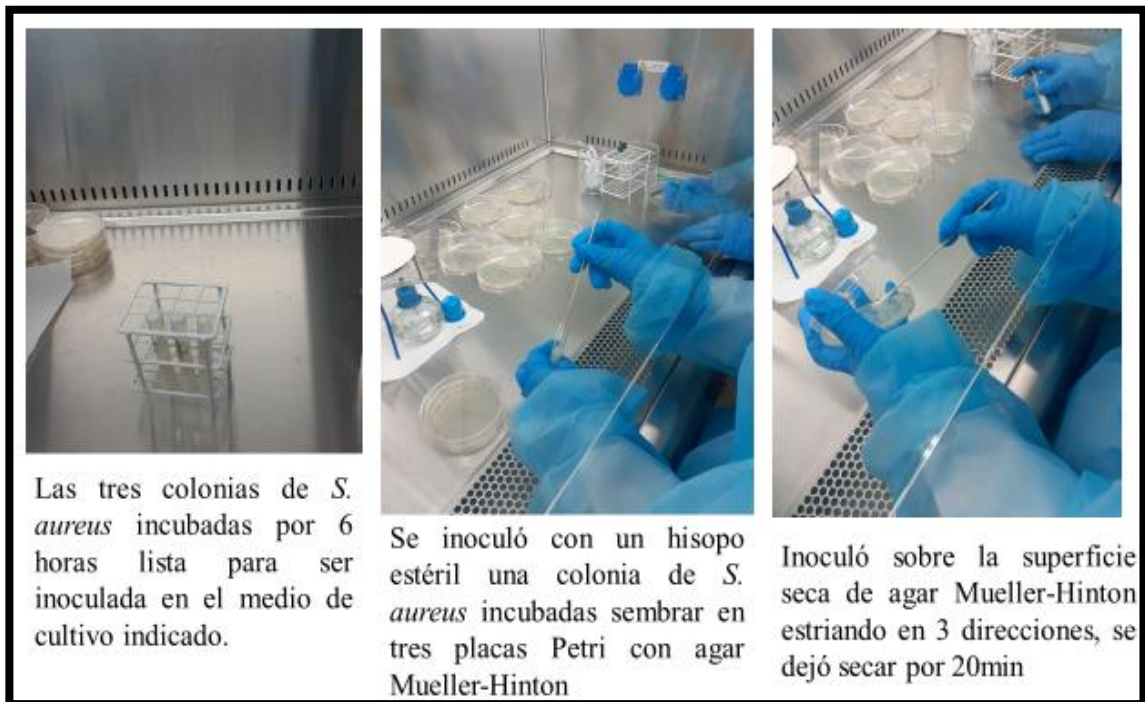


Figura 39. Sembrado de las colonias incubadas de *S. aureus* con agar Mueller-Hinton



Figura 40. Colocación de extractos en discos sobre la siembra en placas con cepas de *S. aureus*

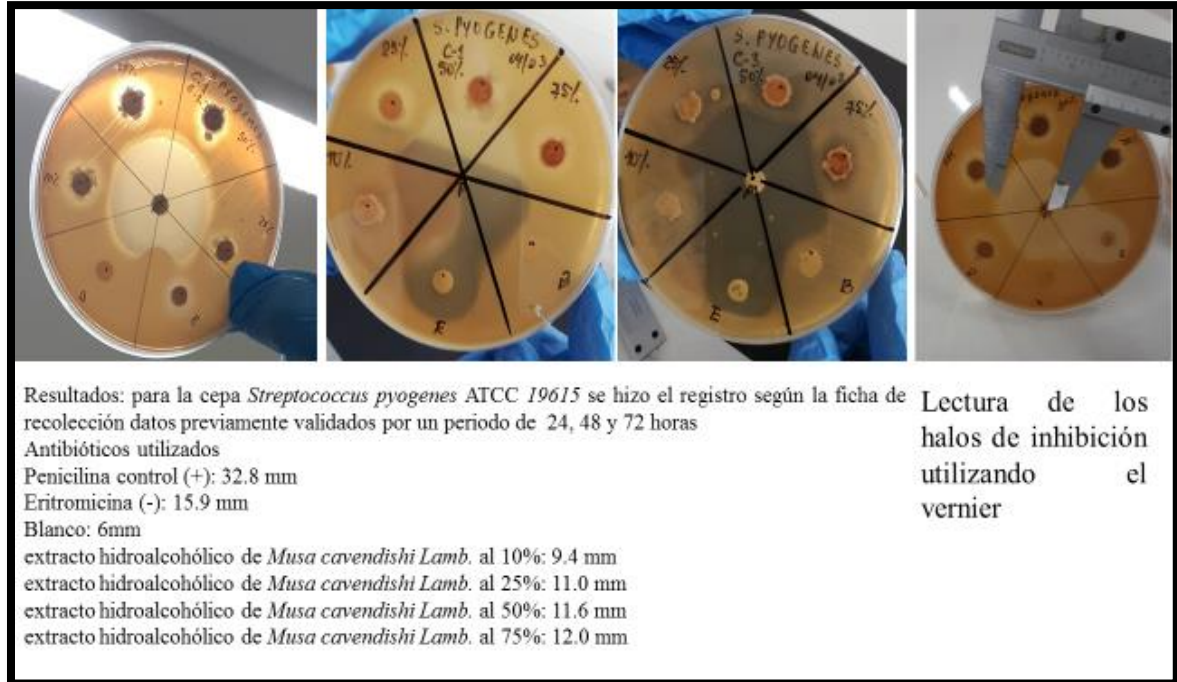


Figura 41. Lectura de resultados en 24, 48 y 72 horas de *S. aureus* con la ayuda de un vernier

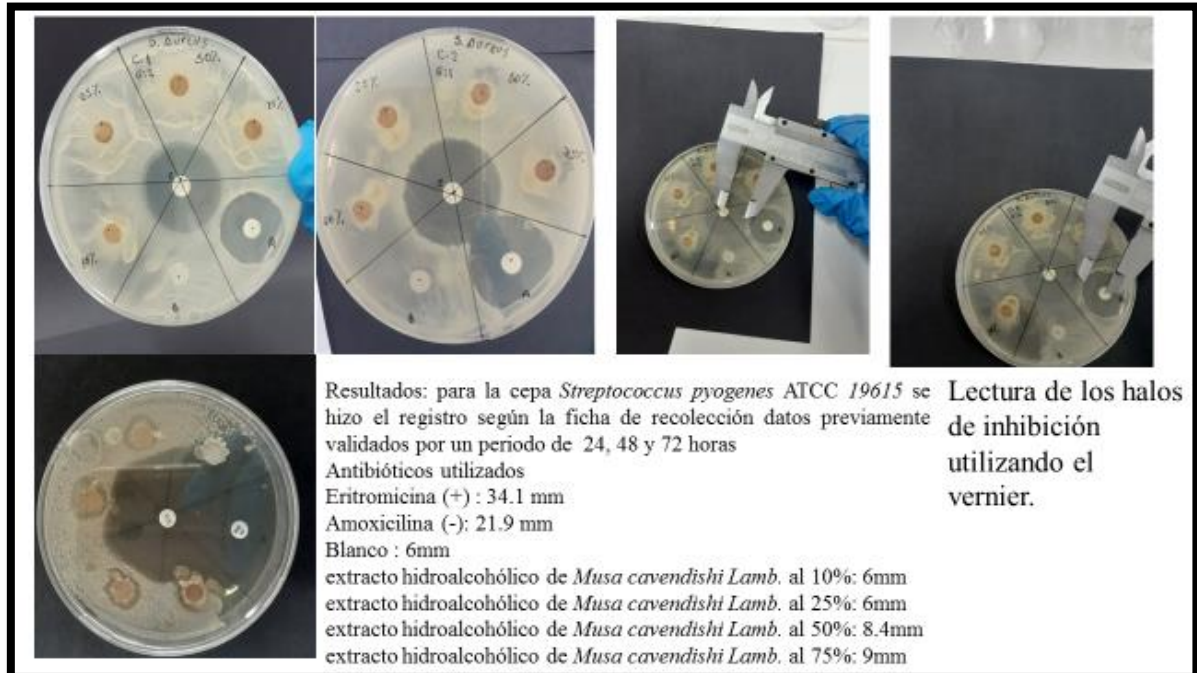


Figura 42. Lectura de resultados en 24, 48 y 72 horas de *S. pyogenes* con la ayuda de un vernier



Figura 43. Lectura de los controles realizados



Figura 44. Materiales, equipos y reactivos utilizados