



# **UNIVERSIDAD NACIONAL “PEDRO RUIZ GALLO”**



## **FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

**EFFECTO INHIBITORIO *in vitro* DEL EXTRACTO LÍQUIDO DE *Musa acuminata*  
(PLÁTANO var. Seda) FRENTE A *Staphylococcus aureus* resistente a  
metecilina (SARM) Y EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD EN *Artemia salina***

### **TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA Y  
PARASITOLOGÍA**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. JESUS ADOLFO BONILLA GONZÁLEZ**

**Bach. EDWIN JONATHAN GONZALES CHAVEZ**

**LAMBAYEQUE - PERU  
2017**



**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**DEPARTAMENTO ACADEMICO DE MICROBIOLOGÍA Y**  
**PARASITOLOGÍA**



**EFFECTO INHIBITORIO *in vitro* del extracto líquido *Musa acuminata* (PLÁTANO var. Seda) FRENTE A *Staphylococcus aureus* RESISTENTE A METICILINA (SARM) Y EVALUACION DE LA TOXICIDAD EN *Artemia salina*.**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

**Presentado por:**

**Bach. JESUS ADOLFO BONILLA GONZÁLEZ**

**Bach. EDWIN JONATHAN GONZALES CHAVEZ**

**LAMBAYEQUE - PERU**  
**2017**

# **UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO ACADEMICO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

**EFFECTO INHIBITORIO *in vitro* del extracto líquido DE *Musa acuminata* (PLÁTANO var. Seda) FRENTE A *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (SARM) Y  
EVALUACION DE LA TOXICIDAD EN *Artemia salina***

**Bach. JESUS ADOLFO BONILLA GONZÁLEZ  
Bach. EDWIN JONATHAN GONZALES CHAVEZ**

**TESIS  
PARA OPTAR EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

**APROBADO POR:**

---

**PRESIDENTE DEL JURADO**

(Lic. Mario Moreno Mantilla)

---

**MIEMBRO SECRETARIO**

(Dra. Gianina Llontop Barandiaran)

---

**MIEMBRO VOCAL**

(Mcs. Consuelo Rojas Idrogo)

---

**PATROCINADORA**

(Dra. Martha Vergara Espinoza)

**LAMBAYEQUE - PERU**

**2017**

## **DEDICATORIA**

### **A Dios**

Mi creador por darme la vida, y a mi familia; por la dicha de poder compartir con ellos cada logro que les doy; y por hacerme un apasionado de la microbiología.

### **A mis padres Margarita y Ángel**

Por ser mis mejores ejemplos de trabajo y dedicación, porque con su amor me encaminan hacia el éxito y porque día a día me brindan su apoyo incondicional.

### **A mis hermanos Ángel y Luigui**

Mis compañeros y amigos, menores que yo, para que les sirva de orientación lo que se puede lograr con empeño y trabajo con el apoyo de nuestros padres.

**Jesús Bonilla González**

## **AGRADECIMIENTO**

### **A Dios**

Por su eterno amor y  
bondad, porque está  
conmigo en todo  
momento, y por  
permitirme alcanzar mis  
sueños.

### **A mis padres Margarita y Ángel**

Por todo el amor que me brindan  
día a día, por todas sus  
enseñanzas y consejos para  
hacer de mí una persona de bien.

### **A mis hermanos Ángel y Luigui**

Por ser parte de mí día  
a día, y compartir  
conmigo tan buenos  
momentos.

### **A Milagros Villegas**

Por su gran apoyo  
emocional antes, durante  
y después del desarrollo  
de este trabajo

**Jesús Bonilla González**

## **AGRADECIMIENTO**

### **A mi querida asesora Martha Vergara Espinoza**

Por contribuir de manera  
fundamental en el desarrollo del  
presente trabajo, por ser mi guía,  
amiga y consejera.

### **A mis profesores Mario, Gianina y Consuelo**

Por el valioso aporte en el  
desarrollo de mi carrera  
profesional, por la ayuda  
recibida siempre y porque  
además de ser grandes  
maestros son mis amigos.

### **A mi profesor Jorge Fupuy Chung**

Por la motivación y el apoyo  
desinteresado en la realización del  
presente trabajo, por la amistad y sus  
consejos.

**Jesús Bonilla González**

## CONTENIDO

I. INTRODUCCION.....	1
II. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.....	3
III. MATERIALES Y METODOS.....	10
3.1 Población y muestra del estudio.....	10
3.2 Material: .....	10
3.3 Métodos .....	11
3.3.1 Determinación del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del extracto líquido <i>Musa acuminata</i> (plátano) Var. Seda a concentraciones de 5, 10, 20, 30 % v/v frente a <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (SARM). .....	11
3.4.2 Determinación del efecto tóxico de <i>Musa acuminata</i> (plátano) Var. Seda sobre <i>Artemia salina</i> (Mayorga, 2001) .....	16
3.4 Análisis estadístico .....	19
IV. RESULTADOS .....	20
4.1 Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> (plátano) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (SARM) .....	20
4.2 Evaluación de la toxicidad de <i>Musa acuminata</i> (Plátano) var. Seda, sobre <i>Artemia salina</i> .....	24
V. DISCUSIÓN .....	27
VI. CONCLUSIONES:.....	30
VII. RECOMENDACIONES .....	31
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	32
IX. ANEXOS .....	35
Anexo 1:.....	35
Clasificación de extractos según su toxicidad (Cyted - modificado) .....	35
Anexo 2:.....	35
Información Taxonómica de <i>Musa acuminata</i> var. Seda.....	35
Anexo 3:.....	36
Descripción original de la especie <i>Musa acuminata</i> . Memorie della Reale Accademia delle Scienze di Torino, Volumen 25, Número Nulo. ....	36

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla1:</b> Obtención de concentraciones del extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> “plátano” .....	14
<b>Tabla 2:</b> Concentraciones del extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> a partir de la solución madre .....	16
<b>Tabla 3:</b> Promedio de unidades formadoras de colonia (ufc) de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a metilicina (SARM) por efecto del extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> (PLÁTANO Var. Seda).....	20
<b>Tabla 4:</b> Análisis de varianza de los promedios de unidades formadoras de colonia (ufc) de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a metilicina (SARM) por efecto del extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> (PLÁTANO Var. Seda).....	22
<b>Tabla 5:</b> Prueba de significancia de Tukey (0,05) del promedio de unidades formadoras de colonia (ufc) de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a metilicina (SARM) por efecto del extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> (PLÁTANO Var. Seda).....	23
<b>Tabla 6:</b> Prueba de significancia de Tukey (0,05) para <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a metilicina (SARM) en su interacción con las concentraciones del extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> (PLÁTANO Var. Seda).....	23
<b>Tabla 7:</b> Prueba de significancia de Tukey (0,05) para <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a metilicina (SARM) en su interacción con las concentraciones del extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> (PLÁTANO Var. Seda) y las diferentes cepas estudiadas.....	24
<b>Tabla 8:</b> Número de Nauplius de <i>Artemia salina</i> muertos con extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> (Plátano) a diferentes concentraciones según repetición. Luego de 24 horas de exposición.....	25
<b>Tabla 9:</b> Relación de LC50/CE estimada para la réplica I y los límites de confianza en la evaluación de la toxicidad del extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> (Plátano) sobre <i>Artemia salina</i> .....	25



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Obtención del extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> var. Seda.....	11
<b>Figura 2.</b> A. Tindalización del extracto líquido a 90°C.B. Siembra en del producto después de los 3 días en Agar Nutritivo.....	12
<b>Figura 3.</b> A. Nefelómetro de Mc Farland. B. Tubos de la dilución de la suspensión bacteriana hasta $10^{-6}$ .....	13
<b>Figura 4.</b> Obtención de la concentraciones del extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> (PLÁTANO Var. Seda) A. Medición del extracto líquido con pipetas graduadas, B. Placas servidas con Agar nutritivo y las concentraciones del extracto líquido.....	14
<b>Figura 5.</b> A. Inóculo estandarizado, B. Siembra del inóculo estandarizado en el medio de Agar nutritivo con las concentraciones del extracto líquido.....	15
<b>Figura 6.</b> A. Agua de Mar (Diluyente). B. Concentraciones para el Bioensayo.....	17
<b>Figura 7.</b> A. Huevos de <i>Artemia salina</i> certificados. B. Exposición a una fuente luminosa por 1h. C. Exposición a oscuridad por 24h. D. Nauplius en Instar II.....	18
<b>Figura 8.</b> A. Exposición de los Nauplius a las concentraciones por 24 h. B. Conteo de los Nauplius muertos.....	19
<b>Figura 9.</b> Efecto inhibitorio de las diferentes concentraciones del extracto líquido de <i>Musa acuminata</i> sobre las unidades formadoras de colonia (UFC) de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a meticilina (SARM) cepa 4.....	21
<b>Figura 10:</b> curvas de toxicidad mostrando la relación entre los diferentes estímulos (5, 10, 20, 30 %v/v) del extracto liquido de <i>Musa acuminata</i> (Plátano) Var. Seda frente a la respuesta de mortalidad expresada en porcentaje de <i>Artemia salina</i> .....	26

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto líquido de *Musa acuminata* (PLATANO) var. Seda a concentraciones de 5, 10, 20, 30 %v/v sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y evaluar la toxicidad del extracto de *Musa acuminata* sobre *Artemia Salina*. Se utilizaron cinco cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina aisladas de pacientes con infecciones de vías respiratorias del Hospital docente Belen- Lambayeque y extracto líquido de *Musa acuminata*. El número de observaciones experimentales fue 75 para el efecto inhibitorio y de 120 para la toxicidad. El efecto inhibitorio se determinó siguiendo la metodología de siembra por el método de extensión en superficie o siembra masiva en placas con agar nutritivo con el extracto líquido de *Musaca acuminata* (Plátano var. seda) y el bioensayo de toxicidad con Nauplius de *Artemia salina*. El extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda a las concentraciones de 5,10, 20, 30%v/v inhibió a *S. aureus* resistente a meticilina, con una completa inhibición al 30% v/v en las cepas 3, 4 y 5; a la misma concentración la inhibición fue menor en las cepas 1 y 2 con un crecimiento final de  $3 \times 10^5$  ufc/mL y  $6 \times 10^5$  ufc/mL respectivamente. El efecto inhibitorio *in vitro* del extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano Var. Seda) frente a *S. aureus* resistente a meticilina es dependiente de la cepa y directamente proporcional a la concentración. El extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda no es toxico para *Artemia salina*. El extracto de *Musa acuminata* (PLATANO) var. Seda sobre *Artemia salina* registró una relación promedio entre la concentración de exposición y la  $LC_{50}$  de 22.553 %v/v (2.255 mL), que según la Cyted es relativamente inocuo. Se concluye que el extracto de *Musa acuminata* “plátano” var. Seda a las concentraciones de 5, 10, 20, 30 % v/v tuvo efecto inhibitorio frente a las especies de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina y no resulto ser tóxico frente a *Artemia salina*.



## I. INTRODUCCION

*Staphylococcus aureus* es una bacteria que forma parte de la flora normal del tracto respiratorio superior del humano y de los animales; como flora normal se le ha encontrado en hisopados de fosas nasales y de faringe en personas aparentemente sanas (Arce *et al*, 2009 & Carmona *et al*, 2012); como patógeno es aislado con frecuencia en los hospitales, así en los hospitales del Minsa y Essalud representó el 18,4% de aislamientos en el 2008, mientras la revista CIMEL (Ciencia e Investigación Médica Estudiantil Latinoamericana) el 75,2% de aspirados del tracto respiratorio (Alvarado *et al*, 2008). En Lambayeque, un estudio realizado en el hospital docente Belén, para evaluar el estado portador de pacientes intrahospitalarios así como del personal que labora en dicha institución se obtuvo una alta incidencia de esta bacteria principalmente del servicio de neonatología y del personal de enfermería (Aguilar *et al*, 2015).

Una complicación de los casos de infecciones por *S. aureus* es su resistencia a los antimicrobianos, así se reporta resistencia en aislados hospitalarios del 32% de las cepas a meticilina, 35% a gentamicina, 10% a amikacina, 58% a ciprofloxacina (Mamani *et al*, 2006). De las cepas aisladas en hospitales, las resistentes a meticilina (*S. aureus* resistente a meticilina - SARM) están en rangos del 75,6% según el (Instituto Nacional de Salud [INS], 2007) hasta el 82,8% (Alvarado *et al*, 2008), estas además poseen elevada resistencia a antibióticos como eritromicina (79,7%), clindamicina (77,7%), ciprofloxacina (74,2%) y penicilina (98,3%) y a otros en porcentajes también elevados (Instituto Nacional de Salud, 2007; Mamani *et al*, 2006; Sosa, 2010).

En Lambayeque, se utiliza el extracto líquido ("leche") de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda para el tratamiento de la tos y, el extracto líquido y el fruto para ayudar en el restablecimiento de los pacientes con tuberculosis. En Trujillo estudios recientes mostraron que diversos extractos de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda lograron mejorar la calidad de vida de pacientes con tuberculosis (Ortiz, 2010). Además de ello, es conocido que el agua producto del hervor del "plátano

de freír” permite una mayor producción de secreción láctea en las parturientas (conocimiento popular).

Estudios realizados para determinar la toxicidad del extracto líquido de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda, no mostraron resultados positivos a dicho efecto (Juárez, 1996), aun así no se tiene referencias de la toxicidad de *Musa acuminata* var. Seda sobre *Artemia salina* el cual es un crustáceo muy sensible a un amplio rango de compuestos químicos con actividad biológica, por lo que se ha propuesto su uso en bioensayos para evaluar la toxicidad de extractos de plantas (Mayorga, 2001)

Valorando las propiedades atribuidas a *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda por los pobladores y los reportes científicos de la actividad antimicrobiana de sus principios activos y por otro lado, las frecuentes infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, se formuló el cuestionamiento

**¿Tiene efecto inhibitorio *in vitro* el extracto líquido de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda frente a cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM)? y ¿Posee toxicidad el extracto líquido de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda sobre *Artemia salina*?**

Considerándose como hipótesis que el extracto líquido de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda tiene efecto inhibitorio *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), y que dicho extracto no posee toxicidad en *Artemia salina*, se ejecuta el presente trabajo que tiene como objetivo general, determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto líquido de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y evaluar su efecto tóxico, y como objetivos específicos:

- Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto líquido de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda a concentraciones de 5, 10, 20, 30 % v/v frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM).
- Determinar el efecto tóxico de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda a concentraciones de 5, 10, 20, 30 % v/v sobre *Artemia salina*.

## II. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

Se determinó la frecuencia de SARM (*Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina) en trabajadores del Centro Integral de Salud de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo. Se incluyó en el estudio 35 trabajadores, a cada uno se le tomó una muestra de fosas nasales y otra de faringe; las muestras se sembraron inmediatamente en el medio Agar Sangre de cordero y en Agar manitol salado; se realizó la prueba de susceptibilidad antibiótica mediante el método de Kirby Bauer. Se aisló 8 cepas, 2 de ellas fueron *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina y 6 de *Streptococcus pyogenes* beta-hemolítico. Se concluyó que no hubo prevalencia de *S. aureus* resistente a Meticilina (Arce *et al* 2009).

De 452 personas participantes menores de 85 años, procedentes de un distrito urbano marginal de la zona norte de la ciudad de Lima (Perú), fueron evaluados la frecuencia y los factores asociados a la colonización nasal por *Staphylococcus aureus*, así mismo el patrón de susceptibilidad antibiótica de las cepas aisladas mediante el método de difusión de disco de Kirby Bauer. En un muestreo por conveniencia, a cada persona se le realizó una encuesta y se le tomó una muestra de hisopado de las narinas. En 452 participantes, la frecuencia de colonización nasal por *Staphylococcus aureus* fue de 24,6%, de los cuales solo el 0,9% fue resistente a meticilina. El único factor asociado a la colonización nasal fue la edad menor o igual a 11 años (OR: 3,80; Índice de Confianza al 95%: 1,42 - 10,16). La mayoría de cepas fue resistente a la penicilina (96,4%), además se encontró resistencia a eritromicina (10,9%), clindamicina (7,3%) y 4,5% a gentamicina (Carmona *et al.*, 2012).

La investigación de Alvarado *et al.*, (2008), que se hizo con la finalidad de determinar la resistencia de *S. aureus* aislado de varias muestras del Hospital Nacional Hipólito Unánue de Lima (Perú). Se aisló la bacteria en el 53,1% de pacientes adultos y en el 22,8% de adultos mayores; el 70,3% fueron de pacientes masculinos. El 75,2% correspondieron a muestras de aspirado traqueal,

sangre, aspirado bronquial y líquido pleural; del aspirado traqueal se aisló con mayor frecuencia (28,3%). Un 53,8% de los aislamientos fueron obtenidos de los pabellones de Unidad de Terapia Intensiva (UTI) (35,2%) y Medicina General (18,6%). Del análisis de resistencia de *S. aureus* el 82,8% fueron cepas SARM, así como en la UTI, su prevalencia fue de 92,1%. Cabe resaltar que no se aislaron cepas VRSA (*Staphylococcus aureus* resistentes a vancomicina).

En el Hospital Nacional Hipólito Unánue, Mamani *et al.*, (2006), realizaron un estudio en pacientes hospitalizados y en pacientes ambulatorios, de todos ellos se aisló 217 cepas de *Staphylococcus aureus*. El patrón de resistencia de *S. aureus* aislado de pacientes hospitalizados fue, a meticilina 32% de cepas, gentamicina 35%, amikacina y a ciprofloxacina 58%; en relación a la sensibilidad, se obtuvo 100% de cepas sensibles a vancomicina. En cuanto a los pacientes ambulatorios, los porcentajes de resistencia fueron, 21% a meticilina, 32% a gentamicina, 8% a amikacina y 52% a ciprofloxacina; se obtuvo 100% de sensibilidad a vancomicina.

Según el Instituto Nacional de Salud (2007), *Staphylococcus aureus* se obtuvo el 18,4% (1321) del total de aislamientos reportados por hospitales (7163) del Ministerio de Salud y los hospitales de EsSalud. La resistencia a la meticilina se obtuvo en el 75,6% de los aislamientos, no habiendo diferencias significativas entre los aislamientos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina provenientes de los hospitales del MINSA (77,40%) y EsSalud (75%). La proporción de aislamientos resistentes a otros antibióticos también resultó alta, como lo es para la eritromicina (79,7%), clindamicina (77,7%) y ciprofloxacina (74,2%). La resistencia a rifampicina se presentó relativamente baja (12,5%) y es un antibiótico que puede ser útil en un esquema de combinación. No se reportó ningún aislamiento con un perfil de resistente o intermedio a vancomicina.

El Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales (NNIS) de EE UU, determinó que en pacientes hospitalizados la prevalencia de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) se incrementó del 4% en

1980 a 31, 9% en 1996; 55% en 2001 y llegó a 60,7% en 2004. En algunos hospitales se reportaron incidencias hasta del 80%. *S. aureus* fue resistente en 67% a la oxacilina y 100% sensible a vancomicina, imipenem, cefalexina, levofloxacino, meropenem y ceftriaxona. Asimismo se demostró una resistencia del 33% a clindamicina y del 57% a trimetoprima-sulfametoxazol (Sosa 2010).

Por otro lado, se realizó un estudio comparativo sobre la actividad antibacteriana del extracto de pulpa de tres especies de banano, *Musa acuminata* AA/AAA, *Musa acuminata* AA y *Musa balbisiana* BBB sobre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Los extractos acuosos, metanólico y acetónico de pulpa de banano fueron probados mediante el método de difusión en disco para las pruebas de sensibilidad antibacteriana. (Mohd *et al.*, 2014)

El extracto acetónico de pulpa de plátano tuvo mayor rendimiento (15,16%), seguido del extracto metanólico (13,73%) y del extracto acuoso (5,403%). Los extractos de acetona y metanol de todas las especies de banano a concentración de 10 mg/concentración indujeron zonas de inhibición con promedio de 7 a 8.5 mm contra bacterias gramnegativas como *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* pero no inhibieron a bacterias grampositivas como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*. Los extractos acuosos de las tres especies de plátano no mostraron ninguna acción inhibitoria contra los microorganismos ensayados (Mohd *et al.*, 2014)

En una investigación realizada por Bocanegra *et al.*, (2009), sobre la bioactividad de extractos obtenidos por maceración con hexano, cloroformo, metanol y agua de diferentes plantas contra patógenos de las vías respiratorias utilizando el método de Microdilucion, se determinó que el extracto acuoso de tallo de *Musa acuminata* a una concentración mínima inhibitoria de 250 g/mL, demostró actividad antimicrobiana contra *Streptococcus pneumoniae*.



En la Universidad Autónoma de Nuevo León-México, evaluaron la actividad antimicobacteriana de nueve plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana para tratar la tuberculosis y otras enfermedades respiratorias para lo cual usaron la técnica (MABA): Ensayo en Microplaca con Azul Alamar; el estudio demostró que la savia de *M. acuminata* posee una actividad antimicrobiana contra *Mycobacterium tuberculosis* con una concentración mínima inhibitoria de 0,2 gramos / ml (Camacho *et al.*, 2008)

Se evaluó la capacidad de la savia de *Musa spp.* sobre el crecimiento *In vitro* de *Mycobacterium tuberculosis* demostrando que esta savia tiene una clara actividad bactericida, pues lo determinaron por medio de diferentes diluciones logarítmicas desde 1/3.3 hasta 1/1000 (1/3.3; 1/10; 1/33.3; 1/100; 1/333, 1/1000) respectivamente, se trabajó con dos modalidades experimentales distintas para determinar el comportamiento del *Mycobacterium tuberculosis* frente a la savia; en el primero se utilizó una suspensión bacilar de *Mycobacterium tuberculosis* y esta población constante se enfrentó a las diluciones anteriormente mencionadas y cada mezcla fue sembrada inmediatamente en el medio de cultivo.

En el segundo modelo experimental se utilizaron las mismas diluciones de *Musa spp.* Con la suspensión bacilar con la diferencia de que antes de la siembra en el medio sólido las mezclas fueron preincubadas a 37°C/24h. ; Luego se procedió con la siembra como en la anterior. Obteniéndose como resultados en el primer modelo experimental un crecimiento máximo en la dilución 1/100 de la savia que sobrepasa el control y observándose un efecto inhibitor en las diluciones 1/3, 1/10, 1/33.3; en la segunda modalidad obtuvieron un máximo desarrollo en la dilución 1/33.3 y se evidenció la inhibición en las diluciones 1/100, 1/333, haciéndose cero el crecimiento en la dilución 1/1000. (Gómez *et al.*, 2010)

Luego se determinó el índice fagocítico y la actividad microbicida en *Mus musculus*. Para la producción de anticuerpos, se utilizaron 3 grupos, el A y B con *M. acuminata* en concentraciones de 20 mg/kg y 10 mg/kg de peso respectivamente y el grupo control con solución salina fisiológica, en seguida

fueron infectados con *E. coli* O157:H7 y se extrajeron muestras de sangre para la titulación de anticuerpos. Los resultados en la activación de macrófagos indicaron que los estimulados con 8,75 ug/mL de *M. acuminata* presentaron un mayor índice fagocítico que los otros grupos (Cueva *et al.*, 2011)

Se determinó el efecto de la savia liofilizada de *Musa acuminata* Colla "plátano de seda", sobre la activación *in vitro* de macrófagos peritoneales y la producción de anticuerpos en *Mus musculus* BALB/c infectados experimentalmente con *Escherichia coli* O157:H7. Para la activación *in vitro*, los macrófagos fueron distribuidos en 02 sistemas: experimentales A y B estimulados con diferentes concentraciones de savia liofilizada de *M. acuminata* Colla, posteriormente, se adicionó *E. coli* O157:H7, teniendo una concentración de savia de 16,3 ug/mL en el experimental A y 8,75 ug/mL en el B.

Se trató a 40 pacientes, de ellos 17 con TBMDR, con savia de *Musa acuminata* (plátano) sola y complementado con kanamicina y etionamida. Pacientes del grupo A fueron tratados con 30 dosis de savia y pacientes del grupo B se trataron con 16 dosis de savia y 16 dosis de kanamicina-etionamida. En todos los pacientes se observó una reducción del porcentaje de monocitos y su regresión al estado inactivo, así mismo los exámenes directos, cultivos y la anatomía patológica. Concluyeron los autores que la savia de *Musa acuminata* elimina el *Mycobacterium tuberculosis* detectable al examen bacteriológico, observándose además la progresión hacia la curación histológica y radiográfica de la tuberculosis pulmonar (Ortiz, 2010)

En la facultad de Ciencias Médicas de Matanzas, Fernández *et al.*, 1997 investigaron la cromatografía de la fracción fenólica de las hojas y el pseudotallo de *Musa sp* ABB (plátano burro) durante los 8 meses de estudio, La estabilidad de los fenoles del extracto fluido se determinó según el método de Folin-Dennis, para la cuantificación con ácido tánico como patrón; la variación fue sólo de 0,17 mg/mL. También se evaluó el efecto antiinflamatorio del extracto fluido según el modelo del edema de la pata de la rata con carragenina, obteniéndose una

disminución del edema y el aumento del umbral al dolor determinado por la técnica del plato caliente en los animales tratados.

Se evaluó la bioactividad y la composición fitoquímica presentes en la flor de la *Musa acuminata*. Los resultados mostraron que el extracto de la flor tiene buena actividad antimicrobiana contra diferentes microorganismos, siendo el más sensible *Staphylococcus aureus* con un halo de inhibición de 22 mm. También se evaluó la toxicidad en *Artemia salina* y se concluyó que el extracto de la flor de *Musa acuminata* no es tóxico siendo el valor de la ( $LC_{50}$ ) de 9,97 mg/ml. El estudio fitoquímico del extracto de la flor de *Musa acuminata* reveló que es una buena fuente de antioxidantes, también se determinaron compuestos activos como glucósidos, taninos, saponinas, fenoles y flavonoides (Sumathy *et al.*, 2011)

Se realizó una investigación en Buenos Aires donde prepararon un fitofármaco a partir del extracto de pseudotallo de *Musa paradisiaca* considerado como un producto natural que posee además en su composición miel de abejas (edulcorante) y propóleos (preservante). Para cumplir con los ensayos toxicológicos establecidos según las normativas establecidas por la OECD (Organización para la cooperación y el desarrollo), realizaron un ensayo límite empleando ratas Sprague-Dawley de ambos sexos; concluyeron que el producto no fue tóxico al obtener una supervivencia que fue del 100%, siendo esto un indicador de que la  $LC_{50}$  del producto por vía oral es mayor a 2g/kg de peso corporal. (Orellanes *et al.*, 2003).

El camarón de agua salobre (o de mar), *Artemia salina*, es un organismo de cuerpo blando, de carmelita y transparente a la luz; pertenece al Phylum Arthropoda, clase Crustaceae, subclase Branchiopoda. Dicha especie se encuentra distribuida en todo el mundo en aguas de elevada salinidad, los organismos pueden crecer a temperaturas entre 6 y 35°C, se alimentan de algas y bacterias y son fuente de alimento para peces, pájaros y varios invertebrados. Las hembras producen huevos que, en condiciones externas favorables, eclosionan produciendo larvas de un tamaño aproximado de 1 mm. Los huevos también

formar quistes y permanecer en esta forma por un año o más (Ruppert & Barnes, 1996)

Según Mayorga (2001), *Artemia* es hasta la fecha el único animal en todo el mundo cuyo estado criptobiotico (quistes) está disponible comercialmente de manera continua, como fuente de alimento para peces y crustáceos en acuicultura. Esto ha constituido un elemento clave en su utilización en ensayos biológicos, es también útil para predecir actividades plaguicidas y farmacológicas, responde a un amplio rango de compuestos química y farmacológicamente diversos. El ensayo con *Artemia spp.* tiene las ventajas de ser más rápido (24 horas), barato y sencillo (no se requieren técnicas asépticas). Se puede utilizar fácilmente un gran número de organismos para la validación estadística, no necesita equipamiento especial y se emplean pequeñas cantidades de muestras (2-20 mg o menos).

En un estudio realizado con *Artemia salina* se evaluó la actividad toxica *in vitro* de los extractos etanólicos de diez especies de plantas medicinales: *Bixa arellana*, *Tagetes lucida*, *Senna occidentalis*, *Gliricida sepium*, *Byrsonima crassifolia*, *Psidium guajava*, *Musa acuminata*, *Phlebodium aureum*, *Smilax lundellii*, *Solanum americanum* y *Lippia dulcis*, de ellas solo dos presentaron efecto toxico: *Solanum americanum* con 0,22mg/mL (220ppm) y *Lippia dulcis* con 0,66mg/mL (660ppm). Las plantas restantes no presentaron toxicidad en valores 1mg/mL equivalente a 100ppm (Juarez, 1996).

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Población y muestra del estudio

Para el efecto inhibitorio del extracto líquido de *Musa acuminata* “plátano” la población y muestra fue 25, correspondiente a la interacción entre 5 cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina y 4 concentraciones (5, 10, 20, 30, % v/v) del extracto líquido de *Musa acuminata* Plátano var seda, más un control. Considerando 3 repeticiones, correspondió a un total de 75 unidades experimentales.

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

#### 3.2 Material:

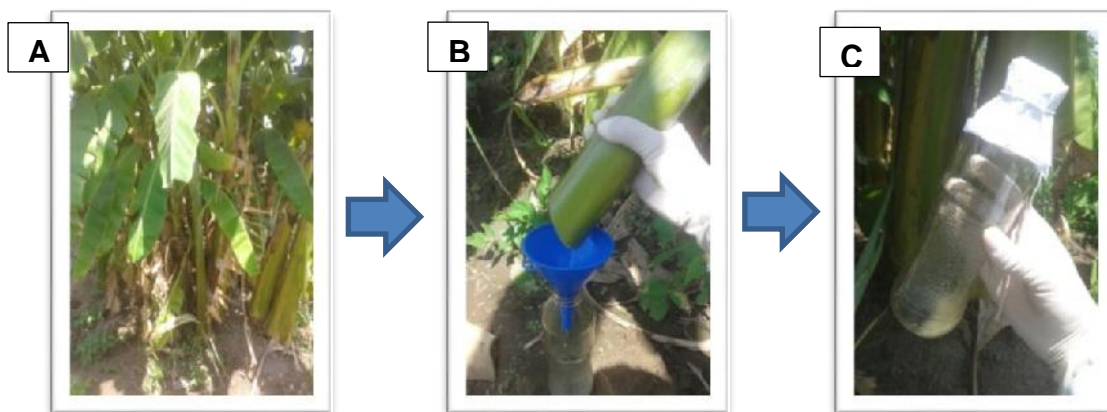
- ✓ **Material Botánico:** Savia de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda 500 mL.  
Las plantas de 4 meses y medio de edad en fase Vegetativa – Reproductiva fueron obtenida del Fundo Villa Mercedes que pertenece a la Rama Guanabal – Ferreñafe, del propietario Juan Gonzáles Piscocoy.
- ✓ **Material Microbiológico:**
  - ✓ 5 cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (SARM) aisladas de pacientes con infecciones de vías respiratorias del Hospital docente Belen- Lambayeque.
  - ✓ Cistos de *Artemia salina* “Camarón salino” certificados obtenidos comercialmente.

### 3.3 Métodos

#### 3.3.1 Determinación del efecto inhibitorio *in vitro* del extracto líquido *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda a concentraciones de 5, 10, 20, 30 % v/v frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM).

##### A. Obtención del extracto líquido (Madalengoitia, H. 2007)

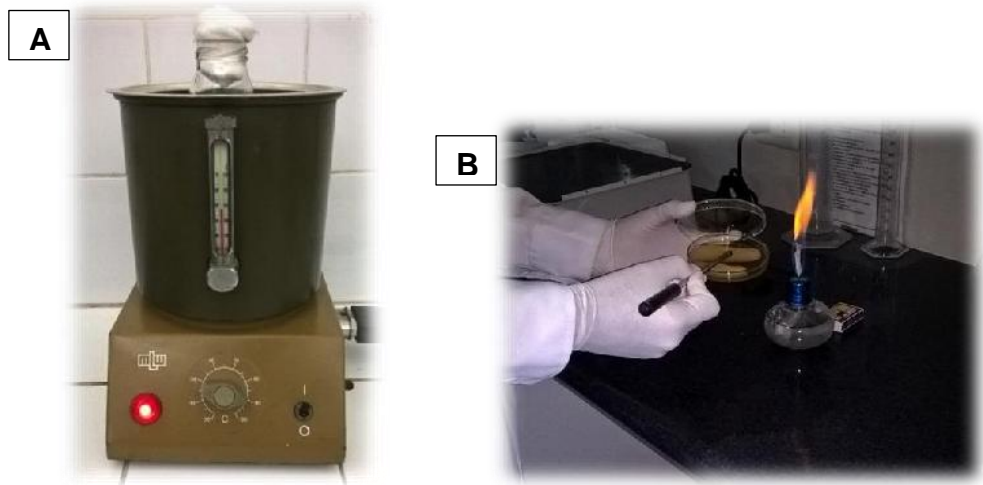
- Para la obtención de la savia, se realizó una limpieza del pseudotallo de la planta con franelas húmedas, se quitaron con cuidado las vainas foliares que recubren el pseudotallo hasta dejarlo expuesto.
- Nuevamente se limpiaron con franelas húmedas y después con alcohol.
- Se dejó secar y con un solo golpe y a 30 centímetros del suelo cortar el pseudotallo, enseguida, a través de un embudo limpio se dejó pasar el extracto líquido hacia un frasco de vidrio esterilizado de 500 mL obteniéndose un promedio de 10 mL por planta.



**Figura 1.** Obtención del extracto líquido de *Musa acuminata* var. Seda. **A.** Plátano *Musa acuminata*. **B.** Colecta del extracto líquido de *Musa acuminata*. **C.** Extracto de *Musa acuminata* en frasco de vidrio esterilizado

## B. Tindalización del extracto líquido (Romero, R., 2007)

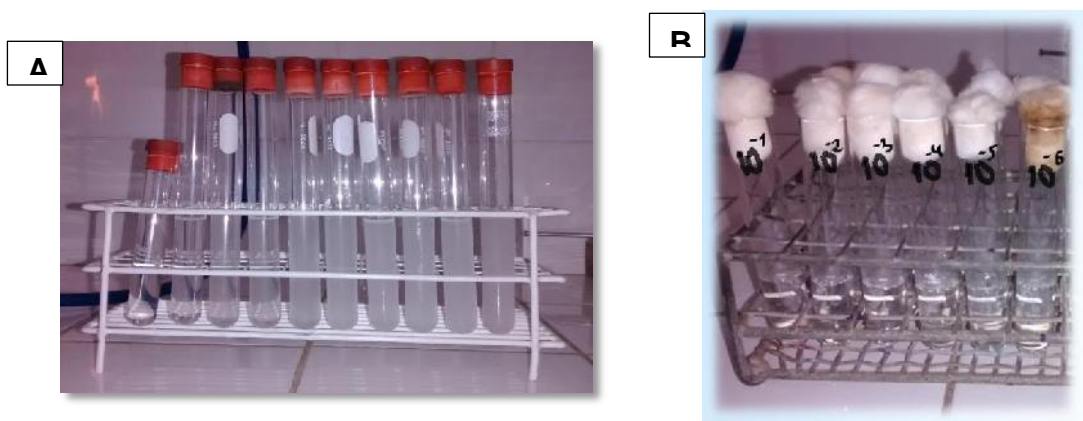
- Esta técnica de esterilización que consistió en elevar la temperatura del extracto líquido *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda, entre 90 y 100 ° C durante media a una hora, por tres días consecutivos en baño maría.
- Entre cada etapa de calentamiento se incubó el producto a 37 °C. En las etapas de calentamiento se destruyen los microorganismos, pero permanecen las esporas, las cuales germinarán en las etapas de incubación, para que nuevamente se destruyan los microorganismos germinados en la segunda o tercera etapa de calentamiento.
- Luego se comprobó la esterilidad del producto para lo cual se realizó una siembra en agar común y medios selectivos o enriquecidos.
- Al cuarto día se realizó la lectura de las placas que han sido sembradas con el producto ya tindalizado.



**Figura 2.** A. Tindalización del extracto líquido a 90°C. B. Siembra en el producto después de los 3 días en Agar Nutritivo.

### C. Estandarización del inoculo bacteriano (Difco, 1987)

- Las cepas reactivadas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina se estandarizaron por nefelometría con el tubo N° 1 del nefelómetro de Mc Farland a partir de esta dilución se realizaron 6 diluciones sucesivas para obtener una concentración equivalente a  $3 \times 10^2$  bacterias(ufc) /mL, del tubo  $10^{-6}$  se extrajo 0.5 de inoculo correspondiente a 30 bacterias(ufc), las cuales se sembraron en placas Petri; de este modo se trabajó con una biomasa estándar en todos los ensayos.



**Figura 3.** A. Nefelómetro de Mc Farland. B. Tubos de la dilución de la suspensión bacteriana hasta  $10^{-6}$

### D. Obtención de las concentraciones del extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda (Álvarez, 2010):

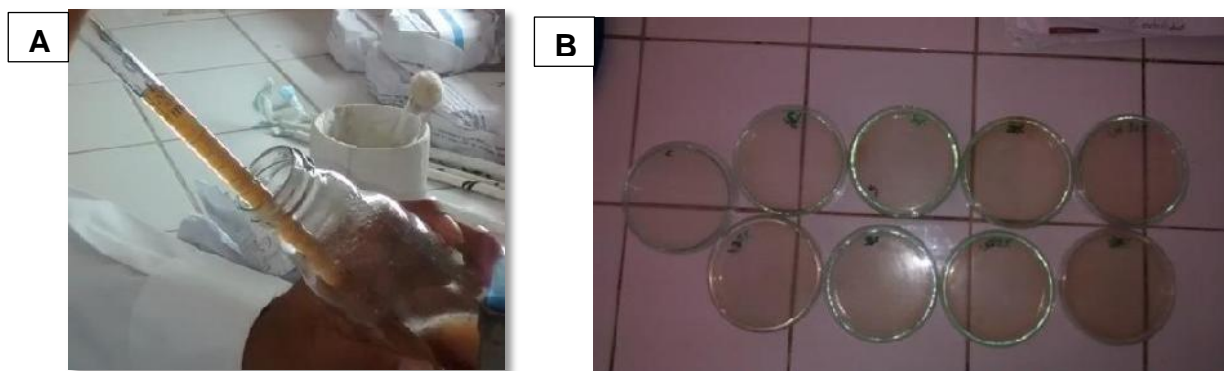
- Se diluyó en baño maría el Agar Nutritivo.
- Una vez diluido el medio se mezcló y se homogenizó con el extracto líquido en un tubo estéril; las cantidades a mezclarse de cada uno de ellos se detallan en la Tabla 1 y figura 4.
- Obtenida la concentración correspondiente en dicho tubo, se vació esta cantidad en placas Petri estériles. Se dejó solidificar el medio de cultivo en las placas Petri.
- Se incubaron y se colocaron en estufa por 24 horas para el control de esterilidad.



**Tabla1:** Obtención de Concentraciones del extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda

Extracto de <i>Musa acuminata</i> (mL)	Diluyente Medio de cultivo Agar Nutritivo (mL)	Concentración (% v/v)
3	7	30
2	8	20
1	9	10
0.5	9.5	5

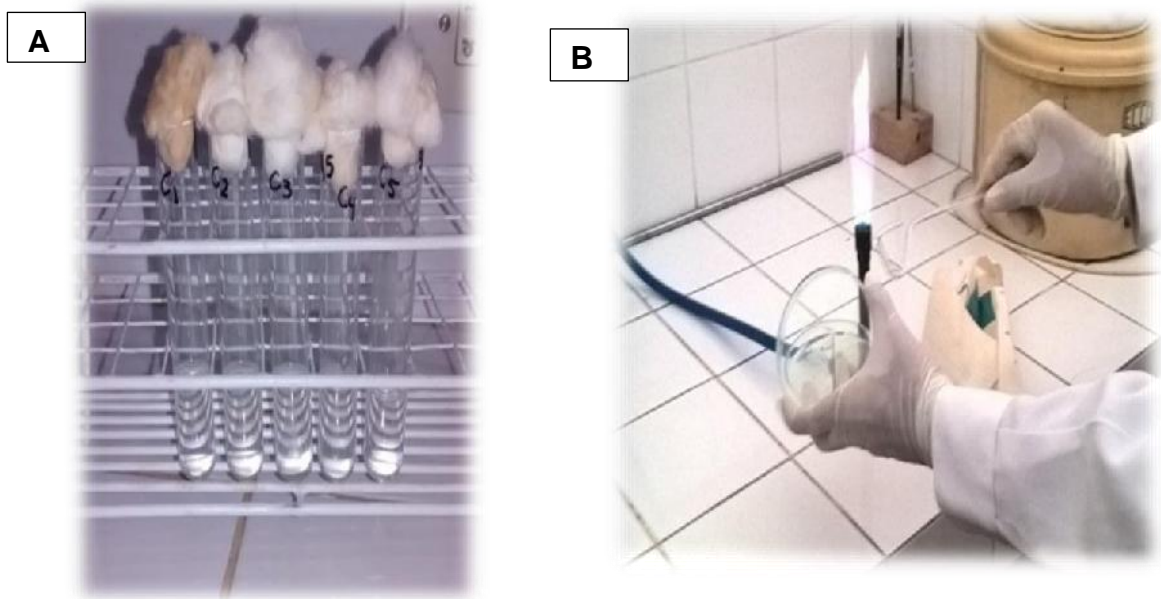
Volumen total: 10 mL = 100%



**Figura 4.** Obtención de la concentraciones del extracto líquido de *Musa acuminata* (PLÁTANO Var. Seda) **A.** Medición del extracto líquido con pipetas graduadas, **B.** Placas servidas con Agar nutritivo y las concentraciones del extracto líquido.

**E. Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto líquido de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (García P. *et al.*, 1997)**

- A cada placa Petri servida se colocó 0.5 mL. del inóculo bacteriano obtenido anteriormente.
- Por medio de una espátula de Drigaslyk estéril se extendió el inóculo bacteriano por toda la superficie de la placa Petri.
- Se realizó lo mismo con todas las concentraciones y repeticiones a investigar, incluido la placa control, la cual solo contuvo el inóculo bacteriano.
- Posteriormente se llevaron las placas a incubación a 37 °C/24 horas.
- Transcurrido el tiempo se realizó el conteo de unidades formadoras de colonia (U.F.C) en cada placa sembrada.



**Figura 5. A.** Inóculo estandarizado, **B.** Siembra del inóculo estandarizado en el medio de Agar nutritivo con las concentraciones del extracto líquido.

### 3.4.2 Determinación del efecto tóxico de *Musa acuminata* (plátano) Var. Seda sobre *Artemia salina* (Mayorga, 2001)

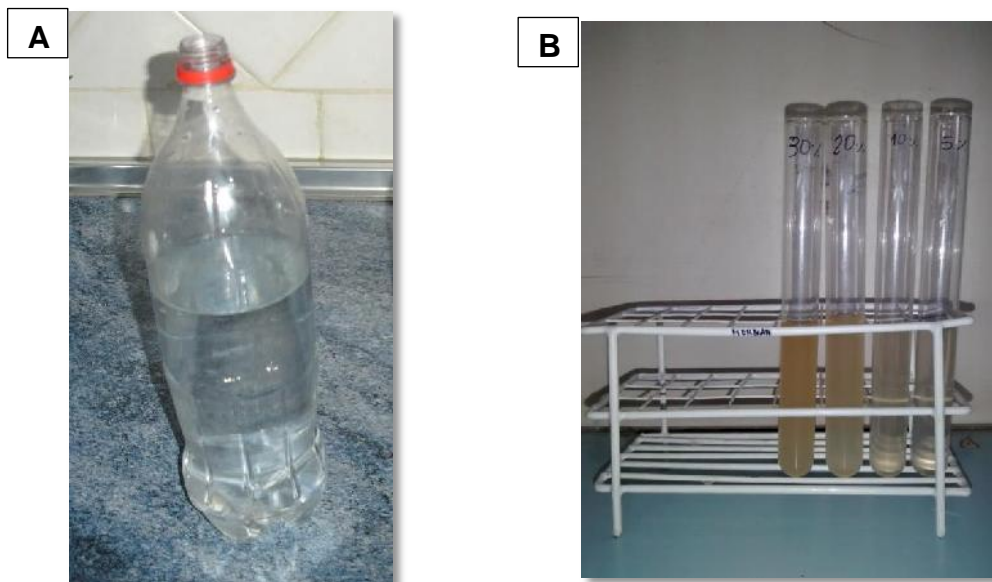
#### A. Obtención de las concentraciones de la solución para el bioensayo.

- En un recipiente esterilizado se colocó el extracto puro de *Musa acuminata* con el cual se procedió a realizar diluciones con agua de mar esterilizada dando como resultado las diferentes concentraciones, según lo especificado en la tabla 2.

**Tabla 2:** Concentraciones del extracto de *Musa acuminata* a partir de la solución madre

Extracto de <i>Musa acuminata</i> (mL)	Diluyente (mL)	Concentración (% v/v)
3	7	30
2	8	20
1	9	10
0.5	9.5	5

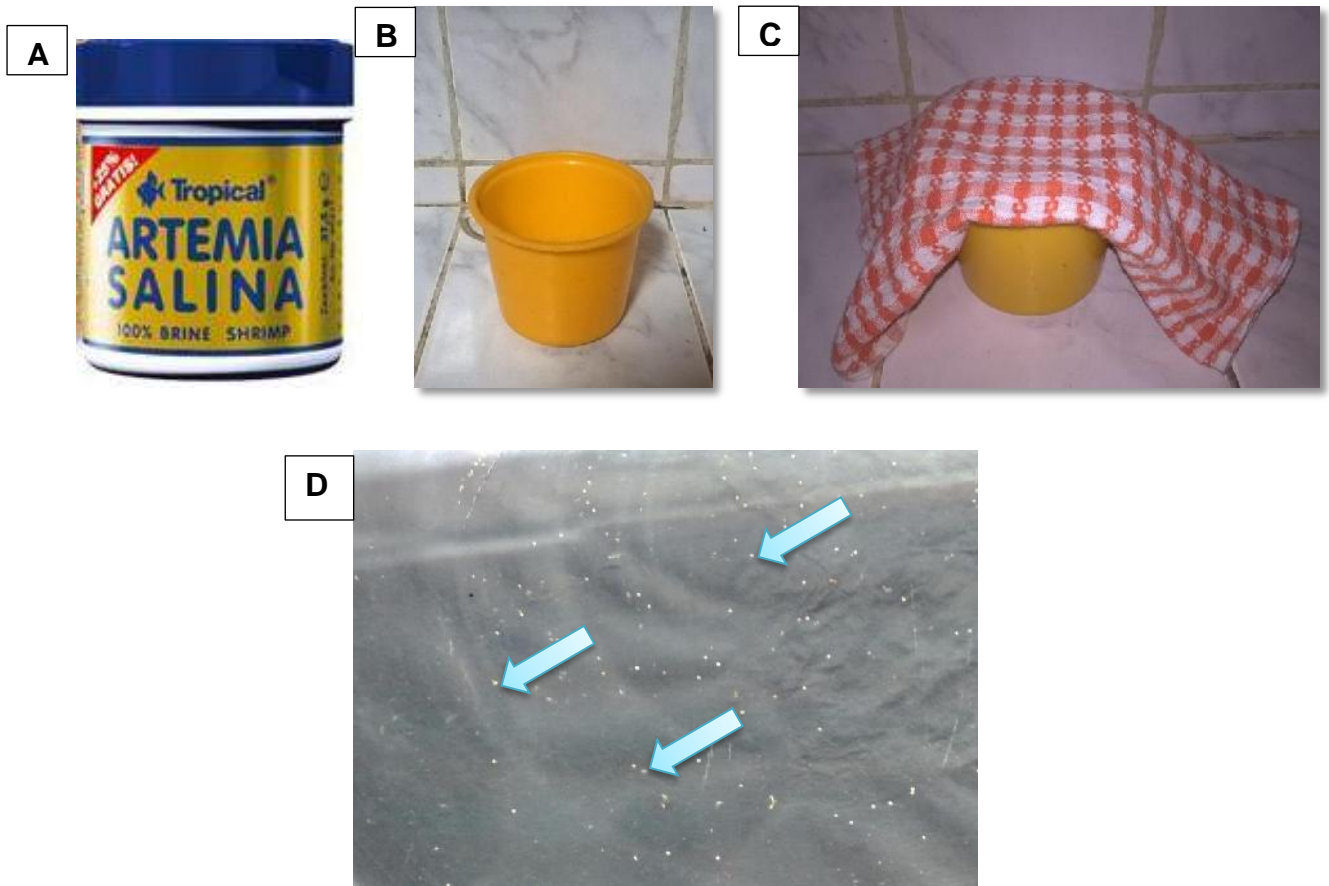
Volumen total: 10 mL = 100%



**Figura 6. A.** Agua de Mar (Diluyente). **B.** Concentraciones para el Bioensayo.

#### **B. Cultivo de Nauplius de *Artemia salina***

- Para el test se distribuyeron en forma homogénea y suave en una placa Petri, 100 mg de huevos de *Artemia salina* certificados, que se colocaron en aproximadamente 12 mL de agua de mar natural.
- Los cistos fueron incubados a temperatura ambiente expuestos por 1 hora a una fuente luminosa y luego a 24 horas en oscuridad.
- Luego de la incubación se transfirió la mayor cantidad posible, con ayuda de una pipeta Pasteur, los nauplius en estado instar I (organismo recién nacido) a una placa con medio fresco, y se incubaron a 25°C por 24 horas más en oscuridad hasta que los nauplius alcanzaron el estado de instar II
- Para facilitar la transferencia de los nauplius, se colocó una fuente luminosa al extremo de la placa Petri para atraerlas, ya que estas son fototácticas.
- Al cabo de las 24 horas estuvieron listas para ser utilizadas como organismos de ensayo.



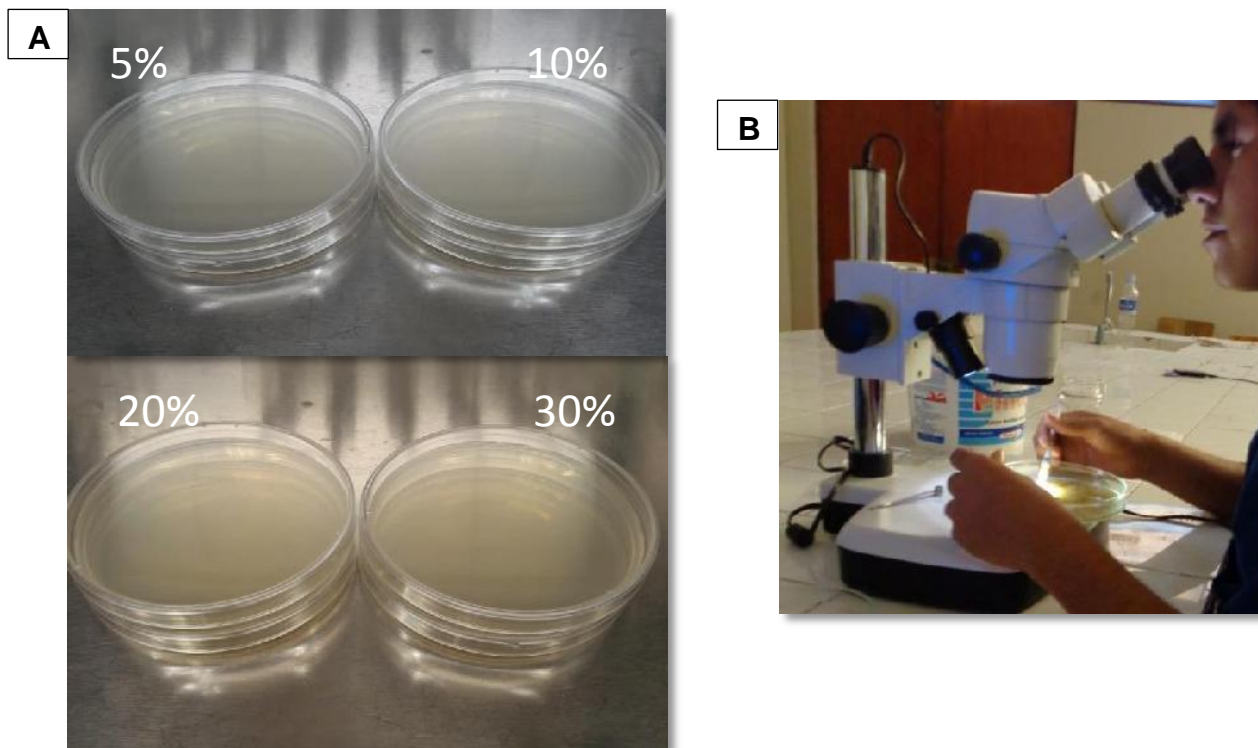
**Figura 7.** **A.** Huevos de *Artemia salina* certificados. **B.** Exposición a una fuente luminosa por 1h. **C.** Exposición a oscuridad por 24h. **D.** Nauplius en Instar II.

### **C. Bioensayo con *Artemia salina*:**

- Se expuso 10 nauplius de *Artemia salina* a las cuatro concentraciones del extracto líquido de *Musa acuminata*, más un control, con 3 réplicas, cada una incluyó al control.
- Se incubó por 24 horas a temperatura ambiente.
- Con un estereoscopio se observó y contó el número de larvas muertas

### **Lectura:**

Las larvas se consideraron muertas, si al cabo de 40 segundos de observación no presentaron movimiento alguno y se anotaron los resultados en la hoja de registro de datos.



**Figura 8. A.** Exposición de los Nauplius a las concentraciones por 24 h. **B.** Conteo de los Nauplius muertos.

### 3.4 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico del efecto inhibitorio del extracto líquido de *Musa acuminata* sobre *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina (SARM), se aplicó el análisis de varianza (ANAVA), con arreglo factorial 4x5, siendo el primer factor las 4 concentraciones del extracto líquido de *Musa acuminata* (5, 10, 20, 30 %v/v), y el segundo factor las 5 cepas bacterianas, con tres repeticiones por cada tipo de concentración. Este análisis se complementó con la prueba de significancia de Tukey con un nivel de significación de 0.05. Zar J. (1996). Para todo ello se utilizó el software STATISTICA versión 6.0 y MS Excel 2010

En el Caso de *Artemia salina* la evaluación se realizó estimando el valor del LC50 – 24h (concentración letal media a las 24 horas) de los nauplius de *Artemia salina* utilizando el programa estadístico Probit, el cual calcula el LC50 con su intervalo de confianza. Difco, (1987).

## IV. RESULTADOS

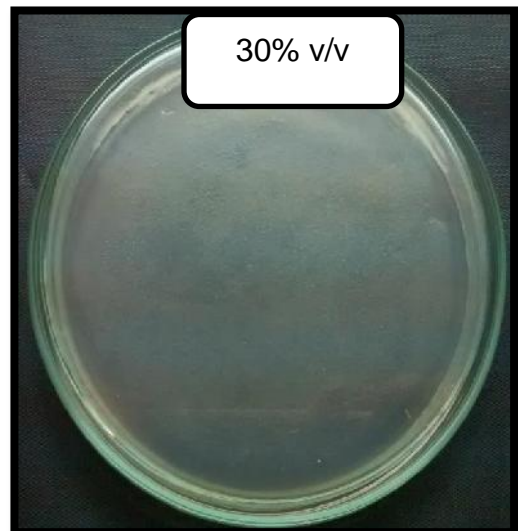
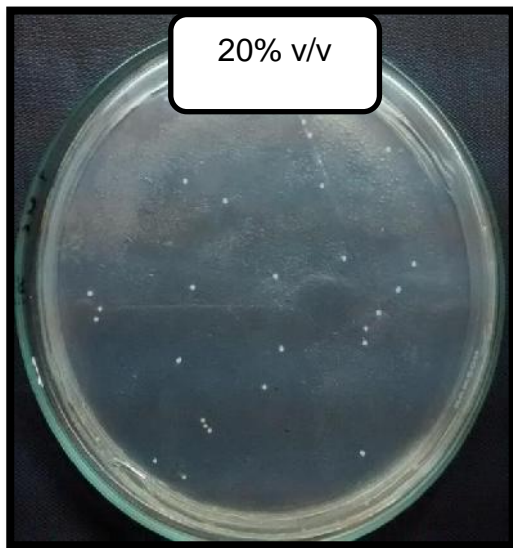
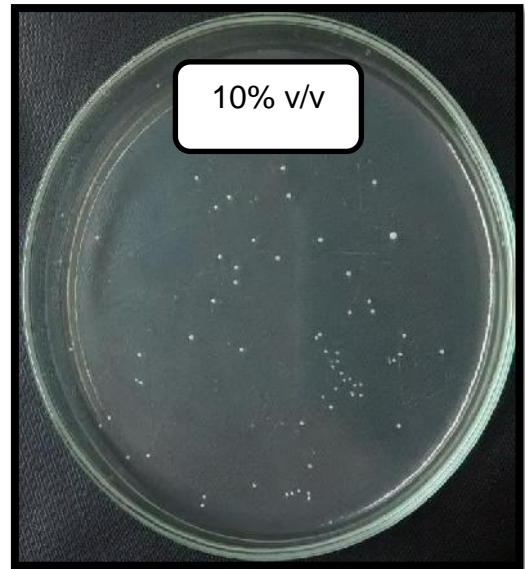
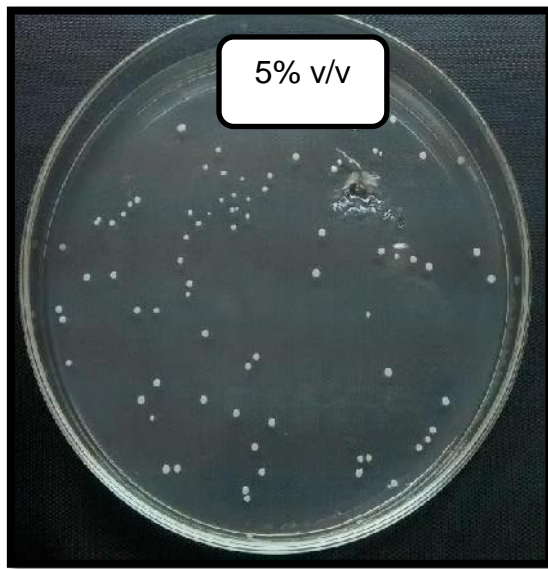
### 4.1 Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto líquido de *Musa acuminata* (plátano) frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM)

Los resultados obtenidos en el desarrollo experimental del presente trabajo demostró que el número de colonias de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), expresado en mL fue decreciendo conforme aumentaba la concentración de la solución del extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda. Se observó que hubo completa inhibición en las concentraciones de 30% v/v en las cepas 3, 4 y 5. Los resultados también mostraron una pequeña inhibición en las concentraciones de 5% v/v en todas las cepas estudiadas, siendo las que mostraron una menor inhibición las cepas 1 y 2 (tabla 3, figura 9)

**Tabla 3:** Promedio de unidades formadoras de colonia (UFC) de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) por efecto del extracto líquido de *Musa acuminata* (PLÁTANO) Var. Seda, a diferentes concentraciones

Concentración de la solución (% v/v)	Ufc por cepa de SARM				
	cepa 1	cepa 2	cepa 3	cepa 4	cepa 5
5%	4,213x10 <sup>8</sup>	5,93x10 <sup>7</sup>	6,3x10 <sup>6</sup>	7,6x10 <sup>6</sup>	2,9x10 <sup>7</sup>
10%	2,84x10 <sup>8</sup>	4,16x10 <sup>7</sup>	4,3x10 <sup>6</sup>	4,6x10 <sup>6</sup>	1,223x10 <sup>8</sup>
20%	1,16x10 <sup>7</sup>	1,56x10 <sup>7</sup>	3,3x10 <sup>6</sup>	2,3x10 <sup>6</sup>	1,36x10 <sup>7</sup>
30%	3x10 <sup>5</sup>	6x10 <sup>5</sup>	0	0	0





**Figura 9.** Efecto inhibitorio de las diferentes concentraciones del extracto líquido de *Musa acuminata* sobre las unidades formadoras de colonia (UFC) de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) cepa 4.



El análisis de Varianza (ANAVA) mostró que existen diferencias estadísticas significativas entre los promedios de las ufc según cepa y concentración, mientras que para la interacción entre dichos factores (CxK) no existen diferencias significativas (Tabla 4). Estos resultados permiten observar que las cepas no presentan el mismo comportamiento frente al extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda, así mismo las concentraciones del producto influyen en el efecto inhibitorio.

**Tabla 4:** Análisis de varianza de los promedios de unidades formadoras de colonia (ufc) de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) por efecto del extracto líquido de *Musa acuminata* (PLÁTANO) Var. Seda.

## HIPOTESIS

### Cepas:

$H_0$  = Cepa 1 = Cepa 2 = Cepa 3 = Cepa 4 = Cepa5

### Concentración:

$H_0$  = K5% = K10% = K20% = K30%

### Interacciones:

$H_0$  = No hay efecto de interacciones entre CxK

Fuente de variación	S.C	G.L	C.M	F	p-valor	Ft 0,05	Decisión
<b>Concentración (K)</b>	$380,2 \times 10^{15}$	4	$950,5 \times 10^{14}$	101.9187	0.0000	2.061000	Rechazar $H_0$
<b>Cepas (C)</b>	$384,3 \times 10^{15}$	4	$960,8 \times 10^{14}$	103.0292	0.0000	2.061000	Rechazar $H_0$
<b>C*K</b>	$545,2 \times 10^{15}$	16	$340,7 \times 10^{14}$	36.5370	0.0000	1.613000	Aceptar $H_0$
<b>Error</b>	$466,3 \times 10^{15}$	50	$932,5 \times 10^{14}$				

S.C = Suma de Cuadrados      G.L = Grados de libertad      C.M = Cuadrado Medio

La prueba de significancia de Tukey para los promedios de las unidades formadoras de colonia de SARM, obtenidos después de la prueba de susceptibilidad bacteriana demostró el efecto inhibitorio del extracto líquido de *Musa acuminata* (PLÁTANO Var. Seda), sobre cada cepa. Así mismo se observa que el promedio del número de ufc fue estadísticamente similar con las cepas 3, 4 y 2 y que las cepas 5 y 1 fueron diferentes entre sí y con las demás (Tabla 5)

**Tabla 5:** Prueba de significancia de Tukey (0,05) del promedio de unidades formadoras de colonia (ufc/mL) de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) por efecto del extracto líquido de *Musa acuminata* (PLÁTANO) Var. Seda. según cepas.

CEPAS	Ufc/mL.	Grado de significancia
3	4133342	a
4	5933333	a
2	35466667	a
5	128200000	b
1	182275091	c

Letras diferentes: Diferencia significativa. Letras iguales: No hay diferencia significativa.

Estadísticamente se demostró a través de la prueba de Tukey que el promedio de las unidades formadoras de colonia (ufc) de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) expuestos a las diferentes concentraciones del extracto líquido de *Musa acuminata* (PLÁTANO) Var. Seda, (5, 10, 20 y 30% v/v), disminuyó a medida que se incrementó las concentraciones, así a la concentración de 30% v/v se observó un crecimiento de  $2 \times 10^5$  UFC, que significó una mayor inhibición con respecto a las demás concentraciones (tabla 6)

**Tabla 6:** Prueba de significancia de Tukey (0,05) del promedio de ufc de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) según concentración del extracto líquido de *Musa acuminata* (PLÁTANO) Var. Seda.

Concentraciones	Promedio de las ufc	Grado de Significancia
30	200000	a
20	9333333	a B
10	33741767	B
5	139533333	C

Letras diferentes= Diferencias significativas

Así también, por medio de la prueba de Tukey se determinó que las cepas de SARM interactuaron significativamente con las concentraciones del producto a 30% v/v y 20% v/v

**Tabla 7:** Prueba de significancia de Tukey (0,05) para *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) en su interacción con las concentraciones del extracto líquido de *Musa acuminata* (PLÁTANO Var. Seda) y las cepas 1, 2, 3, 4, 5 estudiadas.

Concentración	CEPA	Promedio de las ufc	Grado de Significancia			
30	4	0	a			
30	3	0	a			
30	5	0	a			
10	3	43	a			
30	1	333333	a			
30	2	666667	a			
20	4	233333	a			
20	3	333333	a			
10	4	466667	a			
5	3	633333	a			
5	4	766667	A			
20	1	116666	A			
20	5	136666	A			
20	2	156666	A			
10	2	416666	A	b		
5	2	593333	A	b		
10	5	122333		b	c	
5	5	203000			c	d
10	1	284000				d e
5	1	421333				f

Letras diferentes: Diferencia significativa. Letras iguales: No hay diferencia significativa.

#### 4.2 Evaluación de la toxicidad de *Musa acuminata* (Plátano) var. Seda, sobre *Artemia salina*.

En la tabla 8 se expresan el número de Nauplius muertos por efecto del tratamiento con *Musa acuminata* var. Seda a diferentes concentraciones según repeticiones, así se observa que al 5% v/v en las 3 repeticiones sobrevivieron todas; a la mayor concentración (30% v/v), en la primera y en la última repetición murieron 8, y en la segunda repetición murieron 7. Así mismo la homogeneidad del efecto de cada concentración en las repeticiones I,II y III según la prueba de F(0,05) determinó que no hubo diferencia significativa entre el número de muertos obtenidos en las repeticiones de cada concentración de *Musa acuminata* (Plátano) var. Seda.

**Tabla 8:** Número de Nauplius de *Artemia salina* muertos con extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) a diferentes concentraciones según repetición. Luego de 24 horas de exposición.

	Control agua de mar	C <sub>1</sub> =5%	C <sub>2</sub> =10%	C <sub>3</sub> =20%	C <sub>4</sub> =30%
R <sub>1</sub>	0	0	1	4	8
R <sub>2</sub>	0	0	0	4	7
R <sub>3</sub>	0	0	2	5	8

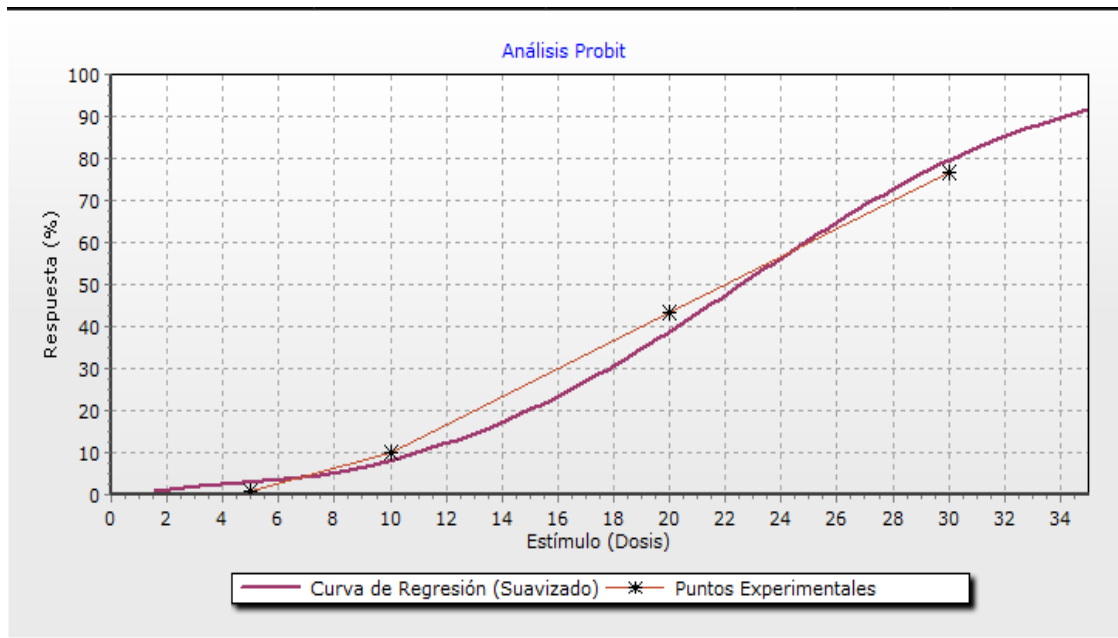
R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> = Repeticiones      C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> = Concentraciones de *Musa acuminata*

En la tabla N 9; muestra la relación entre la LC50 y la concentración de exposición (CE) del extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) var. Seda, para lo cual las tres repeticiones elaboradas formaron una réplica dando como resultado un valor de 22.553 %v/v equivalente a 2.255 mL. (anexo 1), valor considerado según el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (Cyted) como relativamente inocuo (anexo 2).

**Tabla 9:** Relación de LC50/CE estimada para la réplica I y los límites de confianza en la evaluación de la toxicidad del extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) sobre *Artemia salina*.

Replica	LC 50/CE	95% Limite de confianza	
		Inferior	Superior
I	22.5532	20.0237	25.3027

Asimismo en la figura N° 10 que se obtuvo del análisis Probit que muestra la interacción entre el estímulo (dosis) o las concentraciones 5,10, 20, 30 %v/v del extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda frente a *Artemia salina*; así se tiene que al 10%v/v se obtuvo una respuesta de mortalidad del 10% y al 30 %v/v se obtuvo una respuesta de mortalidad cerca del 80 %.



**Figura 10:** curvas de toxicidad mostrando la relación entre los diferentes estímulos (5, 10, 20, 30 %v/v) del extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda frente a la respuesta de mortalidad expresada en porcentaje de *Artemia salina*.

## V. DISCUSIÓN

La presente investigación constituye la primera en el departamento de Lambayeque en estudiar el efecto inhibitorio de *Musa acuminata* (Plátano) var. Seda sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, así mismo evaluar la toxicidad de *Musa acuminata* (Plátano) var. Seda sobre *Artemia salina* “camarón de salmuera”. Los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron que el extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) var. Seda tuvo efecto inhibitorio *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, esto se afirma en base a los hallazgos del estudio fotoquímico de Cueva *et. al.* (2011) que determinó los componentes más característicos, encontrándose proteínas, gomas, mucilagos, saponinas, almidón, resinas, taninos, compuestos reductores, coumarinas, flavonoides, esteroides y triterpenoides, algunos de los cuales tienen importancia desde el punto de vista farmacológico y que influirían en la inhibición de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

Aun así los resultados no son coincidentes con los obtenidos por Mohd *et. al* (2014) esto se explica debido a que el método utilizado es totalmente diferente al utilizado en la presente investigación; así como también el modo de obtención de la savia probados en ambos estudios son diferentes, así en el presente estudio se utilizó savia del pseudotallo de plátano cuyos productos se han mencionado anteriormente, mientras que en el trabajo de Mohd *et al.* (2014) se utilizaron extractos a cetónicos, metanólicos y acuosos de pulpa de diferentes especies de plátano, dichos compuestos pueden sufrir alteraciones durante el tratamiento de su obtención; esto explicaría los diferentes resultados en los que concluyen ambos trabajos.

Así mismo se ha demostrado científicamente en la investigación de Ortiz (2012) que las especies de la familia Musaceae poseen en su savia componentes químicos no alimenticios como los fructosanos, ácido fenólico, antocianinas, terpenoides, esteroides alcaloides aislados como la amina alcaloidea y alcaloides indólicos además la savia de plátano está constituida por agua en un 85%, en el extracto de savia de la hoja se encontró una mezcla de polihidroxifenoles y taninos,

esto explicaría el efecto bactericida que presenta este vegetal hacia diferentes grupos bacterianos tal es el caso de bacterias Gram positivas como el género *Staphylococcus* en especial la especie *Staphylococcus aureus*, el género *Streptococcus* y múltiples hongos.

La savia de *Musa acuminata* de manera particular posee componentes activos como glucósidos que crean un medio hipertónico para la bacteria pero no necesariamente letal para *Staphylococcus aureus* cuya pared celular es muy resistente por la gran cantidad de peptidoglucano; el extracto líquido de *Musa acuminata* posee también taninos que causan astringencia de la célula bacteriana, saponinas, fenoles y flavonoides que desnaturalizan la membrana celular. Los taninos tienen la habilidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos y esteroides. Ahora las saponinas que presenta el extracto líquido de *Musa acuminata*, son glúcidos constituidos por esteroides o triterpenoides (estos últimos son liposolubles), la liposolubilidad es uno de los principales factores que influyen en el paso de las drogas hacia los tejidos. Los taninos se asocian a los esteroides de las saponinas y es así como estos pasan al interior de la bacteria. El efecto combinado de todos ellos causan la inhibición bacteriana, y en mayor grado a un volumen del 20% a más, resultados que son coincidentes con los Sumathy *et al.* (2011) y con los de Gómez *et al.*, (1993), quienes demostraron que el extracto líquido de *Musa acuminata* posee un efecto bactericida contra *Staphylococcus aureus*.

En esta investigación se determinó que el efecto inhibitorio del extracto líquido de *Musa acuminata* es dependiente de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina esto explica porque inhibió mejor a una cepa que a otra; lo cual posiblemente se deba a que cepas de dicha bacteria pueden tener algunas diferencias estructurales relacionadas con la presencia de un glucoconjugado en la pared celular el cual es de espesor variable según la virulencia de la bacteria constituyéndose en una barrera mecánica, así mismo por la membrana citoplásmica y sus proteínas las cuales tienen permeabilidad selectiva al paso de diferentes sustratos lo que influiría en la entrada de los compuestos activos presente en el extracto líquido de *Musa acuminata*. Es importante señalar también

que dicho producto es efectivo también contra otras bacterias patógenas de las vías respiratorias como *Streptococcus pneumoniae* (Bocanegra *et. al.*, 2009), cuyo efecto sería similar a lo ya explicado.

Por otra parte la población folclóricamente hace uso medicinal de algunas plantas sin conocer los efectos adversos que pueden ocasionar, muchas veces estos efectos son daños irreversibles, estos se pueden evitar estudiando la toxicidad o no toxicidad de dichas plantas o sus productos por medio de un procedimiento de tamizaje para evaluar toxicidad general que no requiere de especialización, es el bioensayo con *Artemia salina* que ha demostrado poseer buena correlación con el bioensayo de toxicidad oral en ratones (Juarez, 1996) lo que permite afirmar que ambas investigaciones contribuyen dando confianza de la utilización del ensayo como una prueba alternativa para evaluar toxicidad.

Este estudio evaluó la toxicidad del extracto líquido de *Musa acuminata* “plátano” var. Seda sobre *Artemia salina* registrando una LC50 de 22.5532 % v/v lo que equivale a 2.255 mL., que según la Cytec (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo) lo califica como relativamente inocuo coincidiendo mucho con la investigación realizada por Sumathy *et. al* (2011) para *Artemia salina* de 9,97 mg/ml, así pues en general, los resultados obtenidos en la presente investigación refrendan el uso empírico de la savia de plátano para tratar problemas de salud relacionados con infecciones del tracto respiratorio, incluyendo la tuberculosis (Camacho *et al.*, 2008; Ortiz, 2010), sin el riesgo de que pueda ser tóxico.

Por otro lado *Artemia salina* puede ser aprovechada por la población como nutriente animal, pues es un alimento de primera calidad ya que posee todos los aminoácidos básicos para formar proteínas, además de ácidos grasos y carbohidratos. Como es un organismo que tiene la capacidad de adaptarse a climas tropicales, semitropicales y templados, su explotación se favorece ya que puede cultivarse al aire libre; gracias a su morfología, comportamiento bioquímico, reproducción y ciclo de vida (dura 17 días), se debería incentivar el cultivo del crustáceo en el país, sobre todo en sectores sociales de bajos ingresos y en zonas costeras del país.



## VI. CONCLUSIONES:

- El extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda a las concentraciones de 5, 10, 20, 30% v/v inhibió a *S. aureus* resistente a meticilina, con una completa inhibición al 30% v/v en las cepas 3, 4 y 5; a la misma concentración la inhibición fue menor en las cepas 1 y 2 con un crecimiento final de  $3 \times 10^5$  ufc/mL y  $6 \times 10^5$  ufc/mL respectivamente.
- El efecto inhibitorio *in vitro* del extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano Var. Seda) frente a *S. aureus* resistente a meticilina es dependiente de la cepa y directamente proporcional a la concentración.
- El extracto líquido de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda no es tóxico para *Artemia salina*.

## VII. RECOMENDACIONES

- Ejecutar estudios con diferentes variedades de plátano de la zona y con el fruto a fin de evaluar su eficacia en la inhibición del crecimiento de bacterias causantes de procesos respiratorios
- Evaluar el efecto *in vivo* de la savia de *Musa acuminata* (Plátano) Var. Seda con el objetivo de utilizarla a posteriori en personas con enfermedades respiratorias graves.
- Considerar en la dieta de personas afectadas con procesos respiratorios el consumo de extracto de *Musa acuminata* (plátano) var. Seda.
- Seguir con el estudio de diferentes plantas medicinales con propiedades antibacterianas y a la vez evaluar su toxicidad con la finalidad de ampliar el conocimiento de la Fitoterapia; brindando así una alternativa económica para los diferentes problemas de salud.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Arce, Z. y Asalde, R.(2009). Staphylococcus aureus resistente a meticilina en trabajadores del centro integral de salud de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo- Chiclayo, 5(1), pag. 33 – 35pag.
2. Carmona, E., Sandoval, S. y García, C.(2012). Frecuencia y Susceptibilidad Antibiótica del Staphylococcus aureus proveniente de hisopados nasales en una población urbano marginal de Lima, Perú. *Peru Med, Exp Salud Publica*, 29(2), 206 -11 pag.
3. Alvarado, G., Alcalá, K., Alvarado, P. y Champi, R.(2008) .Riesgo de aparición de cepas Staphylococcus aureus resistente a vancomicina en pacientes hospitalarios de un hospital del Perú. *CIMEL.*, 15(2). 59-62pag.
4. Mamani, E., Luján, D. y Pajuelo, G.(2006). Perfil de sensibilidad y resistencia de Staphylococcus aureus. *Experiencia en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. Anales Fac. Med. UMSM Lima, abr.-jun. 2006*, 67(2), 120 – 124pag.
5. Instituto Nacional de Salud(2007). Boletín INS N° 11 – 12 noviembre – diciembre, p. 209 – 243.ISSN 1606 – 6979.
6. Sosa, J.(2010).Susceptibilidad antibiótica de los agentes bacterianos más frecuentes en un servicio de pediatría. *Rev. cuerpo méd. HNAAA*. 3(1),31-38pag.
7. Mohd, F., Mohamad, S. y Shima, W. (2014). Antibacterial effects of banana pulp extracts based on different extraction methods against selected microorganisms. *Asia journal of biomedical and Pharmaceutical Sciences*; 04(36); pp.14-19. ISSN 2249 – 6228 pag.
8. Bocanegra, V., Camacho, M., Ramirez, M. y Gonzalez, G. (2009). The bioactivity of plant extracts against representative bacterial pathogens of the lower respiratory tract. *BMC Research Notes*, 2(5), 95pag.
9. Camacho, M., Ramírez, M., Santiago, O., Garza, E., Palacios, I. y Luna, J.(2008). Activity against drug resistant- tuberculosis strains of plants used in Mexican traditional medicine to treat tuberculosis and other respiratory diseases. *Phytotherapy Research*, 22(1), 82-85pag.
10. Gomez, P., Terrazas, K., Sánchez, L. y Carvajal, R. (2010). Estudio de las plantas medicamentosas locales en la modificación de la respuesta inmune: efecto inmunomodulador de la savia de Musa spp. Unidad de inmunología, Servicio de laboratorio de Diagnósticos es Salud SELADIS – Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas U.M.S.A – Instituto de Genética - Facultad de Medicina U.M.S.A. La paz – Bolivia.

11. Terrazas, K., Carvajal, R., y Sánchez, L.(1994). Efectos de la *Musa paradisiaca* sobre la actividad funcional de macrófagos peritoneales. *Rev Biofarbo*, 3(3), 27-38pag.
12. Cueva, V., Velásquez, M., Castillo, M., Gutiérrez, L., Coronado, M. y Rodríguez, J. (2011). Efecto de la savia liofilizada de *Musa acuminata* Colla “plátano de seda” sobre la respuesta inmune de *Mus musculus* BALB/c frente a *Escherichia coli* O157: H7. *UCV-SCIENTIA*, 3(1), 42-48pag.
13. Ortiz, M. (2010). Efecto bactericida de la savia de *Musa acuminata* (plátano) utilizada individualmente y en asociación con kanamicina y etionamida contra *Mycobacterium tuberculosis* multidrogorresistente en modelo animal. *Revista IntraMed Journal*, 1 (2) ,7pag.
14. Fernández, F., Rodríguez, R., Torres, M., Oliva, M., Pérez, C. y Gonzáles, M. (1997). Características químico-farmacéuticas y propiedades farmacológicas de extractos de *Musa Sp* ABB (plátano burro). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 2(2), 40-44pag.
15. Sumathy, V., Jothy, S., Zacaria, Z. y Sasidharan, S. (2011). In Vitro Bioactivity and Phytochemical Screening of *Musa Acuminata* Flower. *Pharmacology online revist*, 2(5), 118 – 127Pag.
16. Orellanes, G., Torres, C., Capote, M., Fernández, O., Rodríguez, S., Álvarez, D., y Vega, J.(2003).Ensayo de Toxicidad Aguda Oral de un Fitofármaco Obtenido a Partir del Pseudotallo de *Musa paradisiaca* L. *Acta Farm. Bonaerense*, 22(1), 57-9.pag.
17. Ruppert, E. y Barnes, R. (1996). Zoología de los Invertebrados. (6ta edición). Madrid – España. Mc Graw Hill Interamericana Editores S.A.
18. Mayorga P. (2001).Microbioensayos ecotoxicologicos para el monitoreo ambiental y otras aplicaciones, *La Ingeniería Sanitaria y Ambiental en el Cumplimiento de los Acuerdos de Paz*. Conferencia llevada a cabo en el II Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental Guatemala.
19. Juárez S. (1996). Determinación de la actividad toxica in vitro de plantas de uso Medicinal en Guatemala. Universidad San Carlos de Guatemala .Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
20. Alvitres, V. (2000). Método Científico. Planificación de la Investigación. 2da Edición. Editorial Ciencia. Chiclayo – Perú. 158pp.
21. Madalengoitia, H. 2007. Efecto *in vitro* de la savia de *Musa acuminata* Colla sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Tesis para optar el Grado de Maestro en Ciencias. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo.

22. Romero, R. (2007). Microbiología y parasitología humana: bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. (3era edición). Mexico. Editorial médica panamericana, S.A de C.V.1725(36) p.
23. Difco, (1987). Medios de cultivos deshidratados y reactivos para Microbiología. 10ma edición. Difco laboratorios.46 – 65.pag.
24. Álvarez, F. (2010). Efecto Inhibitorio in vitro de *Allium sativum* L. “Ajo” en solución Hidroalcolica sobre *Staphylococcus aureus* Resistente a Oxacilina y *Escherichia coli* y Evaluación de su toxicidad sobre *Artemia salina* “camarón de salmuera” (Tesis para optar el título de Licenciado en Biología – Microbiología y parasitología). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque.
25. García P., Fernández M. y Paredes F. (1997).Microbiología Clínica Aplicada. Tercera edición Madrid- España. Ediciones Diaz de Santos S.A. 509pp.
26. Zar, J.(1996). Bioestatalical análisis. Englewood Clisf, Tercera edición. Editorial Prentice Hall. Inc. 700pp
27. Suarez, P. (1997). Artemia, Alimento de Peces y Humanos. Universidad del Mar. p 49,50
28. Velásquez A. (2004). Extracción de taninos presentes en el banano verde. Revista LASALLISTA de Investigación. Facultad de Ingenierías de la Corporación Universitaria Lasallista.

## IX. ANEXOS

### Anexo 1:

#### Clasificación de extractos según su toxicidad (Cytel - modificado)

Extremadamente toxico	1 – 10 uL/mL
Altamente toxico	10 - 100 uL/mL
Moderadamente toxico	100 - 500 uL/mL
Ligeramente toxico	500 - 1000 uL/mL
Prácticamente no toxico	1000 – 1500 uL/mL
Relativamente inocuo	> 1500 uL/mL ( 1 ml/L/ mL)

### Anexo 2:

#### Información Taxonómica de *Musa acuminata* var. Seda

**Reino:** Plantae  
**División:** Magnoliophyta  
**Clase:** Liliopsida  
**Orden:** Zingiberales  
**Familia:** Musaceae  
**Género:** Musa  
**Especie:** acuminata

### Anexo 3:

Descripción original de la especie *Musa acuminata*. Memorie della Reale Accademia delle Scienze di Torino, Volumen 25, Número Nulo.

