



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE LA  
CAESALPINIA SPINOSA (TARA) EN DIFERENTES  
CONCENTRACIONES SOBRE EL LACTOBACILLUS  
ACIDOPHILUS. AREQUIPA. 2016.

LESSLY BELÉN JIMÉNEZ SULLASI  
Tesis para optar el Título Profesional de  
Cirujano Dentista

AREQUIPA-PERÚ  
2016

A ti mi SEÑOR, por estar conmigo y ser mi refugio, fortaleza, mi pronto auxilio en las tribulaciones, por sostenerme, ayudarme, demostrarme día a día cuán grande es tu fidelidad y amor. Hacerme saber que solamente me basta con tu gracia para que tu poder se perfeccione en mi debilidad.

A mi papito Luis

Que ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores ,por haberme apoyado en todo momento, por brindarme la confianza, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por toda su entrega y amor.

A mi mamita Reyna

Que ha sido un pilar fundamental e importante en mi formación profesional, por sus consejos, sus valores. Por los ejemplos de perseverancia y constancia que la caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Vanessa Bornaz Arenas por asesorarme a lo largo de mi tesis, por su colaboración, tiempo dedicado por compartir su conocimiento, su paciencia, motivación, buena disposición han sido fundamentales para mi investigación.

Al Dr. Xavier Sacca Urday por su incansable colaboración y el inmenso tiempo dedicado a proporcionarme ayuda en la parte estadística por su paciencia, optimismo y aliento para culminar este trabajo de investigación.

A la Dra. María Luz Nieto Muriel por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así como también por haberme tenido paciencia para guiarme durante todo el desarrollo de mi investigación y durante toda la carrera universitaria.

A la Dra. Marita Gómez Muñoz por su tiempo brindado, por haber inculcado en mí el amor hacia los niños y a la carrera, por su dedicación, paciencia, por compartir su conocimiento e inculcarme a mejorar día a día.

A mis mejores amigas María Fernanda, Yakelin, Mónica, Yeni, Karelía por ser como son y por apoyar todas mis locuras, siempre estuvieron pendientes de mi progreso universitario día con día y me dieron su apoyo cuando lo necesite sin pedirme nada a cambio. Ustedes me acompañaron a lo largo de este proceso estuvieron pendientes de que todas las cosas me salieran bien y de que no tomara una mala decisión, les agradezco la confianza que depositaron en mí para poder estar siempre en las buenas y las malas juntos. Gracias por su amistad, de verdad no pude haber tenido mejores amigas que ustedes.

A todos los doctores que a lo largo de mi carrera, han sido un apoyo constante, nos han compartido de su conocimiento, nos han brindado su apoyo dándonos un poco de ellos en su calidad educativa.

Confía en el SEÑOR de todo corazón, y no en tu propia inteligencia.  
Reconócelo en todos tus caminos, y él allanará tus sendas.  
No seas sabio en tu propia opinión; más bien, teme al SEÑOR y huye del mal.

Proverbios 3:5-7

## ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

### CAPÍTULO I:

INTRODUCCIÓN .....	01
1. TITULO .....	02
2. JUSTIFICACIÓN .....	02
3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	03
4. ÁREA DE CONOCIMIENTO .....	03
5. OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN .....	03

### CAPÍTULO II:

MARCO TEÓRICO .....	04
1. MARCO TEÓRICO .....	05
1.1. Caesalpinia Spinosa.....	05
1.1.1. Identificación de la Especie: .....	05
1.1.2. Etimología .....	05
1.1.3. Morfología .....	06
1.1.4. Distribución geográfica .....	06
1.1.5. Composición química:.....	06
1.1.6 Uso tradicional .....	09
1.1.7 Propiedades Terapéuticas. ....	10
1.1.8 Contraindicaciones, Efectos Adversos y/o Reacciones Adversas .....	10
1.1.9 Actividad Antimicrobiana .....	11
1.1.10 Grupos principales de componentes antimicrobianos de las plantas .....	11
a) Flavonoides.....	12
b) Taninos:.....	13
1.2 Clorhexidina: .....	17

1.2.1	Concepto: .....	17
1.2.2	Historia:.....	18
1.2.3	Propiedades .....	19
	a) Efecto Antibacteriano .....	19
	b) Fundamentación de mecanismo de acción antimicrobiano .....	20
	c) Mecanismo de Acción .....	22
	d) Toxicidad .....	22
	e) Efectos Colaterales.....	23
2.1.4	Dosis .....	23
1.3	Microbiología Oral. ....	23
1.3.1	Bacteriología de los procesos infecciosos del conducto radicular. ....	24
1.3.2	Microbiología de la pulpa necrótica .....	25
1.3.3.	Bacterias frecuente en la pulpa necrótica .....	28
	Lactobacillus acidophilus .....	28
	a) Características microbiológicas .....	28
	b) Morfología.....	29
	c) Metabolismo .....	30
	d) Cultivos:.....	30
	e) Hábitat .....	30
	f) Factores de virulencia.....	31
	g) Poder patógeno .....	31
2.	ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS: .....	32
	Antecedentes Internacionales: .....	32
	Antecedentes Nacionales .....	33
	Antecedentes Locales .....	38
3.	HIPÓTESIS.....	41
CAPÍTULO III:		
	METODOLOGÍA.....	42
1.	ÁMBITO DE ESTUDIO .....	43

2. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN .....	43
2.1 Tipo de estudio .....	43
2.2 Diseño de investigación .....	43
3. UNIDADES DE ESTUDIO .....	44
4. POBLACIÓN Y MUESTRA .....	44
4.1 Tamaño de la muestra .....	44
5. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS: .....	46
5.1 Definición operacional de variables .....	46
5.2 Técnicas e instrumentos de recolección .....	46
6. PRODUCCIÓN Y REGISTRO DE DATOS .....	47
7. TÉCNICAS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	50
8. RECURSOS.....	51
8.1 Humanos: .....	51
8.2 Financieros:.....	51
8.3 Materiales:.....	51
8.4 Institucionales .....	53
CAPÍTULO IV:	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	54
1. Presentación de resultados .....	55
DISCUSIÓN .....	79
CONCLUSIONES.....	82
RECOMENDACIONES .....	83
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	84
ANEXOS .....	92

## RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo evaluar la eficacia de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) en diferentes concentraciones sobre el *Lactobacillus Acidophilus*.

Para tal fin se trabajó con una muestra de *Lactobacillus Acidophilus* de cepas estandarizadas ATCC® 4356, trabajándose con un total de 5 muestras por grupo de estudio.

La *Caesalpinia spinosa* se preparó en tres concentraciones, 40, 60 y 100%, cuyo extracto se elaboró como parte de la investigación. Se conformaron cinco grupos de estudio, los tres primeros con la *Caesalpinia spinosa* en sus diferentes concentraciones, el cuarto fue el Gluconato de Clorhexidina al 2% y el quinto correspondió a la Amoxicilina.

El tipo de investigación fue experimental y el diseño correspondió a un trabajo laboratorial, prospectivo, longitudinal y comparativo. La técnica de investigación fue la observación laboratorial y el instrumento fue una Ficha de Observación Laboratorial.

Los resultados demostraron que la *Caesalpinia spinosa* (Tara) a la concentración del 100% fue la mejor, respecto a las otras estudiadas (40 y 60%), tanto a las 24 como a las 48 horas de su exposición. Así mismo, se ha demostrado que la *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100% es igual de competitiva que el Gluconato de Clorhexidina al 2%, a las 24 y 48 horas; sin embargo es menor frente a la Amoxicilina en estos dos tiempos.

### **Palabras Clave:**

*Caesalpinia spinosa*. *Lactobacillus Acidophilus*. Efecto antibacteriano.

## ABSTRACT

The present research aimed to evaluate the efficacy of *Caesalpinia spinosa* (Tara) in different concentrations in *Lactobacillus Acidophilus*.

For this purpose, a sample of *Lactobacillus Acidophilus* from the standard strains ATCC® 4356 was used, working with a total of 5 samples by the study group.

*Caesalpinia spinosa* was prepared in three concentrations, 40, 60 and 100%, the extract of which was prepared as part of the research. Five study groups were formed, the first three with *Caesalpinia spinosa* in their various concentrations, the fourth was the 2% Chlorhexidine Gluconate and the fifth was Amoxicillin.

The type of research was experimental and the design corresponded to a laboratorial, prospective, longitudinal and comparative work. The technique of research was laboratory observation and the instrument was a Laboratory Observation Sheet.

The results showed that *Caesalpinia spinosa* (Tara) at 100% concentration was the best, compared to the others studied (40 and 60%), both at 24 and 48 hours exposure. It has also been shown that 100% *Caesalpinia spinosa* (Tara) is competitive with 2% Chlorhexidine Gluconate, at 24 and 48 hours; however, it is lower compared to amoxicillin in these two times.

Keywords:

*Caesalpinia spinosa*. *Lactobacillus acidophilus*. Antibacterial effect.

# **CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN**

## 1. TITULO

Efecto antibacteriano in vitro de la *Caesalpinia spinosa* (tara) en diferentes concentraciones sobre el *Lactobacillus acidophilus*. Arequipa. 2016.

## 2. JUSTIFICACIÓN

La Tara, también conocida como «Taya»; su nombre científico *Caesalpinia spinosa* o *Caesalpinia Tinctoria*, es una planta originaria del Perú utilizada desde la época prehispánica en la medicina folklórica o popular y en años recientes, como materia prima en el mercado mundial de hidrocoloides alimenticios. Industrialmente se integra como parte de los medicamentos gastroenterológicos, para curar úlceras por su poder cicatrizante; además, cuenta con efectos astringentes, antiinflamatorios, antisépticos, antidiarreicos, antimicóticos, antibacterianos, antiescorbúticos, odontálgicos y antidisentéricos.

En odontología se han realizado diversos estudios “in vitro” en los cuales se ha demostrado su actividad antimicrobiana en diferentes microorganismos entre los cuales tenemos: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, el *Porphyromonas gingivalis* entre otros. La relevancia científica de este estudio es seguir ampliando los conocimientos sobre la respuesta antimicrobiana de la *Caesalpinia Spinosa* sobre el *Lactobacillus acidophilus* ya que de acuerdo a estudios realizados esta bacteria se ha encontrado tanto en conductos como en cámara pulpar de las piezas deciduas hasta en un 28%.

Dicho aporte permitirá utilizar la *Caesalpinia Spinosa* como una alternativa natural a los medicamentos existentes utilizados a nivel intracanal esto lógicamente pensando en el beneficio del paciente más aun tratándose del paciente pediátrico ya que de acuerdo a estudios realizados la *Caesalpinia spinosa* es una sustancia no toxica. Además de su efecto antibacteriano la *Caesalpinia spinosa* posee propiedades astringentes, cicatrizantes y

antinflamatorias de los tejidos periradiculares lo cual podría prever la obtención de mejores resultados.

### **3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

¿Tendrá efecto antibacteriano la Caesalpinia spinosa sobre el Lactobacillus acidophilus?

### **4. ÁREA DE CONOCIMIENTO**

- A. Área : Ciencias de la Salud
- B. Campo : Odontología.
- C. Especialidad : Odontopediatría y Microbiología
- D. Línea : Efecto antibacteriano de la Caesalpinia spinosa
- E. Tópico : Lactobacillus acidophilus

### **5. OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN**

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la Caesalpinia spinosa (tara) al 40% sobre el Lactobacillus acidophilus.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la Caesalpinia spinosa (tara) al 60% sobre el Lactobacillus acidophilus.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la Caesalpinia spinosa (tara) al 100% sobre el Lactobacillus acidophilus.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro Gluconato de Clorhexidina y Amoxicilina sobre el Lactobacillus acidophilus.
- Comparar el efecto antibacteriano de la Caesalpinia spinosa al 40%, 60% y 100% sobre el Lactobacillus acidophilus y con el Gluconato de Clorhexidina y Amoxicilina.

# **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. *Caesalpinia Spinosa*

#### 1.1.1. Identificación de la Especie:

**Nombre Científico:** *Caesalpinia spinosa* <sup>1</sup>

**Familia:** Caesalpinaceae (Leguminosae: Caesalpinoideae). <sup>1</sup>

**Géneros:** Bauhinia, Brownea, *Caesalpinia*, Cassia, Ceratonia, Delonix, Gleditsia, Gymnocladus, Haematoxylum, Hymenaea, Parkinsonia, Peltophorum, Schizolobium, Schotia y Tamarindus. <sup>1</sup>

**Sinónimos:** *Caesalpinia tinctoria* (H. B. K) Bentham ex Reiche, *Poinciana spinosa* Molina, *Caesalpinia pectinata* Cavanilles, *Coulteria tinctoria* HBK, *Tara spinosa* (Molina) Britt & Rose, *Caesalpinia stipulata* (Sandwith) J.F. <sup>1</sup>

**Nombre Común:** "Tara", "taya" (Perú); "divi de tierra fría", "guarango", "cuica", "serrano", "tara" (Colombia); "vinillo", "guarango" (Ecuador); "tara" (Bolivia, Chile, Venezuela), "Acacia amarilla", "Dividivi de los Andes" (Europa). <sup>1</sup>

**Lugar de origen:** Perú. <sup>1</sup>

#### 1.1.2. Etimología

El nombre científico proviene de los vocablos: *Caesalpinia*, en honor de Andrea Caesalpini (1524-1603), botánico y filósofo italiano. *Spinosa*, del latín con espinas. <sup>2</sup>

Los Incas la conocían con el nombre de Taya, esto en el norte y en el sur con el nombre de Tara, el mismo que proviene del aymara cuyo vocablo viene de la descripción de la semilla que

significa achatada o aplastada refiriéndose a la forma de la semilla.<sup>2</sup>

### **1.1.3. Morfología**

Este árbol puede alcanzar hasta 5 metros de alto, su tronco posee una corteza leñosa de color marrón claro o gris oscuro tiene ramas de formas retorcidas y con espinas pequeñas de aprox.4 mm. de largo, con hojas que miden entre 8 y 12cm de largo, son compuestas, alternas y están dispuestas en forma de espiral, con 6 a 8 pares de folíolos opuestos. Las flores son de color amarillo rojizo dispuestas en racimos de 8 a 20cm. de largo. Sus frutos son en forma de vainas encorvadas que miden aprox.10 cm. de largo por 3 cm. de ancho, y poseen un color naranja rojizo cuando están maduros. Contienen de 4 a 7 semillas ovoides, ligeramente aplanadas, de color pardo oscuro o negruzco cuando están maduras.<sup>3</sup>

### **1.1.4. Distribución geográfica**

El Perú es el mayor productor de tara en el mundo, con el 80% de la producción mundial. La producción es básicamente de bosques naturales y, en algunas zonas, de parcelas agroforestales. En este sentido Perú es el país de los Andes que tiene mayor área con bosques de tara, seguido muy de lejos por Bolivia, Chile, Ecuador y Colombia. Crece entre los 1000 y los 3500 metros sobre el nivel del mar. <sup>4</sup>

### **1.1.5. Composición química:**

La Tara pertenece a la familia pirogálica y más exactamente al grupo Caesalpinia Spinosa. En su estado bruto, contiene entre 35 y 55 % de tanino. Después de extracción, este porcentaje puede alcanzar los 72 – 75 %, este porcentaje puede variar dependiendo de la zona geográfica en que se cultive. <sup>5</sup>

- **Vainas:** Contiene taninos hidrolizables (galotaninos) en un rango de 40 % a 60 % según las condiciones ecológicas en las que vegeta, la hidrólisis de estos taninos conduce a la separación del ácido gálico; asimismo se han aislado galato de etilo y cuatro galatos del ácido químico correspondiendo a los ésteres metílicos de 4,5-di-O-galoilquínico y de 3,4,5-tri-O-galoilquínico, y a los ácidos 3,4-di-O- galoilquínico y 3,4,5-tri-O-galoilquínico.<sup>6</sup>
- **Semillas:** aceites volátiles, ácidos grasos (lípidos 5,68%), antocianinas esteroides, triterpenoides, flavonoides, resinas, taninos (0,22%), antracenos, hidratos de carbono (fructosa, glucosa, sacarosa, por cromatograma), proteínas (17,86%), vitaminas además iones y minerales (calcio 80mg, magnesio 292mg, hierro 20mg, fósforo 270mg, Oidio, potasio, cloruros, nitratos, sulfatos).<sup>5</sup>
- **Hojas:** glicósidos, gomas, mucílagos, taninos (12.7% en la forma de taninos gálicos), antraquinonas (libres en mayor cantidad que combinadas al estado glicosídico): reína, sennósido, agliconas libres, C-glicósidos, -aloe-emodina e iso-emodina, esteroides y flavonoides.<sup>7</sup>

a) Análisis químico en los frutos (vainas y semillas):<sup>1</sup>

<b>HUMEDAD</b>	<b>11,70%</b>
<b>PROTEÍNAS</b>	<b>7,17%</b>
<b>CENIZAS</b>	<b>6,24%</b>
<b>FIBRA BRUTA</b>	<b>5,30%</b>
<b>EXTRACTO ETÉREO</b>	<b>2,01%</b>
<b>CARBOHIDRATOS</b>	<b>67,58%</b>
<b>TANINOS (vainas)</b>	<b>62%</b>

b) Análisis químico de la semilla: <sup>1</sup>

<b>HUMEDAD</b>	<b>12,01%</b>
<b>PROTEÍNAS</b>	19,62%
<b>CENIZAS</b>	3,00%
<b>FIBRA BRUTA</b>	4,00%
<b>EXTRACTO ETÉREO</b>	5,20%
<b>CARBOHIDRATOS</b>	56,17%

c) Análisis químico de las gomas o hidrocoloides: <sup>1</sup>

<b>HUMEDAD</b>	<b>13,76%</b>
<b>PROTEÍNAS</b>	2,50%
<b>CENIZAS</b>	0,53%
<b>FIBRA BRUTA</b>	0,86%
<b>EXTRACTO ETÉREO</b>	0,48%
<b>CARBOHIDRATOS</b>	81,87%
<b>AZÚCARES</b>	83,2%
<b>TOTALES</b>	

d) Análisis químico del germen: <sup>1</sup>

<b>HUMEDAD</b>	<b>11,91%</b>
<b>PROTEÍNAS</b>	40,22%
<b>CENIZAS</b>	8,25%
<b>FIBRA BRUTA</b>	1,05%
<b>EXTRACTO ETÉREO</b>	12,91%
<b>CARBOHIDRATOS</b>	25,66%

e) Análisis químico de la cáscara: <sup>1</sup>

<b>HUMEDAD</b>	<b>10,44%</b>
<b>PROTEÍNAS</b>	1,98%
<b>CENIZAS</b>	3,05%
<b>FIBRA BRUTA</b>	1,05%
<b>EXTRACTO ETÉREO</b>	0,97%
<b>CARBOHIDRATOS</b>	83,56%

### 1.1.6 Uso tradicional

#### **Usos Medicinales: prescripción o dosis**

La tara tiene diversos usos tradicionales, la infusión de las vainas maduras se utiliza para la amigdalitis en forma de gárgaras, la infusión de las hojas se utiliza para la estomatitis, la cocción de las ramas tiernas se usa como abortivo, igualmente se prepara una bebida que se toma como depurativo del colesterol, el cocimiento de las vainas se usan para secar las llagas de las piernas. En general es también muy utilizada para el tratamiento de infecciones vaginales y micóticas, para el lavado de ojos inflamados, para el dolor de estómago y diarreas, para el reumatismo y resfriado, para curar úlceras, como cicatrizante, entre otros. En alimentación, originan el característico sabor astringente a los vinos tintos (de cuyo bouquet son en parte responsables), al té, al café, debemos mencionar que la astringencia se explica al acomplejarse los taninos con macromoléculas y provocar la precipitación de las glicoproteínas ricas en prolina que contiene la saliva. En la cosmética se utiliza para la evitar la caída del cabello, para su tintura y para la elaboración

de champús y bronceadores; también se usa como biocida contra piojos y otros insectos.<sup>8</sup>

A pesar del uso tan amplio no se encuentra literatura científica que avale estos usos tradicionales. Igualmente las recetas son solamente "recetas caseras".<sup>8</sup>

#### **1.1.7 Propiedades Terapéuticas.**<sup>9</sup>

- Cicatrizante (por sus efectos astringentes)
- Antiinflamatorio
- Antiséptico
- Antidiarreico
- Antimicótico
- Antibacteriano
- Antiescorbútico
- Odontálgico
- Hemostático
- Anti disentérico (siendo más utilizados aquellos que producen constricción y sequedad)"

En medicina se prescriben como astringentes. La propiedad de coagular las albúminas de las mucosas y de los tejidos crean una capa aislante y protectora que reduce la irritación y el dolor.<sup>9</sup>

Externamente los preparados a base de drogas ricas en taninos, como las decocciones, se emplean para detener pequeñas hemorragias locales; en inflamaciones de la cavidad bucal."<sup>9</sup>

#### **1.1.8 Contraindicaciones, Efectos Adversos y/o Reacciones Adversas**

No se encuentra literatura al respecto.

### **1.1.9 Actividad Antimicrobiana**

Los metabolitos encontrados en la *Caesalpinia Spinosa* fueron taninos, flavonoides, dichos compuestos son conocidos por ejercer acción antimicrobiana.<sup>8</sup>

### **1.1.10 Grupos principales de componentes antimicrobianos de las plantas**

Las plantas tienen una casi ilimitada habilidad de sintetizar sustancias aromáticas, gran cantidad de ellas son fenoles o sus derivados de oxígenos sustituidos. Muchos son metabolitos secundarios de los cuales por lo menos 12000 han sido aislados, un número estimado menor en un 10% del total.<sup>10</sup>

En numerosos casos estas sustancias sirven como mecanismos de defensa de las plantas contra la predación por microorganismos, insectos y herbívoros. Algunos, tales como los flavonoides son sintetizados por las plantas en respuesta a la infección antimicrobiana, los terpenoides, dan a las plantas sus olores; otros (quinonas y taninos) son responsables del pigmento de las plantas. Muchos componentes son asimismo responsables del sabor de las plantas (el terpenoide capsaicina en caso del ají), y algunas de las hierbas y especies usados por los humanos para sazonar los alimentos producen compuestos medicinales útiles.<sup>10</sup>

En investigaciones realizadas se encontró que los taninos y flavonoides son metabolitos, encontrados en el estudio fitoquímico del extracto de *Tara* que se encuentran en diferentes partes de la planta. Estos son solubles en agua, etanol, acetona y otros disolventes orgánicos. Tienen

acción farmacológica como antihemorrágico local, antidiarréico, antihepatóxica y antibacteriano. <sup>11</sup>

### **a) Flavonoides**

Son estructuras fenólicas que contienen un solo grupo carbonilo. Estos compuestos son sintetizados por las plantas en respuesta a la infección antimicrobiana, y su actividad sobre las bacterias probablemente se deba a su capacidad de generar complejos con proteínas extracelulares y proteínas solubles, así como una actividad sobre la pared celular muy similar a la de las quinonas. Los flavonoides lipofílicos pueden perturbar la integridad estructural de la membrana celular. <sup>12</sup>

Las catequinas derivados de los flavonoides, han sido estudiadas como los compuestos que generan la actividad antimicrobiana in vitro en el té verde, sobre *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans* y *Shigella*, principalmente.<sup>12</sup>

La mayor inhibición en el desarrollo bacteriano la presentaron las flavonoides. Asimismo, aquellas flavonoides con mayor número de grupos hidroxilos, provocaron mayor inhibición en la duplicación bacteriana, especialmente las que poseen además la presencia de un grupo metoxilo, que aumenta la lipofilia del compuesto.<sup>12</sup>

- **Actividad terapéutica**

Las diferentes especies que contienen flavonoides poseen acciones farmacológicas muy variadas. <sup>13</sup>

- a. Acción vitamina C (factor antiescorbuto)
- b. Antihemorrágicos
- c. Antirrítmicos
- d. Protectores de la pared vascular o capilar
- e. Antiinflamatorios
- f. Antirradicales libres
- g. Antihepatóxicos
- h. Antibacterianos, antivíricos y antifúngicos
- i. Diuréticos y antiurémicos
- j. Antiespasmódicos

**b) Taninos:**

Los taninos tienen un ligero olor característico, sabor amargo y astringente, y su color va desde el amarillo hasta el castaño oscuro. Los taninos se utilizan en el curtido porque reaccionan con las proteínas de colágeno presentes en las pieles de los animales, uniéndolas entre sí, de esta forma aumenta la resistencia de la piel al calor, a la putrefacción por agua, y al ataque por microbios. Los taninos son metabolitos secundarios de las plantas, son sustancias fenólicas, no nitrogenadas, solubles en agua y no en alcohol ni solventes orgánicos.<sup>14</sup>

Se ha considerado que los taninos, en muchas bebidas como el té verde y el vino, tienen actividades reforzadoras de la salud (estimulación de la actividad fagocitaria, actividad antitumoral mediada por el hospedero y un amplio rango de actividad antiinfecciosa). En las plantas, los taninos tienen una acción inhibitoria del crecimiento de insectos y perturban la digestión de rumiantes. Se cree que la actividad antimicrobiana de estos compuestos se debe

a su interacción sobre las adhesinas, proteínas de la pared celular, y a su capacidad de unirse a polisacáridos .<sup>14</sup>

- **Propiedades Fisicoquímicas<sup>15</sup>**

- Poseen acción astringente, su carácter más notable.
- Forma soluciones coloidales, pero su solubilidad varía según el grado de polimerización; son soluble en los alcoholes y acetonas.
- Precipitan la gelatina de su solución y forma compuestos insolubles con ciertos tejidos animales. Esta reacción se aprovecha para curtir piel y convertirla en cuero.
- Todos dan un color azul oscuro o verde oscuro a la soluciones de sales férricas, hecho que se utiliza en la fabricación de tinta.
- En soluciones alcalinas absorben fácilmente oxígeno y se oscurecen en color.

- **Actividad terapéutica**

Las acciones farmacológicas de los taninos están relacionadas con sus principales propiedades. Sus principales son: <sup>13</sup>

- Antídotos en intoxicaciones por metales pesados y alcaloides.
- Astringentes, debido a su capacidad para precipitar proteínas de la piel (curtido de la piel), proteínas

salivares, etc. Por su capacidad astringente se usa por vía externa como cicatrizante y por vía interna antidiarréicos.

- Antisépticos, tienen una acción bactericida y bacteriostática. También ejercen un efecto antifúngico.
- Protectores, los taninos aplicados en forma de pomada de uso externo impermeabilizan la piel y la protegen de los agentes externos.
- Antioxidante, son capaces de captar radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica. Inhiben la autooxidación del ácido ascórbico (Vitamina C) <sup>13</sup>

- **Extracción**

La extracción de los taninos generalmente se realiza con solventes como alcohol y agua (taninos hidrolizables) o con mezclas acetona - agua para evitar la metanólisis de los depósitos (taninos condensados). <sup>16</sup>

- **Uso de los taninos**

Los taninos precipitan a las proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a las enzimas proteolíticas. Aplicada a los tejidos vivos, esta acción se conoce como acción astringente y constituye la base para la acción terapéutica. Además sus propiedades precipitantes, las soluciones de taninos se emplean en el laboratorio, como reactivos para la determinación de gelatinas, proteínas y alcaloides. <sup>16</sup>

- **Clasificación:**

En los vegetales superiores se distinguen, generalmente, dos grupos diferentes de taninos tanto por su estructura como por su origen biogenética: taninos hidrolizables y taninos condensados<sup>13</sup>.

- **Taninos hidrolizables o pirogálicos o hidrosolubles:**

Son oligo-o poliésteres de un azúcar (en general glucosa o de un poliol relacionado) y de un número variable de moléculas de ácido fenol (ácido gálico o su dímero, el ácido elágico). Los taninos hidrolizables son característicos de dicotiledoneas. Cuando se destilan en seco producen pirogalol. Al tratar los taninos hidrolizables con cloruro férrico (FeCl<sub>3</sub>) aparece una coloración azul.<sup>13</sup>

Se hidrolizan con facilidad por la acción de los ácidos, bases o enzimas, en un azúcar, un polialcohol y un ácido fenolcarboxílico. Dependiendo del tipo de ácido que produce por la reacción se subdividen en: galotaninos (ácido gálico) y elagitaninos (ácido elágico o dilactona estable del ácido hexahidroxidifénico). Los núcleos bencénicos están unidos por medio de átomos de oxígeno.<sup>13</sup>

Como ejemplos de taninos hidrolizables, del subgrupo de galotaninos podemos mencionar al que se obtiene de los frutos de *C.spinosa*. Este tanino es fácilmente hidrolizable por la acción de la enzima tanasa. Esto permitió asignar la estructura de un

éster poligaloílo del ácido quínico a dicho tanino, con un peso molecular aproximado de 80034. <sup>13</sup>

#### - **Taninos Condensados o no hidrosolubles**

Los taninos condensados son dímeros o polímeros flavánicos con uniones carbono-carbono entre las diferentes unidades de flavan-3-ol. Se forman por polimerización de catequinas y leucoantocianos. Además de encontrarse en dicotiledóneas se producen en helechos y Gimnospermas. Son muy resistentes a la hidrólisis. Solo resultan afectados por hidrólisis ácida o enzimática y se convierten en antocianidinas, los cuales pueden polimerizar para formar los flobáfenos insolubles. Por este motivo, reciben también el nombre de taninos catequices. Al tratar los taninos condensados se encuentran en tres formas principales: extractables (reactivos con proteína), ligados a proteína, y ligados a fibra. Existen leguminosas donde todos los taninos son extractables (Acacia boliviana) y en otras donde todos son ligados (Gliricidia sepium).<sup>13</sup>

## **1.2 Clorhexidina:**

Es el antiséptico más usado, estudiado y eficiente hasta ahora para inhibir la placa y prevenir la gingivitis. <sup>17</sup>

### **1.2.1 Concepto:**

Es una bisbiguanida catiónica con acción antimicrobiana, con un pH entre 5,5 a 7,0, tiene molécula simétrica compuesta por dos anillos clorofenólicos y dos grupos de bisguanida, conectados por un puente central de hexametileno. Este compuesto es una base fuerte y dicatiónica, con dos cargas positivas en cada extremo del puente de

hexametileno. La naturaleza dicatiónica de la clorhexidina la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo cual es relevante para su eficacia, seguridad, y efectos secundarios locales. Está disponible en tres formas, sales de digluconato, acetato y clorhidrato. La mayor parte de productos utilizan sal de digluconato por ser hidrosolubles.<sup>17</sup>

### **1.2.2 Historia:**

Este producto fue desarrollado en la década de 1940 en Inglaterra y es comercializado desde 1954 primero como antiséptico cutáneo y luego es utilizado más ampliamente en medicina y en cirugía. El uso odontológico fue primero para la desinfección pre quirúrgica de la cavidad bucal y en endodoncia. La inhibición de la placa por clorhexidina fue primero investigado por Schroeder en 1969, pero el estudio definitivo fue hecho por Løe y Schiott en 1970. Esta investigación demostró que el enjuague durante 60 segundos dos veces al día con 10 ml de solución de gluconato de clorhexidina al 0.2% (dosis de 20mg en 100ml) en ausencia de higiene dental normal inhibe el nuevo crecimiento de placa y el desarrollo de la gingivitis. Posterior a esto se hicieron numerosos estudios pasando a ser este compuesto uno de los más investigados en odontología.<sup>17</sup>

La clorhexidina pertenece a la segunda generación de inhibidores de placa convencionales, existiendo ya los de tercera generación que serían los amino alcoholes los que no tienen acción bactericida sino más bien impiden la formación de la biopelícula.<sup>18</sup>

La clorhexidina ha sido utilizada desde la década de 1950 a diferentes concentraciones como antiséptico oral en forma de enjuague, irrigante subgingival y en terapias de prevención de

caries. Es posible encontrarla en forma digluconato, gluconato o acetato de clorhexidina, sin que parezcan existir diferencias en cuanto al mecanismo de acción en estas diferentes formas químicas, aunque sí se han encontrado en cuanto a su concentración.<sup>19</sup>

Sin embargo los colutorios con clorhexidina no afecta a los microorganismos dentro de las bolsas periodontales, su efecto es principalmente supragingival, sobre todo si las bolsas periodontales tienen una profundidad de 6mm o mayores.<sup>20</sup>

### 1.2.3 Propiedades <sup>19</sup>

- La potencia antimicrobiana,
- Baja toxicidad
- Biocompatibilidad,
- Acción sobre los lipopolisacáridos (LPS)

Todas estas propiedades han permitido establecer a la clorhexidina como una sustancia irrigante opcional o complementaria, recalando sin embargo su incapacidad para disolver el tejido lo que le permite ser usado como irrigante en tejido sano y vital. Muchos estudios reportan la menor toxicidad de la clorhexidina respecto al hipoclorito de sodio, su potente efecto antimicrobiano, biocompatibilidad.<sup>19</sup>

#### a) Efecto Antibacteriano

Como colutorio la clorhexidina es utilizada al 0,05%, 0,12% o 2% en nuestro medio; siendo una de sus ventajas el amplio espectro antimicrobiano que posee, ya que actúa sobre bacterias Gram<sup>-</sup> y Gram<sup>+</sup>. Es activa sobre esporas bacterianas, virus lipofílicos, hongos como *Candida albicans* y, se ha citado que es bacteriostática a bajas

concentraciones en tanto que es bactericida a altas concentraciones.<sup>20</sup>

Se ha reportado su mejor efecto antimicrobiano sobre ciertas especies anaerobias, al compararse con el NaOCl.<sup>21</sup>

Debido a que la clorhexidina no disuelve el tejido orgánico es necesario complementarla con otros irrigantes o vibración ultrasónica si el efecto deseado será sobre superficies duras (Hueso, cemento o dentina). En un “estudio comparativo” con hipoclorito y solución salina; el efecto de limpieza dado por la clorhexidina no fue diferente de manera estadísticamente significativa al efecto de dicha solución salina.<sup>22</sup>

Posee amplia acción antimicrobiana que cubre bacterias granpositivas y grannegativas. También eficaz contra algunos hongos y levaduras incluyendo cándida y algunos virus como HBV y HIV.<sup>17</sup>

#### **b) Fundamentación de mecanismo de acción antimicrobiano**

Se pueden fundamentar en tres mecanismos:

- **Adsorción.** La clorhexidina tiene la capacidad de adsorción hacia la dentina y el cemento, gracias a su habilidad para unirse de manera reversible con la hidroxiapatita, así mismo debido a la naturaleza catiónica (carga positiva) de la clorhexidina, ésta se une rápidamente a la pared celular, que está cargada negativamente, especialmente a grupos fosfato de los LPS y a los grupos carboxilo de las proteínas. La cantidad absorbida, depende de la concentración

utilizada, por lo que a mayor concentración, mayor acción sobre los microorganismos.<sup>23</sup>

- **Sustantividad:** Capacidad para liberar gradualmente los niveles terapéuticos, mediante la capacidad de adsorción que le permite ejercer propiedades antibacteriales a largo plazo, la liberación continúa por un período de 48 a 72 horas posterior. Debido a la sustentividad, es que se le viene usando endodoncia en donde los conductos quedan menos susceptibles a la reinfección.<sup>23</sup>
- **Baja Tensión Superficial:** Puede penetrar en conductos accesorios y túbulos dentinales hasta una profundidad de 1 mm, sobre todo si es aplicada luego del EDTA, no resulta ser cáustica y es relativamente inocua, de fácil almacenamiento y manipulación.<sup>23</sup>
- **La clorhexidina es una base,** capaz de formar sales con un número de ácidos orgánicos. Sin embargo, al irrigar con clorhexidina inmediatamente luego de haber hecho un enjuague con agua de caño la misma que contiene cloro, producirá la formación de un precipitado (cloruro de clorhexidina), produciendo una pigmentación marrón indeseable de las paredes de las piezas dentarias expuestas al enjuague. Sin embargo la combinación de clorhexidina con acetato de zinc hace que se reduzca la posible tinción producida por esta. Los iones de zinc reaccionan con la clorhexidina y se forma sulfato de zinc que es blanco y disimula la tinción.<sup>23</sup>

### c) Mecanismo de Acción

Este antiséptico se liga fuertemente a la membrana plasmática bacteriana en baja concentración, lo que da por resultado un aumento de la permeabilidad con pérdida de componentes intracelulares, incluido el potasio. En alta concentración produce precipitación del citoplasma bacteriano y muerte de esas células. En boca se absorbe rápidamente en las superficies muestra una acción bacteriostática que dura más de 12 horas.<sup>17</sup>

- **Daño a nivel de la pared y membrana celular:**

Mediante uniones electrostáticas con sitios bacterianos cargados negativamente, la clorhexidina altera la presión osmótica, movilidad electroforética y el intercambio iónico, originando trastornos metabólicos y/o muerte bacteriana.<sup>24</sup>

- **Precipitación proteica en el citoplasma bacteriano.**

La sustancia después de actuar sobre los componentes de la membrana bacteriana puede ocasionar disociación de los componentes intracelulares, logrando una precipitación e inactivando sus procesos reproductivos y vitales.<sup>24</sup>

### d) Toxicidad

La naturaleza catiónica de la clorhexidina minimiza su absorción a través de la piel y la mucosa, incluso la del tubo digestivo, por lo tanto no existen informes de sobre toxicidad sistémica por aplicación tópica o ingesta ni evidencias teratogenia en modelos animales.<sup>24</sup>

### **e) Efectos Colaterales**

Existen informes sobre efectos colaterales locales como son:<sup>24</sup>

- Coloración parda de los dientes, algunos materiales de restauración y del dorso de la lengua
- Perturbación del gusto
- Erosión de la mucosa bucal
- Tumefacción unilateral o bilateral de la parótida
- Aumento de la formación de cálculos (sarro) supragingival debido a la precipitación de proteínas de la saliva

#### **2.1.4 Dosis**

La solución utilizada más común es al 0.2%, 100 ml (20mg) y con altos volúmenes de soluciones con baja concentración. Pero cabe resaltar que con dosis bajas como son de 1-5mg dos veces al día se obtienen efectos inhibitorios de la placa nada despreciables. En nuestro medio encontramos al 0.12%, 100 ml (12mg) y al 0.05%, 100 ml (5mg).<sup>24</sup>

### **1.3 Microbiología Oral.**

La cavidad oral es una de las zonas anatómicas de nuestro organismo con mayor número y variedad de bacterias aerobias y anaerobias. Estos microorganismos interactúan tanto entre sí como con el medio oral estableciendo un complejo ecosistema dinámico donde se pueden encontrar de forma simultánea bacterias resistentes y transeúntes ocasionales.<sup>25</sup>

La citada situación se refleja de forma peculiar en cada nicho ecológico (lengua, encía, surco gingival, etc.), en el que podemos apreciar especies bacterianas en proporciones diferentes. Así por ejemplo, en el dorso de la lengua, asociada con otras bacterias grampositivas anaerobias facultativas, predomina la especie *Streptococcus salivarius*, y en el surco gingival predominan *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus oralis*.<sup>26</sup>

El equilibrio de este ecosistema se puede ver perturbado por factores que modifiquen el medio, y provoca que algunas especies predominen sobre otras en un hábitat determinado.<sup>26</sup>

### **1.3.1 Bacteriología de los procesos infecciosos del conducto radicular.**

La pulpa dental es un tejido conjuntivo que se encuentra en el interior de una cámara de dentina y se relaciona con el área periapical a través del agujero apical. La porción coronal del diente está recubierta de esmalte y por la porción radicular, de cemento. La integridad del esmalte y de la dentina protege la pulpa y constituye una barrera física que, no obstante, al estar encerrada en su interior, le impide la distensibilidad. Por otra parte a través del agujero apical, la pulpa presenta una limitada comunicación vascular y nervios con el resto del organismo. Estos dos hechos, junto con la ausencia de una circulación colateral eficaz, determinan una importante dificultad para la reparación de los distintos cuadros inflamatorios que tienen lugar en la pulpa.<sup>26</sup>

Por tanto cuando la pulpa se expone a la microbiota bucal a través de una cavidad, el tejido pulpar se ve expuesto a concentraciones mayores de productos microbianos. En esta situación, el tejido pulpar no consigue impedir la infiltración

y la diseminación de los microorganismos o de sus productos y comienzan a desintegrarse porciones de la pulpa. La necrosis es inevitable y se crean condiciones favorables para una infección pulpar masiva.<sup>27</sup>

La mayor parte de las necrosis pulpares obedecen a infecciones polimicrobianas y mixtas que incluyen aerobios estrictos, anaerobios facultativos o microaerofilos como microorganismos concomitantes. Estos últimos, y los aerobios estrictos, disminuyen la tensión de oxígeno y el potencial de óxido reducción en los tejidos.<sup>28</sup>

De este modo, proporcionan las condiciones favorables para que se desarrollen las bacterias estrictamente anaerobias.<sup>28</sup>

### **1.3.2 Microbiología de la pulpa necrótica**

Cuando la pulpa se expone a la microbiota bucal a través de una cavidad, el tejido pulpar se ve expuesto a concentraciones mayores de productos microbianos. En esta situación, el tejido pulpar no consigue impedir la infiltración y la diseminación de los microorganismos o de sus productos y comienzan a desintegrarse porciones de la pulpa. La necrosis es inevitable y se crean condiciones favorables para una infección pulpar masiva.<sup>27</sup>

Una vez que el tejido pulpar pierde su vitalidad se queda sin células de defensa para contrarrestar el crecimiento y la diseminación de los microorganismos, estableciéndose una nueva línea defensiva a nivel periapical, en donde se puede disponer de un aporte adecuado de células defensivas para confinar la infección a los conductos radiculares.<sup>29</sup>

Sousa y colaboradores (2003) catalogaron mediante cultivo e identificación bioquímica las principales especies encontradas en 30 dientes con abscesos periapicales. Anaerobios estrictos estaban presentes en el 80% de los conductos y el 76.6% de anaerobios facultativos.<sup>62</sup>

Curiosamente, se aislaron bacterias Gram negativas en el 56.6% y bacterias Gram positivas en el 96.6%. Las bacterias pigmentadas de negro se encontraron en el 26.7% de los casos. En un total de 117 aislados cultivables, las especies de anaerobios estrictos más frecuentemente aisladas fueron: *Peptoestreptococcus prevotii*, *Peptoestreptococcus micros* (actualmente, *Micromonas micros*) y *Fusobacterium necrophorum*. *Gernella morbillorum* fue la especie de bacteria anaerobia facultativa predominante (en el 30% de los casos), seguida por *Streptococcus mitis* (en el 20%,).<sup>30</sup>

Estudios realizados reportan que en los conductos radiculares de dientes primarios con lesiones pulpares y periapicales existe una infección polimicrobiana con predominancia de microorganismos anaerobios, similar a los de la microbiota de dientes permanentes.<sup>31</sup>

A continuación se presenta las principales especies bacterianas aisladas en los conductos infectados. Tabla 1.

Tabla 1.- Bacterias aisladas frecuentemente en la pulpa necrótica<sup>26</sup>

	<b>Género</b>	<b>Especies</b>
<b>Bacterias anaerobias facultativas</b>		
Cocos grampositivos	Streptococcus	S.mitis, S.anginosus, S.intermedius
	Enterococcus	E. faecalis, E. faecium
	Staphylococcus	S. aureus, S. epidermidis,
Bacilos gramnegativos	Campylobacter	C. rectus
	Eikenella	E. corrodens
	Capnocytophaga	Cochracea
Bacilos grampositivos	Lactobacillus	L.acidophilus, L.casei; L.fermentum A. odontolyticus, A. naeslundii, A. israelii, A. meyeri

En los dientes con cámara endodental abierta, el 28% de las bacterias son anaerobias. La flora bacteriana está constituida en su mayoría por especies presentes en el medio oral. Los estreptococcus del grupo viridans se observan en el 58% de las muestras, pero solo son predominantes en el 18% de los casos.<sup>25</sup>

Las bacterias más frecuentemente halladas son Streptococcus mitis, Enterococcus y Lactobacillus Neisseria, Haemophilus parainfluenzae, Corynebacterium y Staphylococcus epidermidis aparecen sobre todo en las partes más superficiales. Actinomicetes, bacilos grampositivos y anaerobios gramnegativos también aparecen frecuentemente.<sup>25</sup>

### 1.3.3. Bacterias frecuente en la pulpa necrótica

#### Lactobacillus acidophilus.

##### a) Características microbiológicas

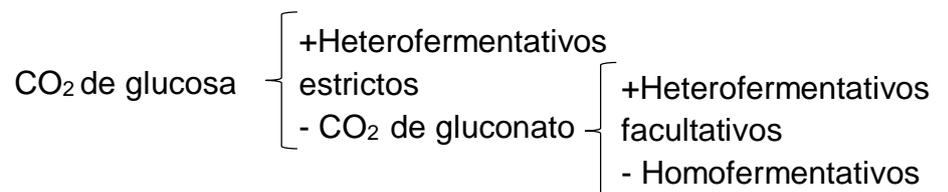
En este género, incluido en la familia Lactobacillaceae, se distinguen más de cuarenta especies que, de acuerdo con sus actividades metabólicas sobre los hidratos de carbono, se clasifican en tres grupos.<sup>26</sup>

- **Homofermentativos.** Son los que a partir de la glucosa siguen la vía de la glucólisis (vía de Embden-Meyerhorf-Parnas) y desde el piruvato, mediante la lactato deshidrogenasa y al carecer de piruvato formato liasa, originan únicamente lactato sin producción de CO<sub>2</sub>. Poseen pues, aldosa, pero carecen de todas las enzimas de la ruta de las pentosas fosfato. Las especies más importantes del grupo en la cavidad oral son L. acidophilus L. salivarius L. gasseri y L. crispatus.<sup>26</sup>
- **Heterofermentativos estrictos.** Carecen de aldosa y no pueden seguir la vía glucolítica completa solo utilizan la ruta de las pentosas fosfatos o a la conexión con la glucólisis a través de la transcetolasa. El resultado final es la producción de acetato, etanol, formato, lactato y CO<sub>2</sub>. Las especies más

representativas en la cavidad oral son *L. fermentum* y *L. brevis*.<sup>26</sup>

- **Heterofermentativos facultativos.** No siguen la ruta de la pentosa fosfato, desde el principio ya que carecen de glucosa-6-P, deshidrogenasa y lactonasa, por lo que no forman gluconato-6-P, pero si podría hacerlo desde este último compuesto a partir de gluconato por que poseen las enzimas necesarias para tal fin (fosfocetolasa y gluconato-6-P deshidrogenasa). En definitiva, en presencia de gluconato se comportarían como los heterofermentativos estrictos produciendo acetato, etanol, formato, lactato y CO<sub>2</sub>. En presencia de glucosa la utilizan como Homofermentativos produciendo lactato sin CO<sub>2</sub>, pero como además poseen piruvato formato liasa podrán originar por esta vía también acetato etanol y formato pero sin CO<sub>2</sub>. Las especies más representativas en la cavidad oral son *L. casei* y *L. plantarum*.<sup>26</sup>

De acuerdo con lo expuesto, una forma de diferenciar los tres grupos seria el siguiente diagrama.<sup>26</sup>



## b) Morfología

Desde el punto de vista morfológico los *Lactobacillus* son pleomorficos, pero debido a que se dividen en un solo plano, nunca presentan ramificaciones; suelen aparecer

asociados en parejas, cadenas, empalizadas o frecuentemente aislados. Solo muy escasas especies son móviles por flagelos peritricos.<sup>26</sup>

#### **c) Metabolismo**

Aunque su metabolismo puede ser heterofermentativo y se le considera aerotolerantes, se desarrollan muy bien con un 5-10% de CO<sub>2</sub>.<sup>26</sup>

Ya se ha comentado la importancia de su comportamiento enzimático con respecto a la glucosa.<sup>26</sup>

#### **d) Cultivos:**

En cuanto a los cultivos la temperatura óptima es de 36 ± 1 °C y existe un medio líquido o sólido muy selectivo y que salvo algunas excepciones, solo permite el desarrollo de estos microorganismos.<sup>26</sup>

Es el de Rogosa-Mitchell-Wiseman, que contiene tres azúcares (glucosa, sacarosa y arabinosa), mezcla de sales, extracto de levadura, monoleato de sorbitan, etc., y sobre todo un pH ácido 5,4 ± 0,2. Las colonias a las 48 horas son conexas, lisas, circulares y con bordes regulares. En caldos suelen originar turbidez homogénea y depósitos en el fondo. Los cultivos desprenden un olor típico a leche fermentada.<sup>26</sup>

#### **e) Hábitat**

Las especies del género *Lactobacillus* se encuentran en forma constante en la cavidad oral, la vagina y el aparato digestivo humano y de otros mamíferos. En la cavidad oral se aíslan preferentemente en la saliva, el dorso de la lengua y las placas supra gingivales y radiculares; su

concentración variaría según el estado de salud oral, incrementados con la caries. Los *Lactobacillus* se usan ampliamente en las industrias como fermentantes y acidificantes; así, por ejemplo, el yogur y los quesos se obtienen de la fermentación láctica de la leche.<sup>26</sup>

#### **f) Factores de virulencia**

Son particularmente importantes en aquellos microorganismos que se relacionan más con la caries, especialmente los homofermentativos.<sup>26</sup>

Tienen poder acidógeno y acidúrico, inician el crecimiento a pH 5, son particularmente acidófilos y ejercen una débil, pero constante, actividad proteolítica. Algunas cepas sintetizan polisacáridos intra y extracelulares a partir de la sacarosa, pero se adhieren muy poco a superficies lisas, por lo que deben utilizar otros mecanismos para colonizar el diente; estos son, principalmente, del tipo de la unión física por atrapamiento bien porque quedan retenidos en superficies de retención (por ejemplo en fosas y fisuras oclusales o cavidades cariadas) o en la malla adherente que otras bacterias constituyen cuando forman las placas dentales.<sup>26</sup>

#### **g) Poder patógeno**

Se relacionan con las caries, pero tienen, en principio, por la falta de algunos factores de cariogenicidad como su poder adhesivo, una menor significación patogénica que los estreptococos del grupo mutans. Su poder cariogeno es mayor en zonas retentivas en las que quedan atrapados físicamente. En cualquier caso su cantidad en la saliva aumenta en caries activas o en sujetos predispuestos.

Aunque estas bacterias tienen un papel relativo en cuanto al inicio de las lesiones, si son importantes como invasores secundarios cuando, al descender el pH a 5,4 o menos, actúan en la progresión y avance del frente de caries.<sup>26</sup>

Fuera de la cavidad oral no se comportan de forma habitual como patógenos. La excepción probablemente sea *L. casei* que posee una capsula polisacárida; el resto carece de factores de virulencia.<sup>26</sup>

La citada especie sea relacionada con procesos como endocarditis subaguda, septicemias y abscesos.<sup>26</sup>

## 2. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS:

### Antecedentes Internacionales:

Lana M. A., Ribeiro Sobrinho A. P., Stehling R., García G. D., Silva B. K. c., Hamdan J. S., Nicolli J. R., Carvalho M. A. R. and Farias L. D. M. MICROORGANISMS ISOLATED FROM ROOT CANALS PRESENTING NECROTIC PULP AND THEIR DRUGS SUSCEPTIBILITY IN VITRO. ORAL MICROBIOLOGY IMMUNOLOGY. (49). En este estudio, 31 canales con necrosis de la pulpa se analizaron microbiológicamente antes y después de la manipulación. Los géneros encontrados más frecuentes fueron *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium* y *Peptostreptococcus* para las bacterias y *Candida* y *Saccharomyces* para las levaduras.

Vitery Sapuyes, Gabriel Ricardo; Escribano Vargas, Sandra. ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA STEVIA REBAUDIANA SOBRE EL *LACTOBACILLUS ACIDOPHILLUS* Y EL *STREPTOCOCCUS MUTANS*.(61). Nos muestra que los *Lactobacillus Acidophilus* y el *Streptococcus Mutans* se encuentran en casi todas las lesiones de

caries, y su proporción en la placa y la saliva está positivamente relacionada con la frecuencia y la actividad de caries.

Haro Valencia, Adriana Belén. ESTUDIO IN VITRO DE LA EFICACIA ANTIBACTERIANA ENTRE EL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) AL 100% E HIPOCLORITO DE SODIO AL 5,25% SOBRE EL *ENTEROCOCCUS FAECALIS*. (46). Se concluyó que entre las soluciones analizadas el extracto alcohólico de *C. Spinosa* (Tara) al 100% demostró un considerable efecto antibacteriano al igual que el Hipoclorito de sodio al 5,25% sobre el *E. faecalis*.

Sandoval Pérez Paola Cecilia. EFECTO INHIBIDOR DEL COLUTORIO DE CIRUELA PASA SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS* Y *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*, Y COMPARACIÓN CON DOS COLUTORIOS COMERCIALES. (59). Se concluyó que al determinar la sensibilidad de *Lactobacillus acidophilus* frente a los tres colutorios se concluye que la ciruela en colutorio no fue muy efectiva, apenas en 6,7% de los casos se obtuvo un nivel sumamente sensible, en tanto que el 88,9% se valoró como resistente.

### **Antecedentes Nacionales**

Lock de Ugaz, O. INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA: MÉTODOS EN EL ESTUDIO DE PRODUCTOS NATURALES. (52). Perú. En su investigación demuestra que los fenoles y flavonoides, constituyentes también de *Caesalpinia spinosa*, tienen propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, y antifúngicas, cuya acción provoca lesiones en la membrana citoplasmática, ocasionando una disfunción en la composición interna de las células bacterianas.

López Flores, Carmen, Virginia Garró, Victoria Yrei, Gallardo, Teresa. ACCIÓN ANTIMICROBIANA *CAESALPINIA TINTORIA* (MOLINA) KUNTZE O TARA, DE DIFERENTES REGIONES DEL PERÚ. (53).

Los resultados obtenidos en los ensayos de acción antimicrobiana muestran que las vainas tienen una fuerte actividad antimicrobiana (+++) frente a las bacterias Grampositivas y Gramnegativas, lo que quiere decir que estas son muy sensibles. Todas las muestras tienen una fuerte acción antifúngica frente a *Penicilliumsp.*

Liu B., Humberto; Lengua V., Luis Alberto; León M., Gladys; La Torre D., Carla; Huapaya Y., José; Chauca, José. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS DE CAESALPINIASPINOSA TARA Y EUCALYPTUSSP. EUCALIPTO. (51). En la evaluación del extracto de tara usando la vaina, se observó actividad inhibitoria sobre cepas Gram positivas. Los componentes del fruto relacionados con dicha actividad corresponden exclusivamente a la cáscara de la vaina, donde la pepa no muestra actividad inhibitoria. La combinación de solventes alcohol acetona resultó efectiva para la extracción de los principios activos antimicrobianos de *Caesalpinia spinosa* y *Eucalyptussp.*

De la Cruz Lapa, Primo. APROVECHAMIENTO INTEGRAL Y RACIONAL DE LA TARA CAESALPINIA SPINOSA - CAESALPINIA TINCTORIA. (41). Industrialmente se integra como parte de los medicamentos gastroenterológicos, para curar úlceras; cicatrizantes, por sus efectos astringentes, antiinflamatorios, antisépticos, antidiarreicos, antimicóticos, antibacterianos, antiescorbúticos, odontálgicos y antidisentéricos, siendo más utilizados aquellos que producen constricción y sequedad. Es utilizada, muy frecuentemente, en la medicina tradicional para aliviar malestares de la garganta, sinusitis, infecciones vaginales y micóticas; lavado de los ojos inflamados; heridas crónicas y el índice cariado, dolor de estómago; las diarreas; cólera; reumatismo y resfriado; depurativo del colesterol.

Muñante Cárdenas, José Luis. IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ANAEROBIOS FACULTATIVOS Y ANAEROBIOS ESTRUCTOS FRECUENTES EN NECROSIS

PULPARES. (57). Los géneros bacterianos frecuentemente aislados fueron: *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Veillonella* y *Lactobacillus*. Las especies bacterianas frecuentemente aisladas fueron: *Fusobacterium nucleatum*, *Lactobacillus acidophilus* y *Veillonella párvula*.

Pérez Salazar, Roberto Carlos; Carrasco Loyola, Milagros. CRECIMIENTO IN VITRO DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* Y *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* EN MEDIOS QUE CONTENGAN EDULCORANTES ARTIFICIALES. (58). Los *Lactobacillus* están implicados en el avance de las caries de dentina. Actúan principalmente como “invasores secundarios” que aprovechan las condiciones ácidas y la retentividad existente en la lesión cariosa y dependen fundamentalmente de la acción anterior de los *Streptococcus mutans*. El *Lactobacillus acidophilus* es asociado con una frecuente ingesta de carbohidratos.

Escobar Bobadilla, Luis Enrique. Chávez Castillo, Milciades. EFECTO IN VITRO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *CAESALPINIASPINOSA (MOLINA) KUNTZE*, SOBRE LA VIABILIDAD DE *CORYNEBACTERIUMDIPHtherIAE*. (42). El extracto alcohólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* “taya” tiene actividad antibacteriana “in vitro” contra *Corynebacterium diphtheriae*. A medida que se aumenta la concentración del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* “taya” (de 25% a 100%) se obtiene un mayor diámetro del halo de inhibición de *Corynebacterium diphtheriae*. Los diámetros de los halos de inhibición de *Corynebacterium diphtheriae* obtenidos con las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* “taya” son de mayor diámetro que los obtenidos con penicilina y eritromicina.

Araujo Díaz, Jorge, Salas Asencios, Ramsés. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO CRUDO DE LA VAINA DE *CAESALPINIA SPINOSA "TARA"* FRENTE AL *STAPHYLOCOCCUS*

*AUREUS*. (33). Se analizó la actividad antimicrobiana del extracto crudo de tara frente a *Staphylococcus aureus* demostrando que la vida media del extracto fue latente durante 3 días, coincidiendo así con esta investigación; donde el extracto de tara 100% demostró inhibir al *E. faecalis* por 72h sobresaliendo con mayor acción inhibitoria a las 48h.

Cabello L. Isabel. MONOGRAFÍA DE TARA-*CAESALPINIA SPINOSA* (MOLINA) KUNTZE. (38). Perú Produce el 80% de la Tara a Nivel Mundial sus frutos y las vainas, tienen amplia aplicación medicinal, la población la usa contra la amigdalitis bajo la forma de gárgaras, contra la fiebre, la gripe, como abortivo, para evitar la caída del cabello, para la tinción de fibras, entre otros usos.

Huarino Acho, Mariella. EFECTO ANTIBACTERIANO DE *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) SOBRE FLORA SALIVAL MIXTA. (48). El extracto alcohólico de las vainas de la *C. spinosa* tiene efecto antibacteriano sobre la flora bacteriana mixta salival. A medida que se aumenta la concentración del extracto alcohólico de *C. spinosa* (de 6.25 mg/ml a 75 mg/ml) se obtiene un mayor diámetro del halo de inhibición. El efecto inhibitorio obtenido por las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *C. spinosa* (6.25mg/ml, 12.5mg/ml, 25mg/ml, 50mg/ml y 75mg/ml) son de mayor diámetro que los obtenidos por los grupos control (Clorhexidina 0.12% y alcohol 70°). Las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *C. spinosa* (6.25mg/ml, 12.5mg/ml, 25mg/ml, 50mg/ml y 75mg/ml) tiene una diferencia estadísticamente significativa entre ellas y con los grupos control (Clorhexidina 0.12% y alcohol 70°).

Flores Armas, Cintya Liset. EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *CAELSEPINA SPINOSA TAYA* SOBRE LAS CEPAS DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 292112. (43). Se concluyó que el extracto etanolico de la *Caesalpinia spinosa* (taya) presenta efecto inhibitorio in vitro sobre cepas de

*Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a las 24 horas de su aplicación. La concentración inhibitoria mínima in vitro fue de 40 % para el extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* frente a las cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Montenegro Chipana, Alex. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE CAESALPINIA SPINOSA (TARA) SOBRE PORPHYROMONAS GINGIVALIS. (55). La concentración del extracto alcohólico de *C. spinosa* (6,25 mg/ml; 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml y 75 mg/ml 6,25 mg/ml a 75 mg/ml) tiene efecto antibacteriano sobre *Porphyromonas gingivalis*, aunque el aumento de la concentración no guarda una relación proporcional con el aumento de diámetro del halo de inhibición. El efecto inhibitorio obtenido por las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *C. spinosa* (6,25 mg/ml; 12,5 mg/ml; 25mg/ml; 50mg/ml y 75 mg/ml) son de mayor diámetro que los obtenidos por los grupos control (Clorhexidina 0,12% y alcohol 96°).

Guevara G, José María et al. EVALUACIÓN DEL COCIMIENTO DE DIFERENTES BIOVARIEDADES DE CAESALPINIA SPINOSA (TARA) FRENTE A CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS SENSIBLES Y RESISTENTES A OXACILINA. (45). Se concluye que el cocimiento de tara tiene actividad antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles y resistentes a la oxacilina, siendo la actividad mayor en los resistentes a la oxacilina. Esto es un aporte importante para la salud pública, en referencia a resistencia bacteriana de los antibióticos.

Bornaz Acosta, Juan Guillermo. Bornaz Arenas, Vanessa Lisethe. Bornaz Arenas, Milagros Katherine. EFECTO IN VITRO DE LA SOLUCIÓN DE CAESALPINIA ESPINOSA (TARA) AL 60%, E HIDRÓXIDO DE CALCIO Y GLUCONATO DE CLOREXIDINA AL 2% EN EL HALO INHIBITORIO MICROBIANO DE ENTEROCOCCUSFAECALIS. (36). Se concluye que el efecto de la

*Caesalpinia espinosa* al 60% en el halo inhibitorio del *Enterococcus faecalis* en promedio fue de 9,51 mm con una desviación estándar de 0,31. El efecto antimicrobiano de la *Caesalpinia espinosa* al 60% fue mayor que el del Hidróxido de Calcio + Gluconato de clorhexidina 2% en el halo inhibitorio del *Enterococcus faecalis*.

Centurión Villar, Karina Mercedes. EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) FRENTE A *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 35668". (39).El extracto etanólico de las vainas de *C.Spinosa* a las concentraciones de 5%, 10%, 20% y 30% tienen efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 35668.

Urbina Castro, Luis Miguel. EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DE UN ENJUAGUE BUCAL A DIFERENTES CONCENTRACIONES A BASE DE EXTRACTO ETANÓLICO DE *STEVIA REBAUDIANA* SOBRE EL CRECIMIENTO DE *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* ATCC 4356.(60).El enjuague bucal a diferentes concentraciones a base de extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* tiene efecto antibacteriano sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

Abanto Vilca, Magaly. EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175. (32).La concentración mínima inhibitoria (CMI) *in vitro* del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, fue del 40%.

### **Antecedentes Locales**

Mora Valdivia, David Manuel. ESTUDIO *IN VITRO* DE LA PASTA WALKHOFF Y ÓXIDO DE ZINC- EUGENOL SOBRE LA FLORA BACTERIANA DE CONDUCTOS RADICULARES DE MOLARES

TEMPORALES CON NECROSIS PULPAR EN NIÑOS DE 4 a 8 AÑOS DE EDAD. AREQUIPA 2000 (56). Las bacterias encontradas en conductos radiculares de molares temporarios con necrosis pulpar son: *S.aureus*, *Lactobacillus spp* y *Streptococcus spp*.

Bobadilla Tejada, Erika Z. EFECTO IN VITRO DE LA *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) EN EL HALO INHIBITORIO DE LA MICROFLORA DE LA PLACA BACTERIANA SUPRAGINGIVAL EN NIÑOS DE 7 A 12 AÑOS DE LA INSTITUCIÓN EDUCATIVA 40019 JUVENTUD FERROVIARIA AREQUIPA 2005. (34). Esta investigación indaga el efecto de la *Caesalpinia Spinosa* aplicada in Vitro en la microflora de la placa bacteriana supragingival. Se concluyó que hay una diferencia estadística significativa entre las medias de los diámetros de los halos de inhibición para la concentración mínima bactericida y concentración óptima. Lo que significa que a mayor concentración de la *caesalpinia espinosa*, este incrementa su efectividad antimicrobina al producir un halo inhibitorio dimensionalmente mayor.

Gómez Muñoz, José. EFECTO IN VITRO DEL EXTRACTO DE *CAESALPINIA SPINOSA* Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% EN LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA SOBRE LA *CÁNDIDA ALBICANS* AREQUIPA 2009. (44). Se concluyó que la *Caesalpinia espinosa* sobre la *Cándida Albicans*, tiene un efecto fungicida intermedio solo a las 24 horas.

León Ticona, Vanessa. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE LA *STEVIA REBAUDIANA BERTONI* Y DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0,12% EN EL *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE LA UCSM 2011. (50). La presente investigación nos menciona que los *lactobacillus* se aíslan preferentemente en las placas supragingivales y radiculares.

Bornaz Arenas, Vanessa Liseth. EFECTO INHIBITORIO DE LA SOLUCIÓN DE *CAELSEPINIA SPINOSA* AL 60% E HIDRÓXIDO

DE CALCIO Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% EN EL HALO INHIBITORIO DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.(37).La *Caesalpinia espinosa* demostró tener efecto antimicrobiano frente a la presencia de *Enterococcus faecalis*, formando halos de diferentes diámetros en las 4 tomas de medidas que se realizó en este estudio.

Bobadilla Tejada, Erika Z. EFECTO IN VITRO DE UN ENJUAGATORIO BUCAL DE *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) EN EL CRECIMIENTO DEL *STREPTOCOCO MUTANS* AISLADO DE LA PLACA BACTERIANA DEL DORSO DE LA LENGUA EN NIÑOS DE 8 AÑOS, INSTITUCIÓN EDUCATIVA 40143 SAN PEDRO. AREQUIPA. 2012. (35).Se concluye que el enjuagatorio bucal de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) tuvo una eficacia en la reducción del crecimiento de *Streptococo mutans* de la placa bacteriana del dorso de la lengua.

Collantes Galvez, Yessenia Karol. EFECTO DE LA PASTA 3MIX – MP Y PASTA CTZ FRENTE A *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*, *STREPTOCOCCUS MITIS*, *ENTEROCOCCUS FAECALIS* Y *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*, EN NECROSIS PULPAR DE PIEZAS DECIDUAS INFECTADAS. AREQUIPA 2012. (40). La infección del sistema radicular es considerada como una infección polimicrobiana, conformada por bacterias aerobias y anaerobias.

Huaman Morales, Alicia del Carmen. EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL NITRATO DE PLATA AL 35%, 40%, 44% Y FLUORURO DIAMINO DE PLATA AL 30% EN EL CRECIMIENTO DE *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*, UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA AREQUIPA, 2015. (47). Se concluye que el *lactobacillus acidophilus* es sensible al fluoruro diamino de plata, ya que el microorganismo puede crecer o no crecer con este antimicrobiano.

Mamani Palma, Neydher Fiorella. EFECTO IN VITRO DE LA PASTA CTZ PURA Y MODIFICADA Y DEL FORMOCRESOL SOBRE EL

*FUSOBACTERIUM NUCLEATUM*, EL *LACTOBACILLUS ACIDOPHYLLUS* Y LA *PORPHYROMONA GINGIVALIS* PREVALENTES EN PIEZAS DECIDUAS NECRÓTICAS CON ABSCESO EN LOS LABORATORIOS DE MICROBIOLOGIA DE LA UCSM, AREQUIPA 2014. (54). Se concluye que la pasta CTZ presenta un mayor poder bactericida frente al *Lactobacillus acidophilus*.

### 3. HIPÓTESIS

Dado que la *Caesalpinia spinosa* por presencia de Taninos y Flavonoides que posee; los que tienen en su estructura hidroxilos fenólicos, que penetran fácilmente a través de la membrana celular bacteriana y al combinarse precipitan proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos, así como la capacidad de aglutinar proteínas; y que el *Lactobacillus acidophilus* se encuentra presente en conductos necróticos de piezas deciduas:

Es probable que la solución de la *Caesalpinia spinosa* en diferentes concentraciones sea efectiva como antibacteriano sobre el *Lactobacillus acidophilus*.

# **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

## 1. ÁMBITO DE ESTUDIO

El ámbito de estudio donde se ha llevado a cabo la investigación ha sido en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas donde se llevó a cabo la primera parte del proceso de producción del extracto de la *Caesalpinia spinosa* y en los laboratorios de microbiología de la Universidad Católica de Santa María.

## 2. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

### 2.1 TIPO DE ESTUDIO

El tipo de investigación es experimental ya que se aplicó la solución del extracto de la *Caesalpinia spinosa* para determinar si esta tiene efecto sobre el *Lactobacillus acidophilus*.

### 2.2 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

- **De acuerdo a la temporalidad :**

La presente investigación es longitudinal ya que los resultados se obtuvieron a las 24 y 48 horas.

- **De acuerdo al lugar donde se obtendrán los datos:**

Este estudio se realizó in vitro en el laboratorio clínico para evaluar la susceptibilidad de cepas de *Lactobacillus acidophilus* ante la solución natural del extracto de *Caesalpinia spinosa* "tara".

- **De acuerdo al momento de la recolección de datos:**

Prospectivo, porque los datos se analizaron transcurrido un determinado tiempo.

- **De acuerdo a la finalidad investigativa:**

Es comparativo puesto que se buscó semejanzas y diferencias entre las diferentes concentraciones al 40%, 60% y 100% y con los grupos de control (gluconato de clorhexidina y la amoxicilina)

### **3. UNIDADES DE ESTUDIO**

Las unidades de estudio correspondieron a las cepas estandarizadas de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356 de la empresa GEN LAB DEL PERU S.A.C.

### **4. POBLACIÓN Y MUESTRA**

La población estuvo constituida por cepas del *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356.

Se tomó la opción de Grupos, porque se trata de una investigación experimental en la cual se quiere comparar la diferencia en las unidades de estudio.

#### **4.1 Tamaño de la muestra**

Para la siguiente investigación el tamaño de la muestra se determinará de acuerdo a la siguiente formula:

$$n = \frac{Z\alpha^2 p \cdot q}{E^2}$$

Donde:

$Z\alpha =$  Nivel de confianza: 95 %  $\rightarrow$  1.96  
 $p =$  Probabilidad que ocurra el fenómeno (99%)  
 $q =$  100 -  $p = 1\%$   
 $E =$  Error muestral= 10%

Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96)^2(99)(1)}{10^2} = 3.8 = 4$$

Según la formula se necesitan 4 unidades de estudio por grupo, sin embargo, dado que contábamos con recursos materiales y económicos, este valor se elevó a 5.

- **Identificación de los grupos**

Los grupos serán distribuidos en las placas Petri, en razón a 5 muestras para cada uno de los grupos; Grupo Experimental 1 correspondiente a la *Caesalpinia spinosa* al 40%, Grupo Experimental 2 correspondiente a la *Caesalpinia spinosa* al 60%, Grupo Experimental 3 correspondiente a la *Caesalpinia spinosa* al 100%, Grupo control Gluconato de clorhexidina al 0.12 % y Amoxicilina.

- **Criterios de inclusión**

- Medios de cultivo en iguales condiciones
- Cepas de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356
- Igual tiempo de incubación 37°C 9 % CO<sub>2</sub>.

- **Criterios de exclusión**

- Deforme formación del halo de inhibición
- Preparación inadecuada del medio
- Cepa contaminada de *Lactobacillus acidophilus*.

## 5. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS:

### 5.1 Definición operacional de variables

VARIABLE	INDICADORES	SUB-INDICADORES	NATURALEZA	ESCALA DE MEDICIÓN	TIPO DE VARIABLE
<i>Caesalpinia spinosa</i> (tara)	- Concentración al 40 % - Concentración al 60% - Concentración al 100%		Cualitativo	Nominal	Estímulo
Actividad antibacteriana	Prueba de sensibilidad (halo inhibitorio)	Milímetros	Cuantitativo	Razón	Respuesta

### 5.2 Técnicas e instrumentos de recolección

Se utilizó la técnica de observación indirecta experimental microbiológica para recoger información de la variable respuesta y así mismo se determinó el halo inhibitorio del extracto de *Caesalpinia spinosa* sobre el *Lactobacillus acidophilus*.

#### Instrumentos de investigación

Instrumento:

Se utilizó una ficha de recolección de datos del halo inhibitorio a las 24, 48 horas. (Anexo N° 1)

## 6. PRODUCCIÓN Y REGISTRO DE DATOS

### Obtención del extracto de *Caesalpinia Spinosa*:

#### Prueba piloto

Se realizó una prueba piloto en la cual se hizo la preparación del extracto de *Caesalpinia spinosa* para poder verificar la efectividad extracto. Este fue preparado con el siguiente procedimiento:

Se recolectó un kilogramo de vainas secas de “Tara” las cuales fueron recolectadas del distrito Characato – Arequipa y se separaron las semillas de las vainas, posteriormente se molió las vainas en licuadora cuyo vaso y cuchillas fueron previamente esterilizadas obteniendo un polvo fino, el cual se mezcló con alcohol de 96 grados en recipientes estériles color ámbar, a los cuales se pusieron cantidades diferentes de alcohol y de polvo de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* para cada concentración. Se pesó 500 gr. de polvo de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* en una balanza digital (OHAUS), se colocó en un frasco de vidrio de color ámbar esterilizado y se le agregó 500 ml de alcohol de 96° para cada concentración 40% , 60% , 100%, donde tuvimos algunos cambios que fueron reportados a su debido tiempo.

Para preparar el extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara), se siguió el siguiente procedimiento:

Se recolectó un kilogramo de vainas secas de “Tara” las cuales fueron recolectadas del distrito Characato – Arequipa y se separaron las semillas de las vainas, posteriormente se molió las vainas en licuadora cuyo vaso y cuchillas fueron previamente esterilizadas obteniendo un polvo fino, el cual se mezcló con alcohol de 96 grados en recipientes estériles color ámbar, a los cuales se pusieron cantidades diferentes de alcohol y de polvo de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* para cada concentración. Se pesó 200 gr. de polvo de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* en una balanza digital (OHAUS), se colocó en un frasco de vidrio de color ámbar esterilizado y se

le agregó 500 ml de alcohol de 96°; para obtener de esta la concentración al 40%, de la misma manera se volvió a pesar 300 gr. de polvo de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* en una balanza digital (OHAUS), se colocó en un frasco de vidrio de color ámbar esterilizado y se le agregó 500 ml de alcohol de 96°; para obtener de esta la concentración al 60%, y por último se volvió a pesar 200 gr. de polvo de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* en una balanza digital (OHAUS), se colocó en un frasco de vidrio de color ámbar esterilizado y se le agregó 200 ml de alcohol de 96°; para obtener de esta la concentración al 100% se dejó cada recipiente por 14 días a temperatura ambiente, durante los cuales se procedió a agitar por un lapso de 30 segundos diarios para homogenizar la solución.

Pasado este tiempo se procedió a filtrar tres veces la solución, primero con una tela estéril, un segundo filtrado con papel filtro estéril de paso rápido y por ultimo un tercer filtrado con papel filtro estéril de paso lento, obteniéndose un extracto purificado.

Luego se colocó la solución obtenida al 40 %, 60% y al 100 % en la rotavapor (BUCHI SWITZERLAND) en forma individual para evaporar y condensar el alcohol, a una temperatura del baño maría a 60 °C, el agua de refrigeración a una temperatura de 20 °C, el punto de ebullición del alcohol siendo a 40 °C y el interruptor de velocidad de rotación sea el de 4, se hizo este procedimiento para cada concentración por un lapso de 2 horas. Se verificó la eliminación del alcohol de nuestra sustancia mediante un alcoholímetro, midiendo el grado de alcohol, obteniéndose una medida de 0. Posteriormente se colocó cada sustancia obtenida en frascos de vidrio de color ámbar esterilizados, adecuados para su conservación y posterior utilización estos dejados a temperatura ambiente.

#### **Obtención de la muestra:**

Se obtuvo la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356, a través de la empresa GEN LAB DEL PERU S.A.C.

Estas se mantuvieron bajo refrigeración de 2 – 8 °C desde el momento de su adquisición hasta el momento de su reactivación.

### **Reactivación de la cepa bacteriana**

La cepa es retirada de su envase y siguiendo todas las instrucciones son sembradas (Anexo 3)

La cepa fue activada en caldo tioglicolato, todo el material utilizado fue previamente esterilizado, se preparó 100 ml (tioglicolato=2.9g) en matraz de 250 ml, se diluyó el polvo en agua destilada luego calentar la solución hasta ebullición y se tapó con papel aluminio para después llevar al autoclave por 30 min a 121°C.

Luego se procedió a realizar todas las instrucciones de la cepa (Anexo 3), con el hisopo de la cepa se recogieron colonias de los envases de Genlab, y se sumergieron en el caldo, y luego fueron llevadas a la cámara de anaerobiosis al 9 % CO<sub>2</sub>, donde se incubó a 37°C durante 24 horas, después de este procedimiento. Después de este procedimiento la concentración celular fue medida por medio de espectrofotometría según la escala de 0,5 de Mc Farland.

### **Preparación de los medios de cultivo**

Se preparó 100 ml de cultivo Agar rogosa (6.72g) para 5 placas Petri estas esterilizadas anteriormente, estas se diluyeron con agua destilada en un matraz de 250 ml, hasta que alcanzó su punto de ebullición, y se puso al autoclave por 30 min a 121° C y se repartió el medio en las 5 placas petri previamente esterilizadas a razón de un espesor de 4 mm en condiciones de esterilidad.

Se dejó solidificar a temperatura de medio ambiente por 15 minutos, y se procedió a rotular las placas en la parte posterior divididas con el nombre de la sustancia a investigar.

Luego que ya se solidificó el agar en las placas se procedió hacer la siembra por superficie con una micropipeta. Se tomó 1 ml de la cepa reactivada en caldo tioglicolato y se la vertió y se esparció con la espátula de digralsky sobre la superficie del agar.

### **Establecimiento de los grupos experimentales y controles:**

Posteriormente se procedió a colocar 5 sensidiscos de 5 mm en cinco puntos separados en la placa Petri, cada sensidiscos fue embebido con 30 microlitros con la sustancia a comparar y cada sensidisco fue colocado en el espacio correspondiente de la placa Petri previamente rotulado a razón de 5 muestras para el Grupo experimental: Caesalpinia Spinosa al 40%; 5 muestras para Grupo experimental Caesalpinia Spinosa al 60%; 5 muestras para Grupo experimental Caesalpinia Spinosa al 100%; 5 muestras para el Grupo Control: Gluconato de Clorhexidina al 2%, el cual fue utilizado vertiendo la solución sobre los sensidiscos; y por ultimo 5 muestras para el Grupo control: Amoxicilina, donde se usó una capsula de 500 mg la cual se vertió en un recipiente donde se mezcló con agua biodestilada. Posteriormente las placas Petri fueron colocadas en la cámara de anaerobiosis al 9 % CO<sub>2</sub>, 37° C.

Se realizó la medición de los halos producidos por cada uno en los agentes microbianos con una regla de Vernier (UBERMANN) correctamente calibrada esto a las 24 y 48 horas.

## **7. TÉCNICAS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

La tabulación de los datos se realizó a través de una matriz de sistematización. Respecto al procesamiento de información, esta se llevó a cabo de manera computacional. La presentación de los datos se hizo a partir de la confección de tablas de simple y doble entrada, elaboración de gráficos de barras.

El análisis de los datos se llevó a cabo a través de la aplicación de la estadística descriptiva e inferencial.

Respecto a la estadística descriptiva, se calculó medidas de tendencia central (medida aritmética) y de dispersión (desviación estándar, valores mínimo y máximo) dada la naturaleza cuantitativa de la variable respuesta.

Para demostrar si existen diferencias o no entre los grupos de estudio (experimentales y controles) se utilizó el estadístico inferencial T de student a un nivel de confianza del 95% (0.05).

El proceso estadístico se desarrolló con la ayuda del software EPI-INFO versión 6.0.

## **8. RECURSOS**

### **8.1 HUMANOS:**

1. Investigadora : Bach. Lessly Belén Jiménez Sullasi
2. Asesores :
  - Asesor Director : Dra. Vanessa Bornaz Arenas
  - Asesor Metodológico : Dr. Xavier Sacca Urday
  - Asesor de Redacción : Dra. María Luz Nieto Muriel
3. Colaboradores : Dr. Gustavo Obando Pereda  
Blga. Rocío Rodríguez Pino

### **8.2 FINANCIEROS:**

La presente investigación se financio, en su totalidad, por la investigadora.

### **8.3 MATERIALES:**

#### **Materiales biológicos**

- Lactobacillus acidophilus ATCC® 4356 , a través de la empresa GEN LAB DEL PERU S.A.C
- Caesalpinia spinosa “tara” en polvo
- Agar Rogosa
- Caldo tioglicolato

### **Instrumentos mecánicos de laboratorio**

- Estufa de cultivo
- Mechero de busen
- Autoclave
- Cámara de anaerobiosis
- Espectrofotómetro
- Cocina eléctrica
- Rotavapor
- Frigider
- Balanza electrónica (mg)

### **Instrumentos de laboratorio**

- Micropipeta automática
- Placas Petri.
- Matraces de 250 ml
- Bagueta
- Embudos
- Alcoholímetro
- Probeta de 100 ml
- Beaker
- Tubos de ensayo de 13 x 100 con tapa
- Trípode
- Malla de asbesto
- Gradilla
- Guantes
- Barbijos
- Algodón
- Gasa
- Alcohol 96°

- Clorhexidina 0.12%.
- Papel craft
- Jeringas de 10cc
- Agua destilada.
- Vernier
- Papel toalla
- Campos descartables estériles
- Papel filtro de paso rápido y lento
- Bolsas de desechos biológicos
- Paños absorbentes
- Cinta masking tape
- Fichas de recolección de datos y lápices.
- Computadora.
- Impresiones.
- Anillados y empastados.

#### **8.4 INSTITUCIONALES**

- Universidad Alas Peruanas – Filial Arequipa.
- Laboratorio de microbiología de la Universidad Católica de Santa María

# **CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

TABLA N° 1

COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CAESALPINIA SPINOSA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.

Halo Inhibición 24 horas	Grupo de Estudio		
	C.S. 40%	C.S. 60%	C.S. 100%
Media Aritmética	18.07	15.72	29.60
Desviación Estándar	0.75	0.41	2.02
Halo Mínimo	17.27	15.31	27.30
Halo Máximo	19.24	16.24	32.82
Total	5	5	5

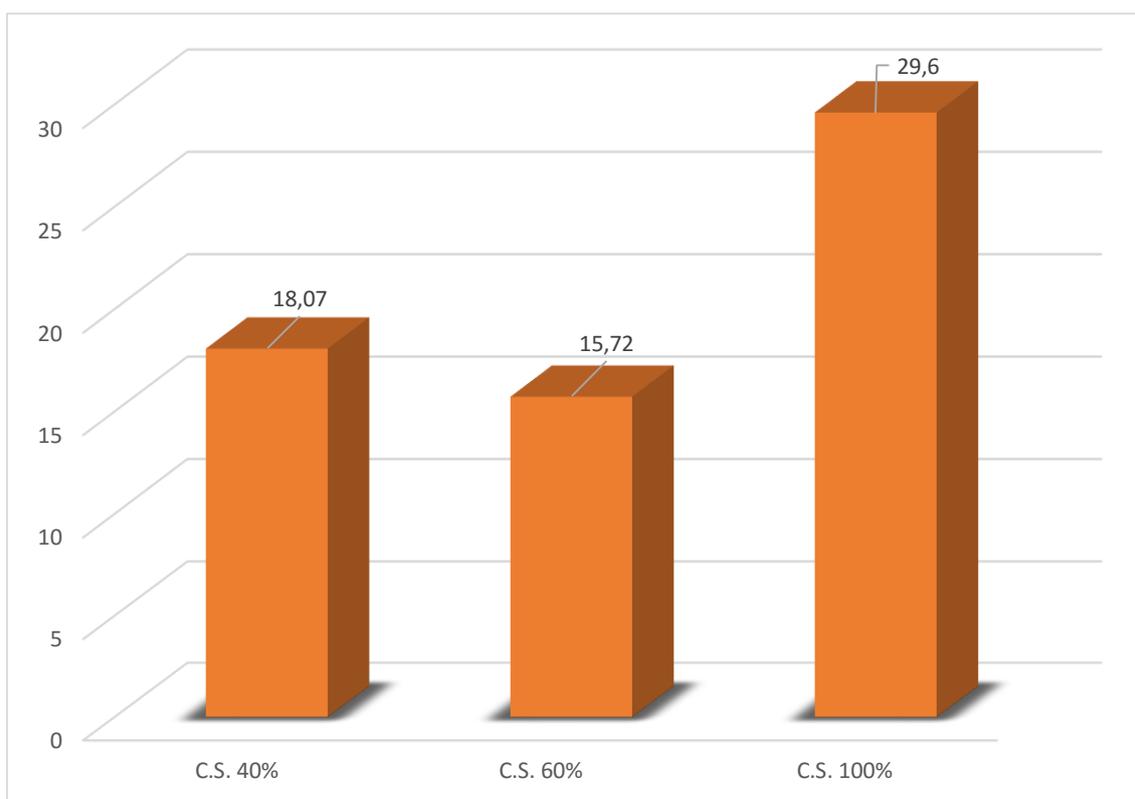
Fuente: Matriz de datos P = 0.000 (P < 0.05) S.S.

### INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 horas de aplicado el estímulo, el halo de inhibición observado en la concentración del 40% de la Caesalpinia Spinosa es en promedio de 18,07, en tanto a la concentración de 60% alcanzó un valor de 15.72 mm y al 100% este valor llegó hasta 29.60 mm . Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, la Caesalpinia Spinosa al 100% fue la que mostró mejor ventaja competitiva que las demás en este momento de tiempo.

## GRÁFICO N° 1

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CAESALPINIA SPINOSA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**



**TABLA N° 2**

**COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA  
CAESALPINIA SPINOSA AL 40% SOBRE EL LACTOBACILLUS  
ACIDOPHILUS.**

C.S. 40%	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	18.07	16.29
Desviación Estándar	0.75	1.59
Halo Mínimo	17.27	14.08
Halo Máximo	19.24	18.12
Total	5	5

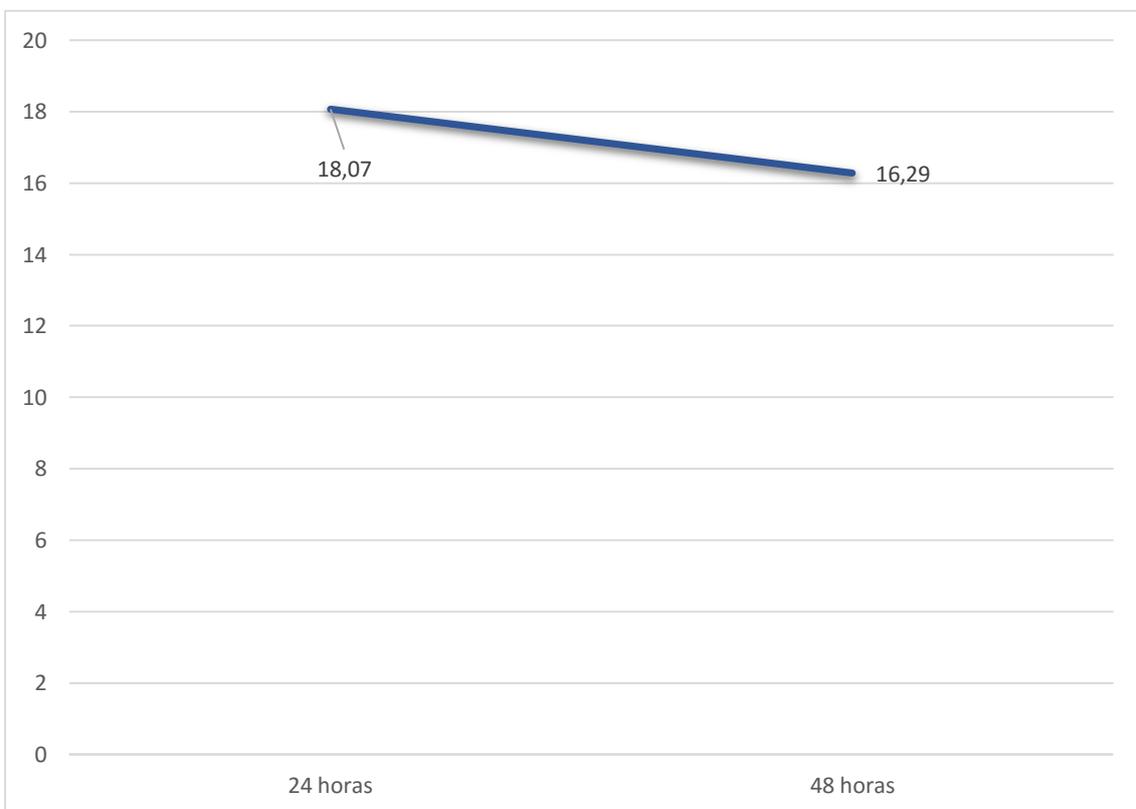
Fuente: Matriz de datos  $P = 0.054$  ( $P \geq 0.05$ ) N.S.

**INTERPRETACIÓN:**

La presente tabla nos muestra que a las 24 horas, el halo formado por la *Caesalpinia Spinosa* al 40% sobre el *Lactobacillus Acidophilus* fue en promedio de 18.07 mm, a las 48 horas de su aplicación este valor disminuyó hasta 16.29mm. Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento de la *Caesalpinia Spinosa* al 40% es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

## GRÁFICO N° 2

### COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 40% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.



**TABLA N° 3**

**COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 60% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**

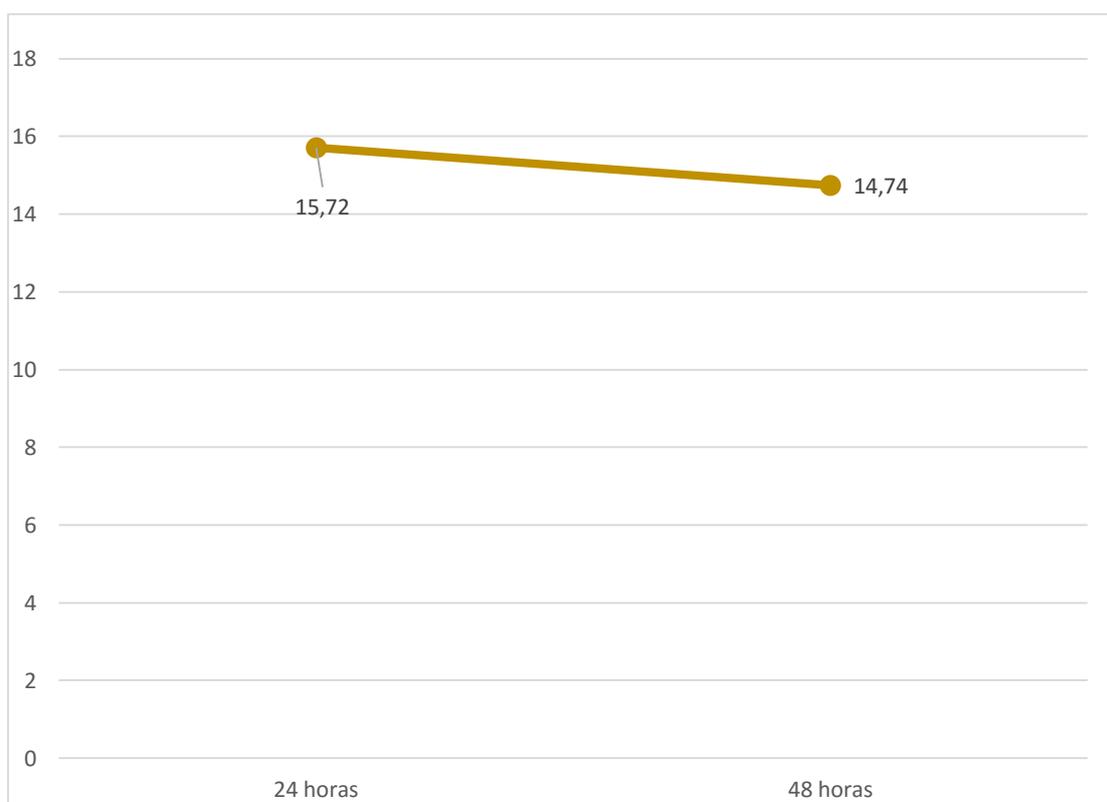
C.S. 60%	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	15.72	14.74
Desviación Estándar	0.41	1.15
Halo Mínimo	15.31	13.32
Halo Máximo	16.24	15.88
Total	5	5
Fuente: Matriz de datos	P = 0.113 (P ≥ 0.05) N.S.	

**INTERPRETACIÓN:**

La presenta tabla nos muestra que a las 24 horas, el halo formado por la Caesalpinia Spinosa al 60% sobre el Lactobacillus Acidophilus fue en promedio de 15.72 mm, a las 48 horas de su aplicación este valor disminuyó hasta 14.74mm. Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento de la Caesalpinia Spinosa al 60% es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

### GRÁFICO N° 3

#### COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 60% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.



**TABLA N° 4**

**COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 100% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**

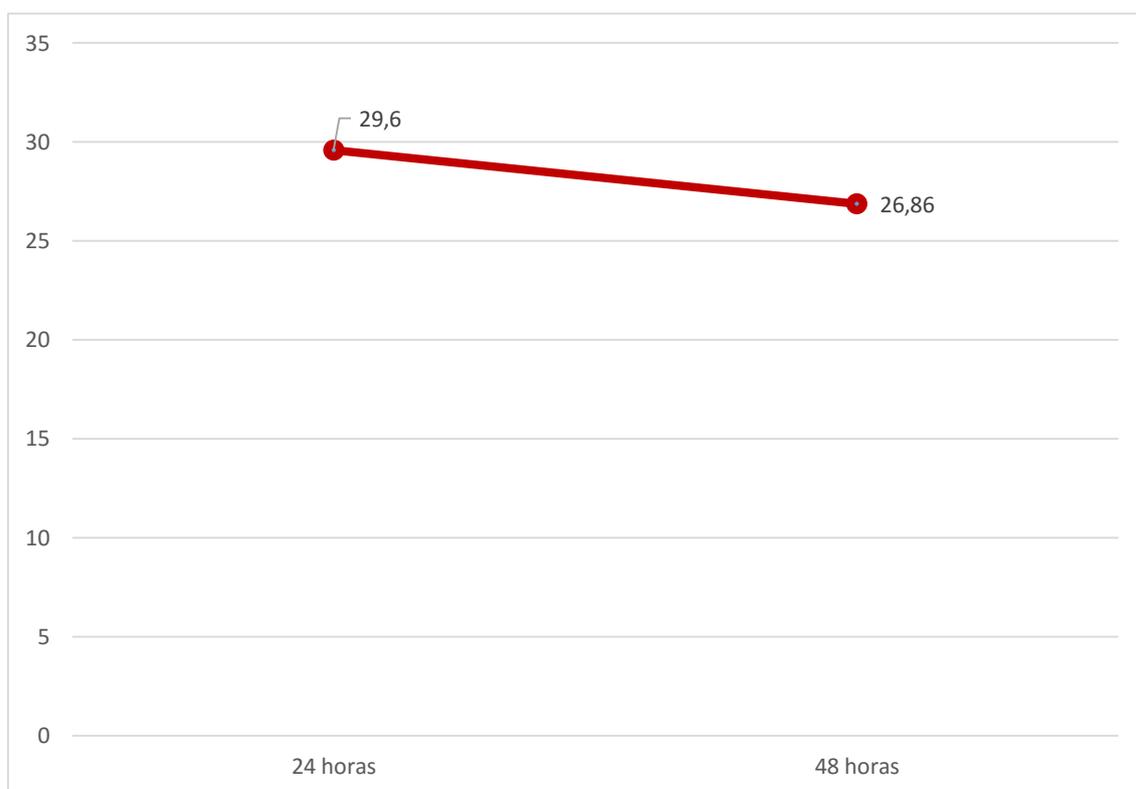
C.S. 100%	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	29.60	26.86
Desviación Estándar	2.02	4.92
Halo Mínimo	27.30	23.69
Halo Máximo	32.82	35.38
Total	5	5
Fuente: Matriz de datos	P = 0.283 (P ≥ 0.05) N.S.	

**INTERPRETACIÓN:**

La presente tabla nos muestra que a las 24 horas, el halo formado por la *Caesalpinia Spinosa* al 100% sobre el *Lactobacillus Acidophilus* fue en promedio de 29.60 mm, a las 48 horas de su aplicación este valor disminuyó hasta 26.86mm. Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento de la *Caesalpinia Spinosa* al 100% es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

## GRÁFICO N° 4

### COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 100% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.



**TABLA N° 5**  
**COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DEL**  
**GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE EL LACTOBACILLUS**  
**ACIDOPHILUS.**

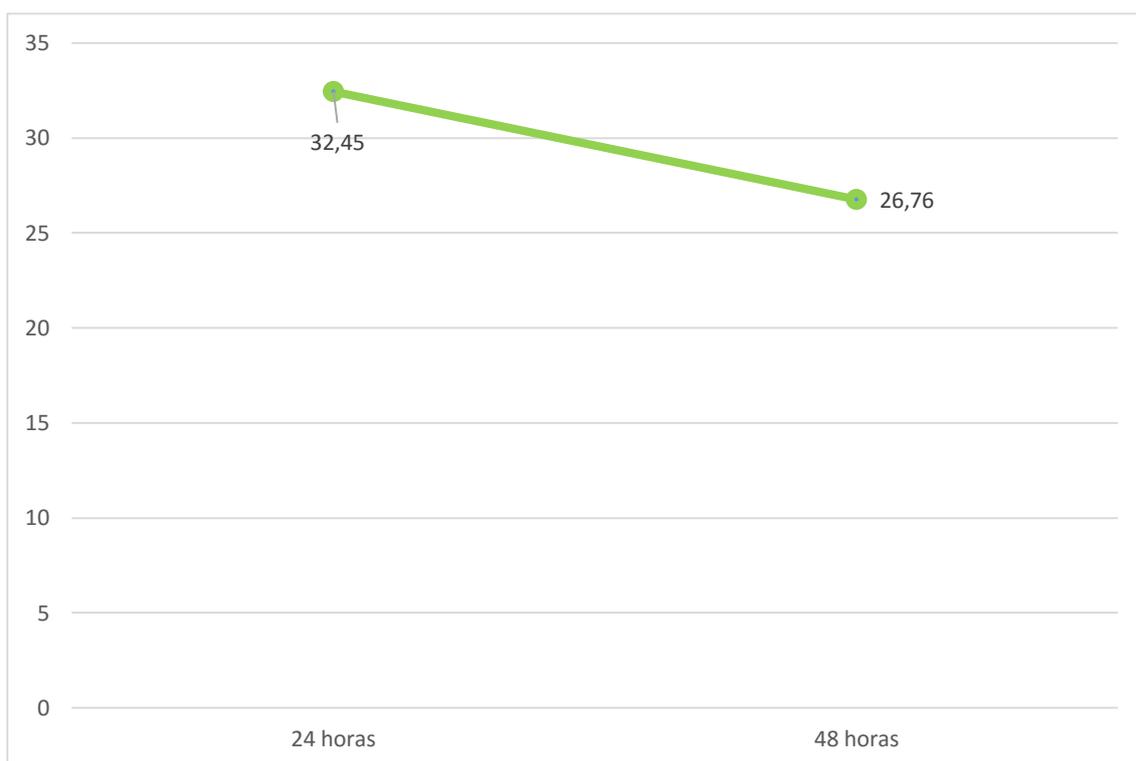
G. Clorhexidina	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	32.45	26.76
Desviación Estándar	10.29	2.70
Halo Mínimo	23.57	24.53
Halo Máximo	49.58	31.19
Total	5	5
Fuente: Matriz de datos	P = 0.266 (P ≥ 0.05) N.S.	

**INTERPRETACIÓN:**

La presente tabla nos muestra que a las 24 horas, el halo formado por el Gluconato de Clorhexidina al 2% sobre el Lactobacillus Acidophilus fue en promedio de 32.45 mm, a las 48 horas de su aplicación este valor disminuyó hasta 26.76 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento del Gluconato de Clorhexidina al 2% es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

### GRÁFICO N° 5

**COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DEL  
GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE EL LACTOBACILLUS  
ACIDOPHILUS.**



**TABLA N° 6**

**COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA AMOXICILINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**

Amoxicilina	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	41.55	37.69
Desviación Estándar	5.23	4.91
Halo Mínimo	36.44	32.17
Halo Máximo	47.59	45.32
Total	5	5
Fuente: Matriz de datos	P = 0.264 (P ≥ 0.05) N.S.	

**INTERPRETACIÓN:**

La presenta tabla nos muestra que a las 24 horas, el halo formado por la Amoxicilina sobre el Lactobacillus Acidophilus fue en promedio de 41.55 mm , a las 48 horas de su aplicación este valor disminuyó hasta 37.69 mm . Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento de la Amoxicilina es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

### GRÁFICO N° 6

#### COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DE LA AMOXICILINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.



**TABLA N° 7****COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CAESALPINIA SPINOSA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**

Halo Inhibición 48 horas	Grupo de Estudio		
	C.S. 40%	C.S. 60%	C.S. 100%
Media Aritmética	16.29	14.74	26.86
Desviación Estándar	1.59	1.15	4.92
Halo Mínimo	14.08	13.32	23.69
Halo Máximo	18.12	15.88	35.38
Total	5	5	5

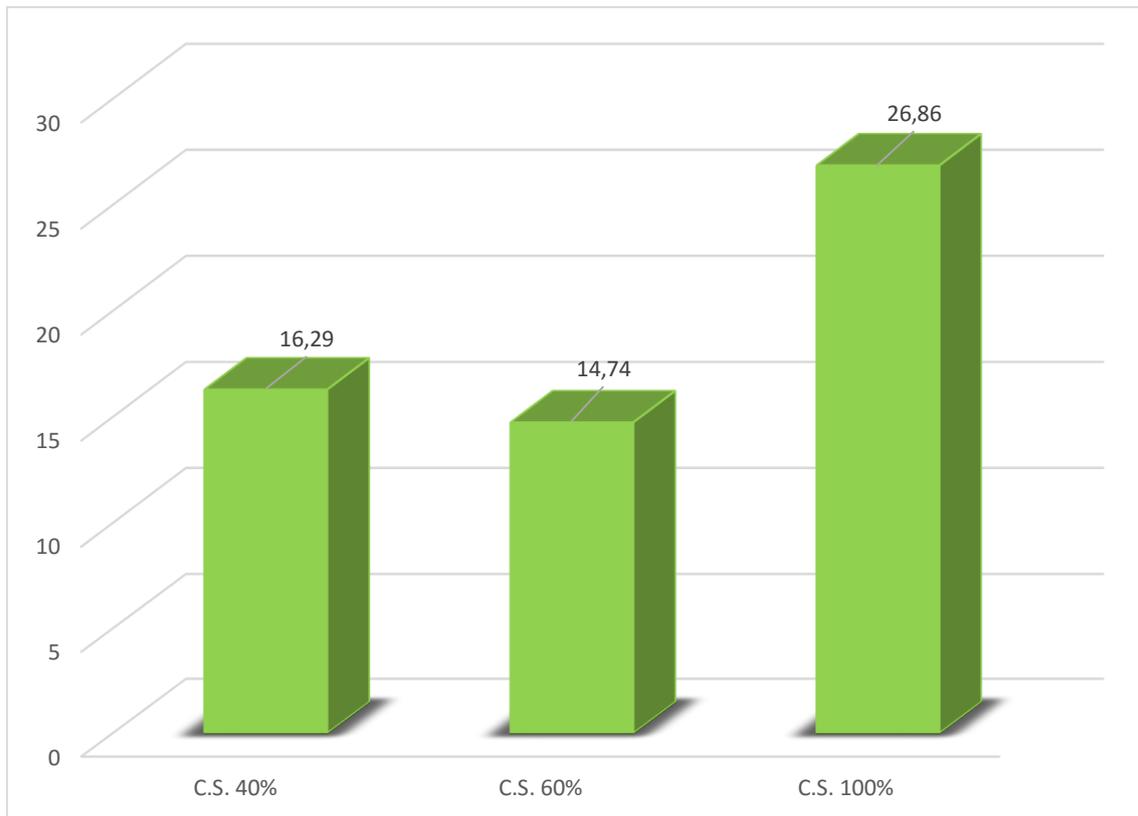
Fuente: Matriz de datos P = 0.000 (P < 0.05) S.S.

**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar que a las 48 horas de aplicado el estímulo, el halo de inhibición observado en la concentración del 40% de la Caesalpinia Spinosa es en promedio de 16,29 mm , en tanto a la concentración de 60% alcanzó un valor de 14.74 mm y al 100% este valor llegó hasta 26.86mm. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, la Caesalpinia Spinosa al 100% fue la que mostró mejor ventaja competitiva que las demás en este momento de tiempo.

## GRÁFICO N° 7

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CAESALPINIA SPINOSA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**



**TABLA N° 8****COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 100% Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**

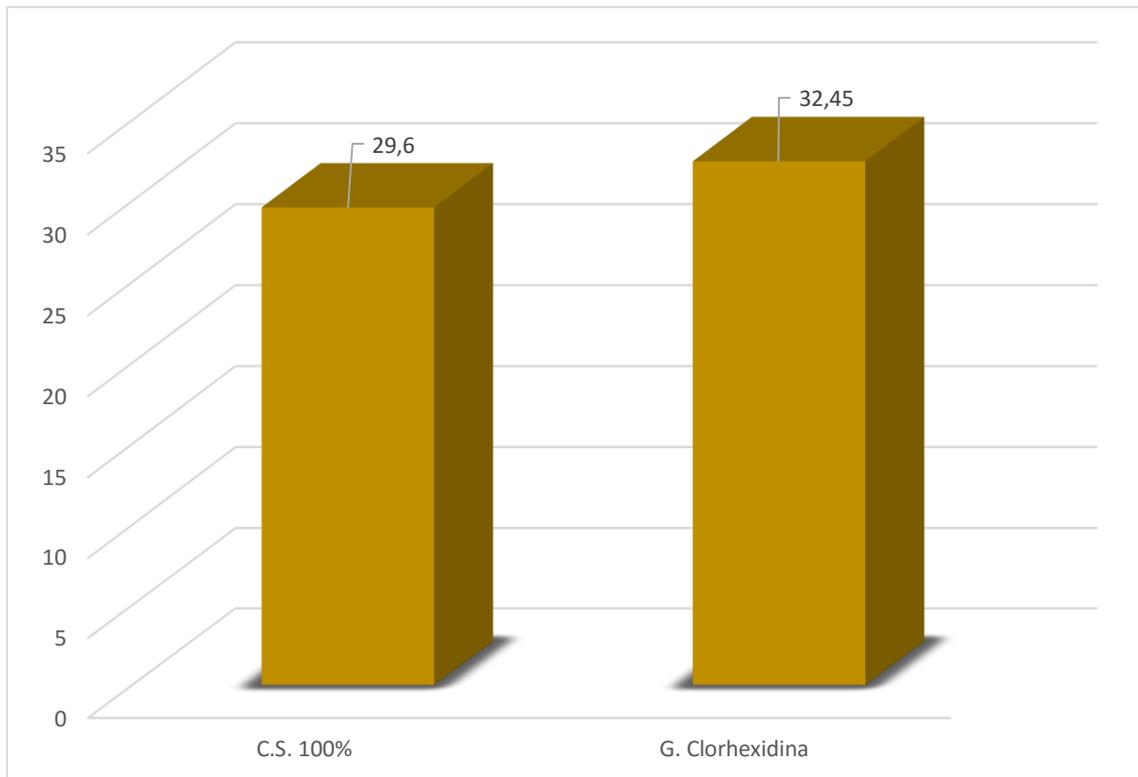
Halo de Inhibición 24 horas	Grupo de Estudio	
	C.S. 100%	G. Clorhexidina
Media Aritmética	29.60	32.45
Desviación Estándar	2.02	10.29
Halo Mínimo	27.30	23.57
Halo Máximo	32.82	49.58
Total	5	5
Fuente: Matriz de datos	P = 0.561 (P ≥ 0.05) N.S.	

**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 horas de aplicados los estímulos, la Caesalpinia Spinosa al 100% logró un halo de inhibición promedio de 29.60 mm, en tanto, el Gluconato de Clorhexidina al 2% llegó a un valor promedio de 32.45 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, la Caesalpinia Spinosa al 100% es igual de competitiva que el Gluconato de Clorhexidina al 2% sobre los Lactobacillus Acidophilus.

### GRÁFICO N° 8

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 100% Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**



**TABLA N° 9****COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 100% Y LA AMOXICILINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**

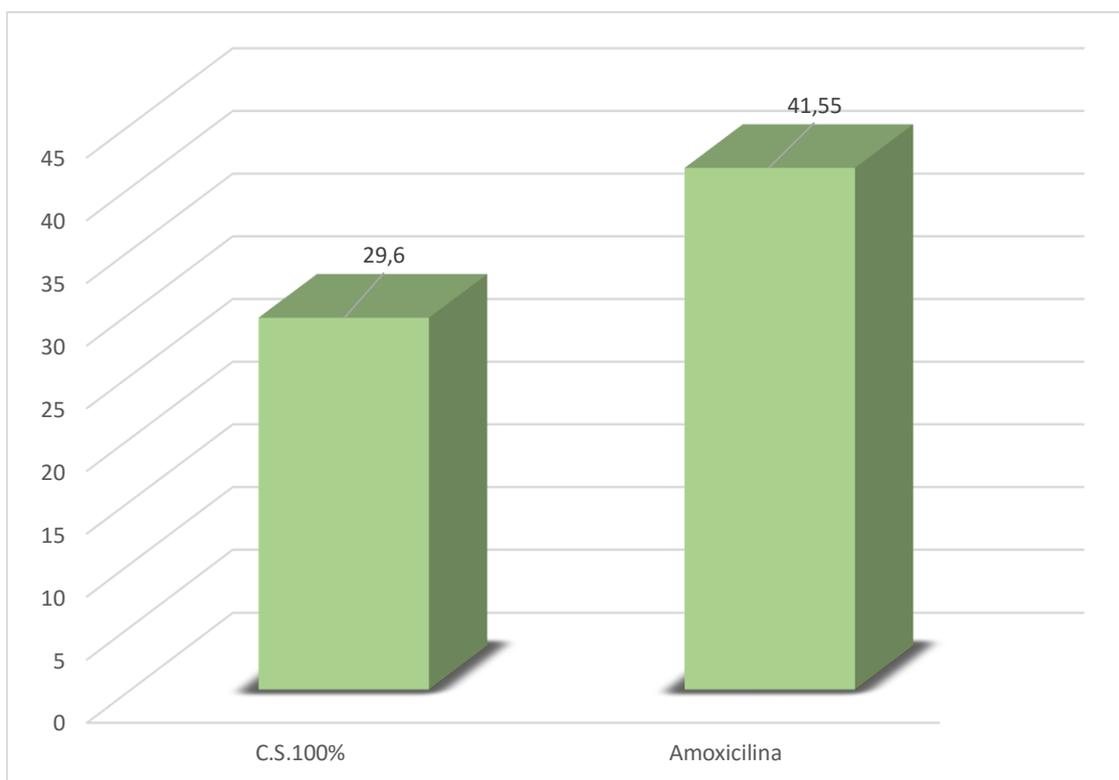
Halo de Inhibición 24 horas	Grupo de Estudio	
	C.S.100%	Amoxicilina
Media Aritmética	29.60	41.55
Desviación Estándar	2.02	5.23
Halo Mínimo	27.30	36.44
Halo Máximo	32.82	47.59
Total	5	5
Fuente: Matriz de datos	P = 0.001 (P < 0.05) S.S.	

**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 horas de aplicados los estímulos, la Caesalpinia Spinosa al 100% logró un halo de inhibición promedio de 29.60 mm, en tanto, la Amoxicilina llegó a un valor promedio de 41.55 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, la Amoxicilina es mejor que la Caesalpinia Spinosa al 100% sobre los Lactobacillus Acidophilus.

### GRÁFICO N° 9

COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 100% Y LA AMOXICILINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.



**TABLA N° 10****COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 100% Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**

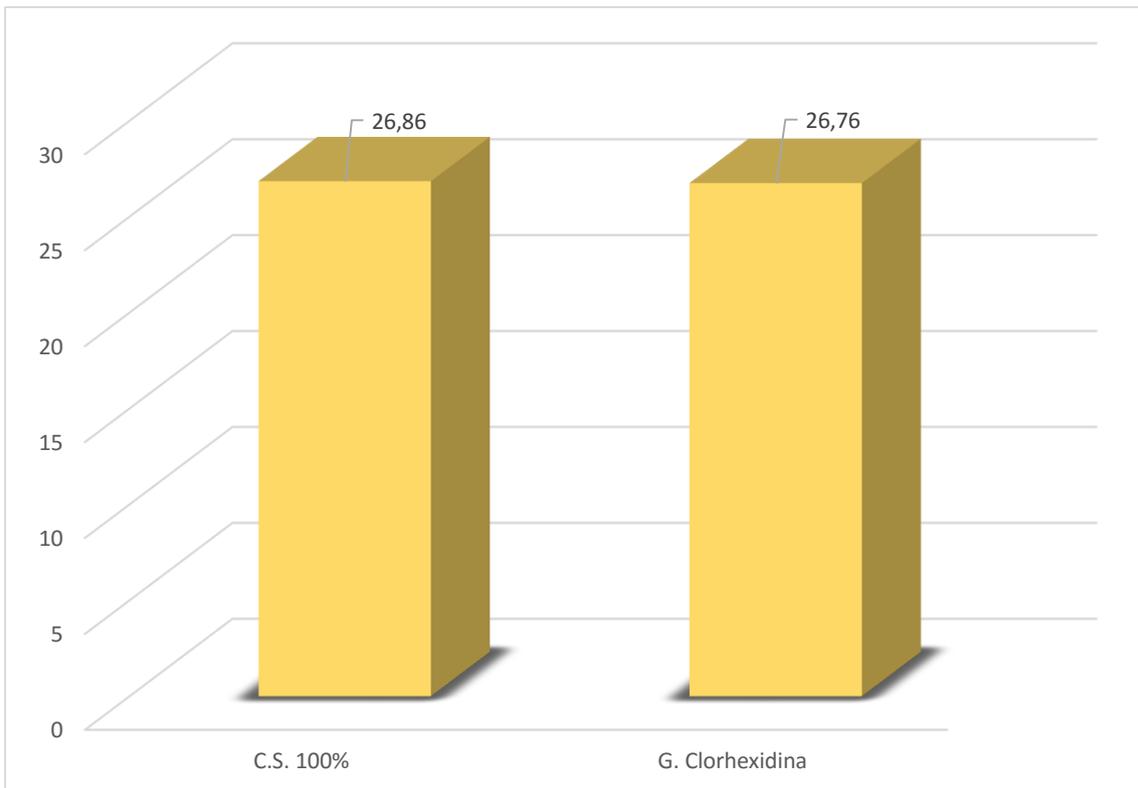
Halo de Inhibición 48 horas	Grupo de Estudio	
	C.S. 100%	G. Clorhexidina
Media Aritmética	26.86	26.76
Desviación Estándar	4.92	2.70
Halo Mínimo	23.69	24.53
Halo Máximo	35.38	31.19
Total	5	5
Fuente: Matriz de datos	P = 0.968 (P ≥ 0.05) N.S.	

**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar que a las 48 horas de aplicados los estímulos, la Caesalpinia Spinosa al 100% logró un halo de inhibición promedio de 26.86 mm, en tanto, el Gluconato de Clorhexidina al 2% llegó a un valor promedio de 26.76 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, la Caesalpinia Spinosa al 100% es igual de competitiva que el Gluconato de Clorhexidina al 2% sobre los Lactobacillus Acidophilus.

### GRÁFICO N° 10

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 100% Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**



**TABLA N° 11**

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 100% Y LA AMOXICILINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**

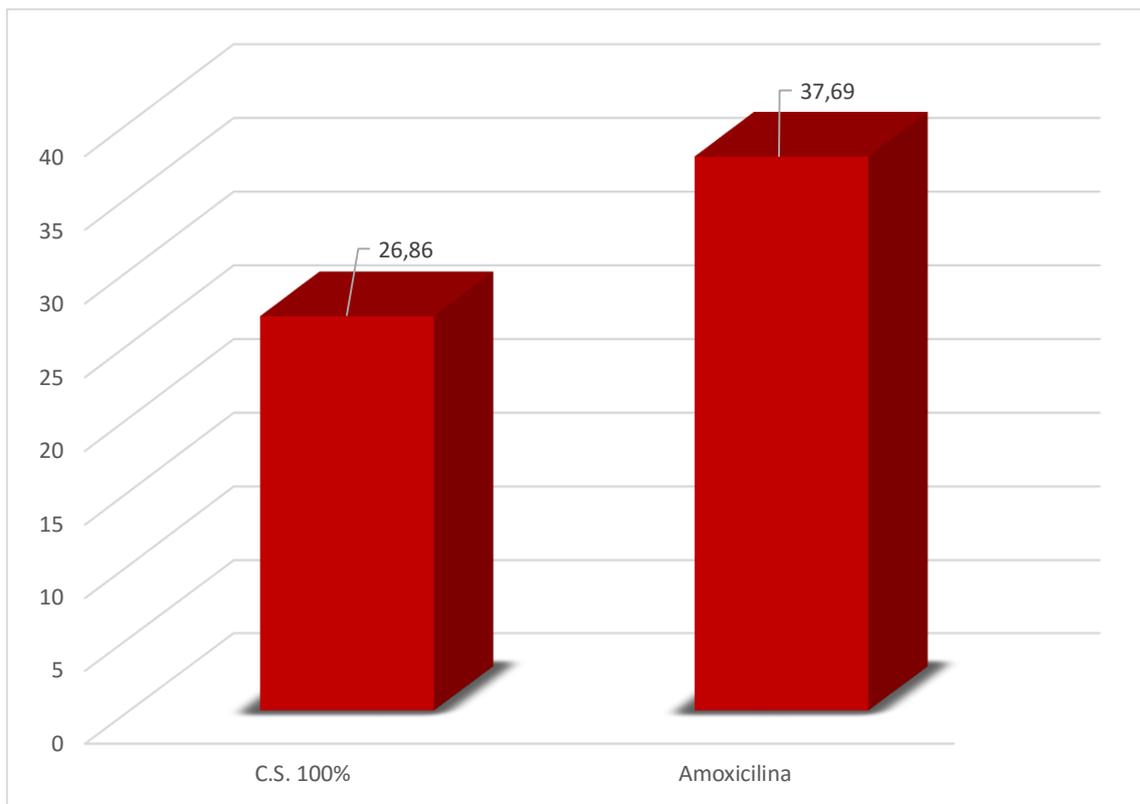
Halo de Inhibición 48 horas	Grupo de Estudio	
	C.S. 100%	Amoxicilina
Media Aritmética	26.86	37.69
Desviación Estándar	4.92	4.91
Halo Mínimo	23.69	32.17
Halo Máximo	35.38	45.32
Total	5	5
Fuente: Matriz de datos	P = 0.008 (P < 0.05) S.S.	

**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar que a las 48 horas de aplicados los estímulos, la Caesalpinia Spinosa al 100% logró un halo de inhibición promedio de 26.86, en tanto, la Amoxicilina llegó a un valor promedio de 37.69. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, la Amoxicilina es mejor que la Caesalpinia Spinosa al 100% sobre los Lactobacillus Acidophilus.

### GRÁFICO N° 11

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 100% Y LA AMOXICILINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**



**TABLA N° 12**

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 Y 48 HORAS ENTRE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 40%, 60%, 100%, GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% Y LA AMOXICILINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.**

	<b>C. S. 40%</b>	<b>C. S. 60%</b>	<b>C. S. 100%</b>	<b>Gluconato de Clorhexidina</b>	<b>Amoxicilina</b>
<b>24 horas</b>	18,07	15,72	29,60	32,45	41,55
<b>48 horas</b>	16,29	14,74	26,86	26,76	37,69

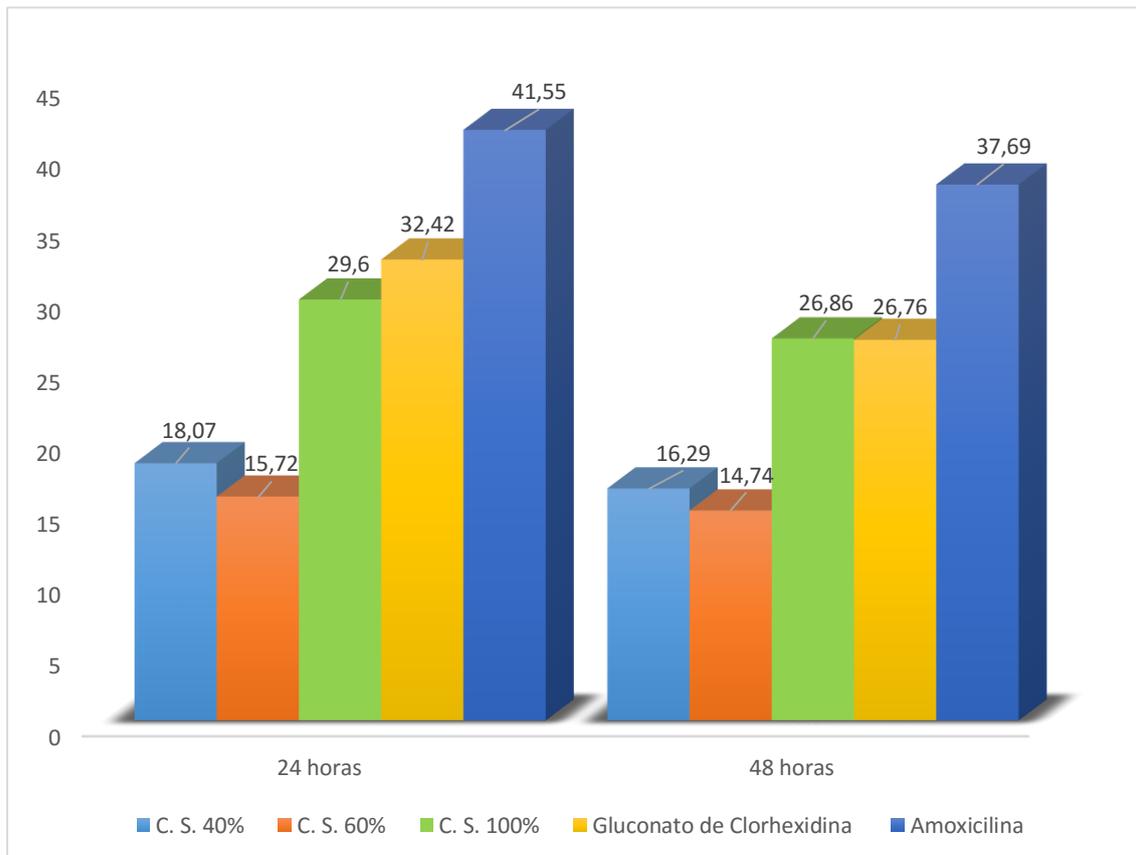
Fuente: Matriz de datos

**INTERPRETACIÓN**

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 y 48 horas de aplicados los estímulos, la Caesalpinia Spinosa al 40% logró un halo de inhibición promedio de 18,07 mm y de 16,29mm; al 60% fue en promedio 15,72 mm y 14,74 y al 100% llegó a 29,60 mm y 26.86 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, la Caesalpinia Spinosa al 100% fue la que mostró mejor ventaja competitiva que las demás en ambos momentos de tiempo. Respecto al Gluconato de Clorhexidina al 2%, obtuvo un promedio de 32,45 mm y 26,76 mm. En relación a la Amoxicilina, en estos dos momentos, evidenció valores promedios de 41.55 mm y 37.69 mm. Comparando el Gluconato de Clorhexidina al 2% y la Caesalpinia Spinosa al 100% no se encontraron diferencias significativas, es decir, la Caesalpinia Spinosa al 100% es igual de competitiva que el Gluconato de Clorhexidina al 2%. Finalmente, la Amoxicilina es mejor que la Caesalpinia Spinosa al 100% y el Gluconato de Clorhexidina al 2% sobre los Lactobacillus Acidophilus.

## GRÁFICO N° 12

**COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 Y 48 HORAS ENTRE LA CAESALPINIA SPINOSA AL 40%, 60%, 100%, GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2% Y LA AMOXICILINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS**



## DISCUSIÓN

En nuestros tiempos se viene empleando diversos preparados a base de plantas con fines medicinales, para tratar distintas infecciones, sin conocer a plenitud su efectividad. Solo un verdadero estudio científico podrá corroborar o desvirtuar aquellas creencias permitiéndonos además ir conociendo la amplitud de su espectro.

Es así que en la actualidad existen estudios respecto al poder antibacteriano de la *Caesalpinia spinosa* que han demostrados su efectividad frente a diversos tipos de microorganismos como el *Enterococcus Faecalis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivali*, *Candida Albicans*, etc. Pero no habiéndose hecho de forma específica sobre el *Lactobacillus acidophilus* que es una bacteria que se encuentra en los conductos necróticos de piezas deciduas

En el presente estudio de tipo experimental, se demostró el efecto antibacteriano in vitro de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) en diferentes concentraciones sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356, utilizando tres concentraciones diferentes al 40%, 60% y 100%.

Se ha demostrado que la concentración que tuvo mejores resultados fue al 100% y que comparado con el Gluconato de Clorhexidina no existe diferencias significativas. En el estudio por Haro Valencia <sup>21</sup>, Flores Armas <sup>43</sup>, Bornaz Acosta<sup>36</sup> realizado en el año 2015, 2011 y 2014 se demostró también un considerable efecto antibacteriano sobre el *Enterococcus. Faecalis*.

Así mismo en la investigación de López Flores <sup>53</sup>, y Liu B., en los años 1998 y 2002 en los cuales realizaron un ensayo sobre la actividad antimicrobiana del extracto de tara obtenido de las vainas, en este se determinó la acción antimicrobiana frente a las bacterias Grampositivas y Gramnegativas, lo cual coincide con el resultado de nuestro ya que el *Lactobacillus acidophilus* es una bacteria Gram Positivo.

Por otro lado Escobar Bobadilla en el año 2008 <sup>42</sup> Realizo un estudio sobre el *Corynebacterium diphtheriae* utilizando el extracto alcohólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* “taya” a diferentes concentraciones cuyo resultado coincide con los encontrados en nuestro estudio ya que en este se demostró que a mayor concentración se obtiene un mayor diámetro del halo de inhibición es así que en ambos casos la concentración al 100% dieron los mejores resultados.

Araujo Díaz <sup>33</sup>, en el año 2009 hizo un trabajo sobre *Staphylococcus aureus* y en este estudio demostró su efecto bacteriostático, si bien es cierto que en nuestro análisis no se analizó la concentración mínima bactericida, si se comprobó un efecto antimicrobiano sobre el *Lactobacillus acidophillus*.

Así mismo en otra investigación realizada por Huarino Acho <sup>48</sup> en el 2011 se demostró que el extracto alcohólico de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* tiene efecto antibacteriano sobre la flora bacteriana mixta salival; y que a mayor concentración, hay mayor efecto antibacteriano cabe remarcar en dicho estudio se demostró una diferencia estadísticamente significativa favorable a la *Caesalpinia Spinosa* con respecto al Gluconato de clorhexidina al 0.12%. Comparando los resultados de nuestro estudio en nuestro grupo control el Gluconato de clorhexidina al 2 % no se encontraron una diferencia significativa con la concentración al 100%, cabe recordar que las concentraciones en ambos estudios fueron diferentes.

Montenegro Chipana, <sup>55</sup> en su trabajo el 2014 determino el efecto antibacteriano sobre *Porphyromonas gingivalis* en el cual no se encontraron diferencias significativas entre las diferentes concentraciones, ni tampoco con el grupo control lo cual se diferencia de nuestros resultados con el *Lactobacillus acidophillus* pero cabe recalcar que los procedimientos utilizados para la obtención del extracto de la *Caesalpinia Spinosa* fue diferentes al empleado en la presente investigación.

Como se ha visto anteriormente la *Caesalpinia Spinosa* tara se ha comprobado su efectividad en diferentes microorganismos cabe recalcar el estudio de

Guevara G, José <sup>45</sup> que demostró que el cocimiento de tara tiene actividad antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus*. Esto es un aporte importante para la salud pública, en referencia a la resistencia bacteriana de los antibióticos.

En la investigación realizada por Centurión Villar <sup>39</sup> y Abanto Vilca <sup>32</sup>, en el año 2015 y 2016 demostraron un efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre el *Streptococcus mutans*, en estas investigaciones se usaron concentraciones bajas y se comprobó el efecto antibacteriano ante dicha bacteria. Lo cual se sugiere su utilización para el tratamiento natural de la caries dental, a diferencia de nuestro estudio donde la concentración efectiva fue al 100%.

En la actualidad no se ha demostrado una actividad antifúngica significativa de la *Caesalpinia spinosa* sobre el *Candida albicans* a diferencia de todos los microorganismos vistos anteriormente incluyendo el *Lactobacillus acidophilus* motivo del estudio presente.

Como hemos visto anteriormente hay estudios que han utilizado el Gluconato de clorhexidina como grupo control a diferentes concentraciones teniendo estos resultados diversos pero lo que respecta a nuestro estudio actual es importante recalcar que los resultados obtenidos han demostrado que la *Caesalpinia Spinosa* al 100% es igual de competitivas que el Gluconato de Clorhexidina 2%.

## CONCLUSIONES

### PRIMERA:

La Caesalpinia Spinosa (Tara) al 40% mostró una actividad antibacteriana a las 24 horas de 18.07 mm y a las 48 horas de 16.29 mm. Comparando ambos momentos, no se encontró diferencias estadísticamente significativas.

### SEGUNDA:

La Caesalpinia Spinosa (Tara) al 60% mostró una actividad antibacteriana a las 24 horas de 15.72 mm y a las 48 horas de 14.74 mm. Comparando ambos momentos, no se encontró diferencias estadísticamente significativas.

### TERCERA:

La Caesalpinia Spinosa (Tara) al 100% mostró una actividad antibacteriana a las 24 horas de 29.60 mm y a las 48 horas de 26.86 mm. Comparando ambos momentos, no se encontró diferencias estadísticamente significativas.

### CUARTA:

El Gluconato de Clorhexidina al 2% mostró una actividad antibacteriana a las 24 horas de 32.45 mm y a las 48 horas de 26.76 mm. Comparando ambos momentos, no se encontró diferencias estadísticamente significativas. Respecto a la Amoxicilina, a las 24 horas su actividad antibacteriana fue de 41.55 mm y a las 48 horas de 37.69 mm, no se evidenció diferencias significativas entre ambos momentos.

### QUINTA:

Comparando las diferentes concentraciones de Caesalpinia Spinosa, podemos afirmar que tanto a las 24 como a las 48 horas, la concentración al 100% fue la mejor. Así mismo, hemos encontrado que esta concentración es igual de competitiva que el Gluconato de Clorhexidina, sin embargo es inferior en efecto que la Amoxicilina. Según los datos obtenidos la hipótesis se acepta.

## RECOMENDACIONES

### **PRIMERA:**

Se recomienda hacer estudios experimentales sobre otros microorganismos utilizando la *Caesalpinia spinosa* con el fin de conocer el espectro de forma más precisa.

### **SEGUNDA:**

Se recomienda hacer otros estudios para conocer la concentración mínima inhibitoria.

### **TERCERA:**

Se recomienda hacer estudios de investigación en niños, utilizando el extracto de *Caesalpinia spinosa* como medicación intracanal en tratamiento endodóntico de piezas deciduas, para lo cual se sugiere hacer un seguimiento clínico.

### **CUARTA:**

Se recomienda hacer estudios comparativos entre el extracto crudo de la *Caesalpinia spinosa* y el cocimiento de esta con el fin de determinar si existen diferencias respecto a su efectividad antibacteriana.

### **QUINTA:**

Se recomienda hacer estudios sobre la biología molecular con el objetivo de estudiar los procesos que se desarrollan en la *Caesalpinia spinosa* desde el punto de vista molecular.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lorenzo Basurto. ALNICOLSA- Productos Agroindustriales de Exportación. Disponible en: <http://taninos.tripod.com/>. 07/10/16 08:00 am.
2. MANRIQUE J. Estudio de la arquitectura de caesalpinia tinctoria (Tara) en las lomas de Mejía. Pág 4.
3. La Tara planta medicinal su descripción distribución usos cultivo comercio Disponible en: <http://riie.com.pe/?a=29384> 07/10/16 09:00 am.
4. Tara en Polvo Disponible en: <http://www.taraexport.com/?cont=2&idioma=es> 07/10/16 10:00 am.
5. CHANG ZL. Estudio farmacognóstico de las semillas de Caesalpinia spinosa kuntze (Tara). Tesis.
6. Kondo K, Takaishi Y, Shibata H, Higuti T. Iismrs (Intensifier of beta-Lactam Susceptibility in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) from Tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. J Phytotherapy And Phytopharmacology. 2006; 13:209-212.
7. VJLCHEZ LD, Determinación de la composición química de la semilla de Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze S.V. mediante técnicas cromatográficas y de coloración.
8. Cabello Liu Isabel. Desarrollo de monografías para cinco cultivos peruanos del Proyecto Perubiodiverso.
9. REDFORD. La Tara- Alternativa para el desarrollo de la sierra. Ob.cit. pp.44-45.
10. Araujo Díaz J, Salas Asencios R. Actividad antimicrobiana de plantas. Revista Científica de la Universidad Científica del Sur. Lima, Perú [Internet]; Disponible en: <http://documentslide.com/documents/actividad-antimicrobiana-de-plantas.html#>.
11. Efecto antibacteriano de Caesalpinia spinosa (Tara) sobre flora salival mixta. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2012\\_n1/pdf/a08v15n1.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2012_n1/pdf/a08v15n1.pdf). 07/10/16 11:00 am.
12. Modak, Brenda. Actividad Antibacteriana De Flavonoides Aislados del Exudado Resinoso de Heliotropium Sinuatum: Efecto del Tipo De Estructura. Disponible

- en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0366-16442002000100005](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-16442002000100005) 07/10/16 12:00 am.
13. Kuklinski C. Farmacognasia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1ra ed. Barcelona-España: Omega. 2000:112-114.
  14. Idana Rodríguez. Tanino. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/55448122/Tanino> 07/10/16 02:00 pm.
  15. GENNARO, Alfonso R. Remington Farmacia 20ª ed. Buenos Aires Argentina: Medica Panamericana.
  16. BRUNETON, Jean. Farmacognosia. p. 380
  17. LINDHE Jan, Periodoncia Clínica e Implantología Odontológica, Pág. 495-500.
  18. WOLF Herbert. *Periodoncia. Pág 235*
  19. HAUMAN Ch. *Biocompatibilidad de materiales dentales usados en terapia endodontica contemporánea: una revisión. Parte 1 Sustancias y Drogas intracanal. Int Endod J 2003;36:p. 76*
  20. MAYRON Nevins. *Terapia Periodontal Enfoques Clínicos y Evidencia de Éxito, Pág 118.*
  21. ZAMMANY A, *The Effects of chlorhexidine as an endodontic disinfectante. Oral surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2003;p.578*
  22. YELSILSOY C. *Antimicrobial and Toxics Effects of established and potential root canal irrigants J Enodod 1995; 21(10):p.513*
  23. Lanzagorta María, *Estudio Comparativo del Gluconato de Clorhexidina e Hipoclorito de Sodio una alternativa en la desinfección de Conos de Gutapercha. Endodoncia Actual ; p. 8-10.,2006*
  24. [http://javeriana.edu.co/Facultades/Odontologia/posgrados/acadendo/art\\_revisio/revisio\\_2006/i\\_a\\_revisio40.html](http://javeriana.edu.co/Facultades/Odontologia/posgrados/acadendo/art_revisio/revisio_2006/i_a_revisio40.html).p.38.
  25. MOUTON C. Robert. "Bacteriología bucodental", Principales bacteria orales .Barcelona: Masson S.A. pág. 49-87
  26. LIEBANA UREÑA. "Microbiología Oral" 2da ed. Interamericana-McGraw Hill, 2002. Composición y ecología de la microbiología oral. Pág. 402-7

27. NAVIA, M, Shin. "Identificación y cuantificación Microbiológica de las bacterias en conductos necróticos canal abierto" Revista de la sociedad de Endodoncia de Chile N.-12 2005
28. MUNANTE, José Luis. Identificación de Microorganismo anaerobios estrictos y facultativos frecuentes en necrosis pulpares.
29. STOCK, Christopher J.R. y Cols. Atlas en color y texto de endodoncia, Segunda Ed.1996, p 85.
30. BOTTTINO, Marco Antonio. Nuevas tendencias: Endodoncia. Sao Paulo, Editorial Artes Medicas Ltda, 2008 p. 69
31. CUNHA PAZELLI, L. et al. Prevalence of microorganisms in root canals of human deciduous teeth with necrotic pulp and chronic periapical lesions, Brazilian Oral Research, 17 (4), p. 367-371.
32. Abanto Vilca, Magaly. Efecto Antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Streptococcus mutans* ATCCC 25175. Tesis para optar el grado de bachiller en estomatología. Facultad de Medicina. Escuela de Estomatología. Universidad Nacional de Trujillo. 2016.
33. Araujo Díaz, Jorge, Salas Asencios, Ramsés. Actividad antimicrobiana del extracto crudo de la vaina de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente al *Staphylococcus aureus*. Revista *Científica*, 6 (N°2) ,142-155. 2009. Lima – Perú.
34. Bobadilla Tejada, Erika Z. Efecto in Vitro de la *Caesalpinia Spinosa* (Tara) en el halo inhibitorio de la microflora de la placa bacteriana supragingival en niños de 7 a 12 años de la institución educativa 40019 Juventud Ferroviaria Arequipa 2005 Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista. Universidad Católica de Santa María.
35. Bobadilla Tejada, Erika Z. Efecto in Vitro de un enjuagatorio bucal de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) en el crecimiento del *Streptococo Mutans* aislado de la placa bacteriana del dorso de la lengua en niños de 8 años, Institución Educativa 40143 San Pedro. Arequipa. 2012. Tesis para optar el Título de Segunda Especialidad en Odontopediatria. Universidad Católica de Santa María. 2013.

36. Bornaz Acosta, Juan Guillermo. Bornaz Arenas, Vanessa Lisethe. Bornaz Arenas, Milagros Katherine. Efecto in vitro de la solución de *caesalpinia espinosa* (tara) al 60%, e hidróxido de calcio y gluconato de clorexhidina al 2% en el halo inhibitorio microbiano de *Enterococcus faecalis*. Revista de Investigación Científica Ciencia y Desarrollo N°18 pagina 13 Año 2014 Tacna-Perú.
37. Bornaz Arenas, Vanessa Liseth. Efecto inhibitorio de la Solución de Caelsepina Spinosa al 60% e Hidróxido de Calcio y Gluconato de Clorhexidina al 2% en el Halo inhibitorio de Enterococcus Faecalis. Tesis para optar el Título de Segunda Especialidad en Careología y Endodoncia. Universidad Católica de Santa María. Arequipa 2012.
38. Cabello L. Isabel. Monografía de Tara-Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze.Lima. Agroindustria, MINAG, Perú Produce el 80% de la Tara a Nivel Mundial. Octubre 2010
39. Centurión Villar, Karina Mercedes. Efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668". Tesis para obtener el grado de maestro en estomatología. Escuela de postgrado de medicina Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo. 2015.
40. Collantes Galvez, Yessenia Karol. Efecto de la pasta 3mix – mp y pasta ctz frente a Porphyromonas Gingivalis, Streptococcus Mitis, Enterococcus Faecalis y Lactobacillus Acidophilus, en necrosis pulpar de piezas deciduas infectadas. Arequipa 2012. Tesis para optar el Título profesional de Cirujano Dentista. Universidad Católica de Santa María. 2013.
41. De la Cruz Lapa, Primo. Aprovechamiento Integral y racional de la tara Caesalpinia Spinosa - Caesalpinia Tinctoria. Revista del Instituto de Investigación FIGMMG. Vol. 7, N.º 14, 64-73 (2004) Universidad Nacional Mayor de San Marcos. ISSN: 1561-0888.
42. Escobar Bobadilla, Luis Enrique. Chávez Castillo, Milciades. Efecto in vitro de diferentes concentraciones de extracto alcohólico de Caesalpinia Spinosa (Molina) Kuntze, sobre la viabilidad de Corynebacterium

diphtheriae. *Rev. Med. Vallejana*, Lima 2008, vol.5, no.1, p.28-37. ISSN 1817-2075.

43. Flores Armas, Cintya Liset. Efecto Inhibitorio In Vitro Del Extracto Etanolico De Caelsepina Spinosa Taya Sobre Las Cepas De Enterococcus Faecalis ATCC 292112. Tesis para optar el grado de bachiller en estomatología. Facultad de Medicina. Escuela de Estomatología. Universidad Nacional de Trujillo. 2011
44. Gómez Muñoz, José Antonio. Efecto in vitro del extracto de Caesalpinia Spinosa y gluconato de clorhexidina al 0.12% en la actividad antifúngica sobre la cándida albicans Arequipa 2009. Tesis para optar el Grado Académico de Magister en Odontoestomatología. Universidad Católica de Santa María. 2010
45. Guevara G, José María; Guevara G. Juan Carlos; Bejar Vilma. Evaluación del cocimiento de diferentes biovariedades de Caesalpinia Spinosa (tara) frente a cepas de Staphylococcus aureus sensibles y resistentes a oxacilina. *An. Fac. med.* [online]. 2014, vol.75, n.2, pp. 177-180. ISSN 1025-5583. Lima – Perú.
46. Haro Valencia, Adriana Belén. Estudio in vitro de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de Caesalpinia Spinosa (tara) al 100% e hipoclorito de sodio al 5,25% sobre el enterococcus faecalis. Tesis previa a la obtención del título de Odontólogo. Facultad de Odontología. Universidad Central de Ecuador. 2015.
47. Huaman Morales, Alicia del Carmen. Efecto antimicrobiano in vitro del Nitrato de Plata Al 35%, 40%, 44% y Fluoruro Diamino de Plata al 30% en el crecimiento de Lactobacillus Acidophilus, Universidad Católica de Santa María Arequipa, 2015. Tesis para optar el Título profesional de Cirujano Dentista. Universidad Católica de Santa María. 2015.
48. Huarino Acho, Mariella. Efecto antibacteriano de Caesalpinia spinosa (tara) sobre flora salival mixta. Tesis para optar el Título Profesional De Cirujano Dentista. E.A.P. de odontología. Facultad de odontología. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. 2011.

49. Lana M. A., Ribeiro Sobrinho A. P., Stehling R., García G. D., Silva B. K. c., Hamdan J. S., Nicolli J. R., Carvalho M. A. R. and Farias L. D. M. Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drugs susceptibility in vitro. *Oral Microbiology Inmunology* . 2001, 16: 100-105.
50. León Ticona, Vanessa. Efecto antibacteriano in vitro de la Stevia Rebaudiana Bertoni y del Gluconato de Clorhexidina Al 0,12% En El Lactobacillus Acidophilus en el laboratorio de microbiología de la UCSM 2011. Tesis para optar el Título profesional de Cirujano Dentista. Universidad Católica de Santa María. 2011.
51. Liu B., Humberto; Lengua V., Luis Alberto; León M., Gladys; La Torre D., Carla; Huapaya Y., José; Chauca, José. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de Caesalpinia Spinosa tara y Eucalyptussp. eucalipto .*RevHorizMed*. 2002; 2(1-2):40-44. Lima- Perú.
52. Lock de Ugaz, O. Investigación Fotoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. 2º ed. Perú: Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
53. López Flores, Carmen, Virginia Garró, Victoria Yrei, Gallardo, Teresa. Acción antimicrobiana Caesalpinia tintoria (molina) kuntze o tara, de diferentes regiones del Perú. ciencia e investigación: Unmsm. Facultad De Farmacia Y Bioquímica Vol. 1 N° 1 - Junio 1998
54. Mamani Palma, Neydher Fiorella. Efecto in vitro de la pasta ctz pura y modificada y del formocresol sobre el Fusobacterium Nucleatum, El Lactobacillus Acidophyllus y la Porphyromona Gingivalis prevalentes en piezas deciduas necróticas con absceso en los laboratorios de microbiologia de la UCSM, Arequipa 2014. Tesis para optar el Título profesional de Cirujano Dentista. Universidad Católica de Santa María. 2016.
55. Montenegro Chipana, Alex. Actividad antibacteriana de Caesalpinia Spinosa (tara) sobre porphyromonas gingivalis. Tesis Para optar el título profesional de cirujano dentista. E.A.P. de odontología. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. 2014

56. Mora Valdivia, David Manuel. Estudio in vitro de la pasta Walkhoff y Óxido de Zinc- Eugenol sobre la flora bacteriana de conductos radiculares de molares temporales con necrosis pulpar en niños de 4ª 8 años de edad. Arequipa 2000. Tesis para optar el Título profesional de Cirujano Dentista. Universidad Católica de Santa María. 2001.
57. Muñante Cárdenas, José Luis. Identificación de microorganismos anaerobios facultativos y anaerobios estrictos frecuentes en necrosis pulpares. Tesis para optar el título de Cirujano Dentista E.A.P. De Odontología. Facultad De Odontología. Universidad Nacional Mayor De San Marcos.2005.
58. Pérez Salazar, Roberto Carlos; Carrasco Loyola, Milagros. Crecimiento in vitro de Streptococcus Mutans y Lactobacillus Acidophilus en medios que contengan edulcorantes artificiales.Facultad de Odontología USMP. Kiru 3(1), 2006. Lima – Perú.
59. Sandoval Pérez Paola Cecilia. Efecto inhibitor del colutorio de ciruela pasa sobre Streptococcus Mutans y Lactobacillus Acidophilus, y comparación con dos colutorios comerciales. Tesis para optar el Título profesional de Cirujano Dentista. Facultad de odontología. Universidad Central del Ecuador. 2015.
60. Urbina Castro, Luis Miguel. Efecto antibacteriano in vitro de un enjuague bucal a diferentes concentraciones a base de extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Tesis para optar el grado de bachiller en estomatología. Facultad de Medicina. Escuela de Estomatología. Universidad Nacional de Trujillo. 2016.
61. Vitery Sapuyes, Gabriel Ricardo; Escribano Vargas, Sandra. Actividad inhibitoria de la Stevia Rebaudiana sobre el Lactobacillus Acidophilus y el Streptococcus Mutans. Revista Nacional de Odontología. Volumen 6, Número 10. 2010. Colombia.
62. Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, Sousa E, Teixeira F, Souza-Filho F. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. International Endodontic Journal 2003: 36; 1-11.

# **ANEXOS**

## ANEXO N° 1

### INTRUMENTO DE RECOLECIÓN DE DATOS

GRUPO	Nro.	HALO INHIBITORIO (mm)	
		24 Hrs.	48 Hrs.
CEPA LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS CON CAESALPINIA SPINOSA AL 40%	1		
	2		
	3		
	4		

GRUPO	Nro.	HALO INHIBITORIO (mm)	
		24 Hrs.	48 Hrs.
CEPA LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS CON CAESALPINIA SPINOSA AL 60%	1		
	2		
	3		
	4		

GRUPO	Nro.	HALO INHIBITORIO (mm)	
		24 Hrs.	48 Hrs.
<b>CEPA LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS CON CAESALPINIA SPINOSA AL 100%</b>	1		
	2		
	3		
	4		

GRUPO	Nro.	HALO INHIBITORIO (mm)	
		24 Hrs.	48 Hrs.
<b>CEPA LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS CON GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2%</b>	1		
	2		
	3		
	4		

GRUPO	Nro.	HALO INHIBITORIO (mm)	
		24 Hrs.	48 Hrs.
<b>CEPA LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS CON AMOXICILINA</b>	1		
	2		
	3		
	4		

## ANEXO N° 2

### MATRIZ DE DATOS: HALOS DE INHIBICIÓN

N°	Grupo de Estudio	Medición	Halo Inhibición
1	C.S. 40%	24 horas	17,27
2	C.S. 40%	24 horas	17,58
3	C.S. 40%	24 horas	19,24
4	C.S. 40%	24 horas	18,03
5	C.S. 40%	24 horas	18,26
11	C.S. 60%	24 horas	15,51
12	C.S. 60%	24 horas	15,45
13	C.S. 60%	24 horas	16,24
14	C.S. 60%	24 horas	15,31
15	C.S. 60%	24 horas	16,1
21	C.S. 100%	24 horas	27,3
22	C.S. 100%	24 horas	32,82
23	C.S. 100%	24 horas	29,85
24	C.S. 100%	24 horas	28,81
25	C.S. 100%	24 horas	29,25
31	G. Clorhexidina	24 horas	28,82
32	G. Clorhexidina	24 horas	23,57
33	G. Clorhexidina	24 horas	26,42
34	G. Clorhexidina	24 horas	33,86
35	G. Clorhexidina	24 horas	49,58
41	Amoxicilina	24 horas	47,59
42	Amoxicilina	24 horas	36,44
43	Amoxicilina	24 horas	46,56
44	Amoxicilina	24 horas	37,08
45	Amoxicilina	24 horas	40,1
6	C.S. 40%	48 horas	15,92
7	C.S. 40%	48 horas	14,08
8	C.S. 40%	48 horas	15,83
9	C.S. 40%	48 horas	18,12
10	C.S. 40%	48 horas	17,54

<b>16</b>	C.S. 60%	48 horas	13,32
<b>17</b>	C.S. 60%	48 horas	15,08
<b>18</b>	C.S. 60%	48 horas	13,75
<b>19</b>	C.S. 60%	48 horas	15,7
<b>20</b>	C.S. 60%	48 horas	15,88
<b>26</b>	C.S. 100%	48 horas	23,82
<b>27</b>	C.S. 100%	48 horas	35,38
<b>28</b>	C.S. 100%	48 horas	26,84
<b>29</b>	C.S. 100%	48 horas	24,59
<b>30</b>	C.S. 100%	48 horas	23,69
<b>36</b>	G. Clorhexidina	48 horas	24,63
<b>37</b>	G. Clorhexidina	48 horas	26,54
<b>38</b>	G. Clorhexidina	48 horas	26,91
<b>39</b>	G. Clorhexidina	48 horas	31,19
<b>40</b>	G. Clorhexidina	48 horas	24,53
<b>46</b>	Amoxicilina	48 horas	35,46
<b>47</b>	Amoxicilina	48 horas	32,17
<b>48</b>	Amoxicilina	48 horas	38,95
<b>49</b>	Amoxicilina	48 horas	36,56
<b>50</b>	Amoxicilina	48 horas	45,32

## ANEXO N° 3

### DOCUMENTACIÓN SUSTENTATORIA



*Universidad Católica de Santa María*

(51 54) 382038 Fax:(51 54) 251213 ✉ ucsm@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe Apartado: 1350

AREQUIPA - PERÚ

### CONSTANCIA ESPECIAL N°0021-Coord.Lab-2016

LA QUE SUSCRIBE COORDINADORA DE LABORATORIOS DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA, DEJA CONSTANCIA QUE LA SEÑORITA:

**LESSLY BELÉN JIMÉNEZ SULLASI**

INSTITUCION EDUCATIVA : UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS. AREQUIPA.

HA DESARROLLADO EL PROYECTO DE TESIS, INTITULADO:

**“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE LA CAESALPINIA SPINOSA (TARA) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES (40% Y 60%) SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS, AREQUIPA, 2016”**

**PERIODO** : del 21 de octubre al 21 de noviembre del año 2016.

SE EXPIDE LA PRESENTE CONSTANCIA A SOLICITUD EXPRESA, Y PARA LOS FINES QUE CONVenga.

Arequipa, 2016,11.23.

  
Dr. JESÚS MARÍA ZAMBRANO SALAS DE CALLE  
COORDINADORA DE LABORATORIOS  
Y GABINETES  
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA



## CONSTANCIA

El Coordinador Académico de la Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Alas Peruanas – Filial Arequipa, que suscribe.

Deja constancia que:

**LESSLY BELÉN, JIMÉNEZ SULLASI**  
Código: 2010169363

Ha concluido satisfactoriamente el recojo de información para desarrollar su trabajo de investigación titulado *“Efecto antibacteriano in vitro de la Caesalpinia Spinosa (tara) en diferentes concentraciones sobre el Lactobacillus acidophilus. Arequipa-2016”*, en el mes de noviembre del presente año, en el laboratorio de Química General.

Dado el día miércoles, 14 de diciembre de 2016 en el local de la Universidad Alas Peruanas – Filial Arequipa situado en la urbanización Daniel Alcides Carrión G-14 del distrito de José Luis Bustamante y Rivero. Arequipa - Perú

Se expide el presente documento a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.



Dra. María Luz Nieto Muñel  
Coordinadora Académica  
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Lactobacillus acidophilus <b>Catalog Number:</b> 0243 <b>Lot Number:</b> 243-38 <b>Reference Number:</b> ATCC® 4356™* <b>Purity:</b> > 99.9% of Total Pellet CFU <b>Recovery:</b> N/A (Pellet is grown in MRS broth) <b>Passage from Reference:</b> 4	<b>Expiration Date:</b> 2018/1/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Carol J Stanoch <b>Release Date:</b> 2016/2/11
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Two colony types are present. The predominant colonies are medium to large, circular to slightly irregular, low convex, erose edge and rough; the other type is small, circular, convex, entire edge and smooth. Colonies are translucent and weakly alpha hemolytic.	<b>Medium:</b> CNA  <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> Vitek CBC (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative PCR Screen for Group B Streptococcus: negative    Brad Goskowicz, President AUTHORIZED SIGNATURE
<p><small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>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.</small></p> <p><small>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="151 1332 327 1400">  </div> <div data-bbox="438 1321 1436 1366"> <small>(*) 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.</small> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="151 1422 391 1590">  <p>TESTING CERT #2655.01</p> </div> <div data-bbox="438 1411 813 1444"> <small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small> </div> </div>	

Microbiologics

bioMerieux Customer: 05871  
System #: C21105

Laboratory Report

Printed Feb 8, 2016 10:31 CST  
Printed by: cjs  
Report Version: 1 of 1

Isolate Group: 243 36-1

Bench: CS

Card Type: CBC Testing Instrument: 00000A6D6328 (1116)

Bionumber: 11161103404650  
Organism Quantity:

<b>Comments:</b>	

<b>Identification Information</b>	<b>Card:</b> CBC	<b>Lot Number:</b> 246345020	<b>Expires:</b> May 25, 2016 13:00 CDT
	<b>Completed:</b> Feb 4, 2016 17:59 CST	<b>Status:</b> Final	<b>Analysis Time:</b> 8.00 hours
<b>Selected Organism</b>	99% Probability <b>Lactobacillus acidophilus</b>		
<b>SRF Organism</b>	<b>Bionumber:</b> 11161103404650 <b>Confidence:</b> Excellent identification		
<b>Analysis Organisms and Tests to Separate:</b>			
<b>Analysis Messages:</b>			
<b>Contraindicating Typical Biopattern(s)</b>			

<b>Biochemical Details</b>																	
2	APPA	+	4	dGAL	-	5	ODC	-	6	PheA	+	7	ARG	-	8	PVATE	-
9	BGAL	+	10	PYRA	-	11	SUCT	-	12	TyrA	(-)	13	dGLU	+	17	BGLU	+
18	dMAL	+	19	dMAN	-	21	BXYL	-	22	O/129 R	+	23	ProA	-	26	LIP	-
27	AMAN	-	30	dMLZ	-	31	URE	-	33	SAC	+	35	dTRE	+	36	CIT	-
37	BGURi	-	40	ILATk	-	41	AGLU	+	43	dSOR	-	44	AGAL	-	46	GlyA	-
47	dMLT	-	50	dRIB	-	51	MTE	+	52	IGLM	-	53	OPS	+	54	BdFUC	+
56	CMT	+	59	2KG	-	61	ESC	(+)	62	ELLM	-	64	dXYL	-			

Installed VITEK 2 Systems Version: 07.01  
MIC Interpretation Guideline:  
AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:  
AES Parameter Last Modified:

## Maintenance of Quality Control Strains

Proper maintenance of quality control strains is essential for ensuring acceptable performance.<sup>1</sup> This technical bulletin provides a maintenance plan for preserving the viability, purity, and genotypic and phenotypic characteristics of a microorganism strain. Most strains produced by Microbiologics can be maintained for up to a month after reconstitution.

### Getting Started

- Microbiologics microorganism strains should be started on a non-selective agar such as Tryptic Soy Agar or Sheep Blood Agar. The Growth Requirements Technical Information Bulletin lists individual species media requirements.<sup>2</sup> Broth is not recommended because contaminants can be easily introduced.
- To maintain the microorganism strain, follow the plan on the next page.

### Storage of Reconstituted Microorganisms

- Most quality control microorganisms can be maintained on nonselective agar plates or slants for up to four weeks at room temperature or in the refrigerator.<sup>1, 4</sup>
- Fastidious microorganisms have shorter survival periods than aerobic bacteria. They will need to be subcultured every few days. For example, *Streptococcus pneumoniae* and *Neisseria gonorrhoeae* need to be subcultured every third day.
- Microbiologics has found the following storage conditions to be favorable for maintenance:

Category of Microorganism	Storage Conditions
<b>Aerobic Bacteria</b>	Store at 2-8°C. A few species of <i>Bacillus</i> remain viable for a longer period when stored at room temperature.
<b>CO<sub>2</sub> Dependent Species</b>	Store at room temperature in a candle jar or in a container with a CO <sub>2</sub> packet.
<b>Yeast and Fungi</b>	Store at room temperature.
<b>Anaerobes</b>	Store in anaerobic conditions at room temperature.
<b>Campylobacter</b>	Store on chocolate agar at 35°C in microaerophilic conditions.

- Microorganisms stored at 4°C should not be used for certain tests. Consult manufacturer's instructions.
- If the resuscitated culture is frozen, Microbiologics cannot guarantee the stated characteristics of the product.

### Tips for Best Performance

- Do not test the original pellet plate for phenotypic characteristics. This is the plate on which the lyophilized pellet was started. The organisms growing on this plate are not fully resuscitated.
- Select isolated colonies for a test. Do not test colonies from a contaminated plate.
- When possible, use microorganisms that are not more than 24 hours old for biochemical tests.
- It may be necessary to start microorganisms used for quality control of antibiotic susceptibility tests every two weeks because some microorganisms lose resistance over time.<sup>1</sup>
- Some pharmacopeia tests, such as the growth promotion test, require that strains be 5 passages or less from the original reference culture.<sup>3</sup> In this case, Microbiologics recommends customers use KWIK-STIK™ Plus strains (two passages from reference culture) or quantitative products such as EZ-Accu Shot™.

### Wrapping Up

- After the fourth week, dispose of plates and start the process over with a new lyophilized pellet.
- A microorganism may be used beyond expiry date if (1) the lyophilized pellet is grown before expiry date and (2) the microorganism is not used beyond week four of the maintenance program.

## Recommended Growth Requirements for Microorganisms

### Selection Of Growth Requirements

1. Primary growth on a nonselective agar medium is preferred. Primary growth in a fluid medium should only occur in special instances or when recommended. Because of the manipulations required during hydration, it is difficult to obtain purity of a lyophilized strain in a fluid medium. A contaminant may completely overgrow and obscure the presence of the lyophilized strain.
2. The following information lists which method should be used to grow the various microorganism species. Descriptions of methods follow the microorganism list.

Microorganism	Method	Notes
<i>Acetobacter</i> sp.	Method 3	Incubate at 25°C in CO <sub>2</sub> for 3 to 4 days.
<i>Achromobacter</i> sp.	Method 1	
<i>Acinetobacter</i> sp.	Method 1	
<i>Actinobacillus</i> sp.	Method 3	
<i>Actinomyces</i> sp.	Method 4	
<i>Aerococcus</i> sp.	Method 1	
<i>Aeromonas</i> sp.	Method 2	<i>A. hydrophila</i> should be incubated at 30°C. <i>A. salmonicida</i> should be incubated at 25°C.
<i>Aggregatibacter</i> sp.	Method 3	
<i>Alcaligenes</i> sp.	Method 1	
<i>Alicyclobacillus</i> sp.	Method 12	<i>A. acidoterrestris</i> , Microbiologics 0265, should be incubated at 45°C.
<i>Alternaria</i> sp.	Method 5	
<i>Alloiococcus</i> sp.	Method 2	
<i>Amylomyces</i> sp.	Method 5	
<i>Aneurinibacillus</i> sp.	Method 1	
<i>Aquaspirillum</i> sp.	Method 1	Incubate at 25°C for 6 days.
<i>Arcanobacterium</i> sp.	Method 2	
<i>Arthrobacter</i> sp.	Method 1	Incubate at 25°C.
<i>Aspergillus</i> sp.	Method 5	<i>A. flavus</i> does not grow well on Standard Methods Agar (Plate Count Agar).
<i>Aureobasidium</i> sp.	Method 5	

Microorganism	Method	Notes
<i>Bacillus</i> sp.	Method 1	Some <i>Bacillus</i> sp. demonstrate better recovery on subculture when the stock organism growth is maintained at room temperature rather than 2°C to 8°C.
<i>Bacteroides</i> sp.	Method 4	<i>B. ureolyticus</i> should be incubated 5 days. The colonies are very small. Several subculture plates may need to be inoculated in order to have sufficient quantity of the microorganism for testing.
<i>Bifidobacterium</i> sp.	Method 4	<i>B. animalis</i> subsp. <i>animalis</i> only grows well on Anaerobic Blood Agar or Tryptic Soy Agar.
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Method 15	
<i>Bordetella parapertussis</i>	Method 16	
<i>Bordetella pertussis</i>	Method 16	
<i>Brevibacillus</i> sp.	Method 1	
<i>Brevundimonas</i> sp.	Method 1	
<i>Brochothrix</i> sp.	Method 1	Incubate at 25°C.
<i>Budvicia</i> sp.	Method 1	Incubate at 25°C.
<i>Burkholderia</i> sp.	Method 1	
<i>Chaetomium</i> sp.	Method 5	
<i>Campylobacter</i> sp.	Method 6	Chocolate agar is the best medium for the primary growth of <i>C. jejuni</i> . Do not open the inoculated agar medium petri plate for the first 48 hours.
<i>Candida</i> sp.	Method 5	
<i>Capnocytophaga</i> sp.	Method 3	
<i>Cedecea</i> sp.	Method 1	
<i>Cellulosimicrobium</i> sp.	Method 1	
<i>Chryseobacterium shigense</i>	Method 1	Incubate at 30°C.
<i>Citrobacter</i> sp.	Method 1	
<i>Cladosporium</i> sp.	Method 5	
<i>Clostridium</i> sp.	Method 4	<i>C. difficile</i> , <i>C. sordellii</i> , and <i>C. tetani</i> will only grow on Anaerobic Blood Agar. <i>C. perfringens</i> may not grow well on Nutrient Agar.
<i>Corynebacterium</i> sp.	Method 1	Use Method 2 to grow <i>C. urealyticum</i> .
<i>Cronobacter</i> sp.	Method 1	
<i>Curtobacterium</i> sp.	Method 1	

Microorganism	Method	Notes
<i>Cryptococcus</i> sp.	Method 5	<i>Cryptococcus</i> must be incubated at 25°C to assure growth. <i>C. gattii</i> grows best on Malt Extract Agar or Sabouraud Dextrose Emmons Agar. <i>Cryptococcus</i> grows poorly on non-selective Sheep Blood Agar.
<i>Deinococcus</i> sp.	Method 1	
<i>Delftia</i> sp.	Method 1	
<i>Desulfotomaculum</i> sp.	Method 17	
<i>Edwardsiella</i> sp.	Method 1	
<i>Eggerthella</i> sp.	Method 4	
<i>Eikenella</i> sp.	Method 3	
<i>Elizabethkingia</i> sp.	Method 1	
<i>Enterobacter</i> sp.	Method 1	
<i>Enterococcus</i> sp.	Method 1	
<i>Erysipelothrix</i> sp.	Method 2	
<i>Escherichia coli</i>	Method 1	
<i>Exiguobacterium</i> sp.	Method 1	
<i>Finegoldia</i> sp.	Method 4	Incubate 72 to 96 hours in anaerobic atmosphere.
<i>Fluoribacter</i> sp.	Method 8	
<i>Fusarium</i> sp.	Method 5	
<i>Fusobacterium</i> sp.	Method 4	
<i>Gardnerella</i> sp.	Method 9	
<i>Gemella</i> sp.	Method 4	
<i>Geobacillus</i> sp.	Method 1	<i>G. stearothermophilus</i> strains must be incubated at 55°C. <i>G. stearothermophilus</i> , Microbiologics 0137, does not grow on Sheep Blood Agar.
<i>Geotrichum</i> sp.	Method 5	
<i>Granulicatella adiacens</i>	Method 19	
<i>Haemophilus</i> sp.	Method 3	
<i>Hafnia</i> sp.	Method 1	
<i>Issatchenkia</i> sp.	Method 5	
<i>Kingella</i> sp.	Method 2	Incubate in 5 to 10% CO <sub>2</sub> .

Microorganism	Method	Notes
<i>Klebsiella</i> sp.	Method 1	
<i>Kloeckera</i> sp.	Method 5	
<i>Kocuria</i> sp.	Method 1	<i>K. rosea</i> should be incubated at 25°C.
<i>Lactobacillus</i> sp.	Method 11	
<i>Lactococcus</i> sp.	Method 2	
<i>Leclercia</i> sp.	Method 1	
<i>Legionella</i> sp.	Method 8	
<i>Listeria</i> sp.	Method 1	
<i>Lysinibacillus</i> sp.	Method 1	
<i>Macrococcus</i> sp.	Method 1	
<i>Malassezia</i> sp.	Method 14	
<i>Mannheimia</i> sp.	Method 1	
<i>Methylobacterium</i> sp.	Method 1	Incubate at 25°C for 5 days. Grows best on Standard Methods Agar (Plate Count Agar). Does not grow on Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar) or nonselective Sheep Blood Agar. <i>M. extorquens</i> obtains good growth on R2A Agar in 72 hours at 30°C.
<i>Microbacterium</i> sp.	Method 1	Incubate at 30°C.
<i>Micrococcus</i> sp.	Method 1	<i>M. luteus</i> , Microbiologics 0337 and 0689 perform best on Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar) or nonselective Sheep Blood Agar. <i>M. luteus</i> , Microbiologics 0689, should incubate on Standard Methods Agar (Plate Count Agar) for a minimum of 72 hours.
<i>Microsporium</i> sp.	Method 5	<i>M. canis</i> grows poorly on Sabouraud Dextrose Agar.
<i>Moraxella</i> sp.	Method 2	
<i>Morganella</i> sp.	Method 1	
<i>Mucor racemosus</i>	Method 5	
<i>Mycobacterium</i> sp.	Method 7	<i>M. gordonae</i> , <i>M. terrae</i> and <i>M. tuberculosis</i> may require up to one month incubation. <i>M. haemophilium</i> should be grown on Middlebrook 7H11 Agar and incubated at 30°C in 5 to 7% CO <sub>2</sub> for 3 to 4 weeks. An X factor strip must be placed on the agar in order for the organism to grow.
<i>Mycoplasma</i> sp.	Method 18	

Microorganism	Method	Notes
<i>Myroides</i> sp.	Method 2	
<i>Neisseria</i> sp.	Method 3	Chocolate agar is the best medium for the initial growth of <i>Neisseria</i> species. Do not open the inoculated agar medium petri plate for the first 48 hours if using a candle jar.
<i>Nocardia</i> sp.	Method 1	
<i>Novosphingobium</i> sp.	Method 1	Incubate at 25°C.
<i>Ochrobactrum</i> sp.	Method 1	
<i>Oligella</i> sp.	Method 2	
<i>Paecilomyces</i> sp.	Method 5	
<i>Paenibacillus</i> sp.	Method 1	<i>P. larvae</i> should be incubated aerobically at 30°C.
<i>Parabacteroides</i> sp.	Method 4	
<i>Parvimonas</i> sp.	Method 4	<i>P. micra</i> requires 5 to 7 days of anaerobic incubation.
<i>Pasteurella</i> sp.	Method 2	
<i>Pediococcus</i> sp.	Method 11	<i>P. damnosus</i> may be grown in MRS broth at 25°C for 48 to 72 hours. Subculture the broth to MRS Agar when it becomes cloudy. Incubate the agar at 25°C in 5 to 7% CO <sub>2</sub> for 72 to 96 hours. Alternatively, the lyophilized microorganism may be grown directly on MRS Agar at 25°C in 5 to 7% CO <sub>2</sub> for 5 to 7 days.
<i>Penicillium</i> sp.	Method 5	
<i>Peptoniphilus</i> sp.	Method 4	Incubate 72 to 96 hours in anaerobic atmosphere.
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	Method 4	
<i>Plesiomonas</i> sp.	Method 1	
<i>Porphyromonas</i> sp.	Method 4	5 to 7 days of anaerobic incubation is required.
<i>Prevotella</i> sp.	Method 4	5 to 7 days of anaerobic incubation is required.
<i>Propionibacterium</i> sp.	Method 4	3 to 5 days of anaerobic incubation is required.
<i>Proteus</i> sp.	Method 1	<i>P. hauseri</i> grows best on Blood and Tryptic Soy Agar.
<i>Prototheca</i> sp.	Method 5	
<i>Providencia</i> sp.	Method 1	
<i>Pseudomonas</i> sp.	Method 1	<i>P. fluorescens</i> and <i>P. protogens</i> should be incubated at 25°C.
		<i>Pseudomonas</i> species, Microbiologics 0162, and <i>P. putida</i> , Microbiologics 0627 and 0702, should be incubated at 30°C.
		<i>P. aeruginosa</i> , Microbiologics 0484, grows poorly on Nutrient Agar

Microorganism	Method	Notes
<i>Ralstonia</i> sp.	Method 1	
<i>Raoultella</i> sp.	Method 1	
<i>Rhizopus</i> sp.	Method 5	
<i>Rhodococcus</i> sp.	Method 2	
<i>Rhodotorula</i> sp.	Method 5	
<i>Saccharomyces</i> sp.	Method 5	Sabouraud Dextrose Emmons Agar is the best medium for growth of <i>Saccharomyces</i> sp.
<i>Salmonella</i> sp.	Method 1	
<i>Scopulariopsis</i> sp.	Method 5	
<i>Serratia</i> sp.	Method 1	
<i>Shewanella</i> sp.	Method 10	
<i>Shigella</i> sp.	Method 1	
<i>Sphingobacterium</i> sp.	Method 1	
<i>Sphingomonas</i> sp.	Method 1	Incubate at 25°C.
<i>Sporidobolus</i> sp.	Method 5	
<i>Staphylococcus</i> sp.	Method 1	The degree of resistance of <i>S. aureus</i> , Microbiologics 0158, to Vancomycin tends to decrease depending on age of culture, type of media, and number of subcultures. For best results, propagate strain on Brian Heart Infusion Agar with 4mcg/ml Vancomycin.
<i>Stenotrophomonas</i> sp.	Method 1	Incubate at 30°C.
<i>Streptococcus</i> sp.	Method 2	<i>S. criceti</i> must be incubated in a microaerophilic environment. <i>Streptococcus</i> sp., Microbiologics 0978, should be grown in CO <sub>2</sub> . <i>Streptococcus</i> will also recover well on Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.
<i>Streptomyces</i> sp.	Method 5	
<i>Thermoanaerobacterium</i> sp.	Method 4	Primary growth medium for <i>T. thermosaccharolyticum</i> , Microbiologics 0728, is Cooked Meat Medium. Incubation at 45°C for 72 hours is required. After initial growth, organism may be grown on Anaerobic Blood Agar which is incubated at 45°C for 72 hours in anaerobic atmosphere.
<i>Trichoderma</i> sp.	Method 5	
<i>Trichophyton</i> sp.	Method 5	Incubate for 7 to 14 days
<i>Trichosporon</i> sp.	Method 5	

Microorganism	Method	Notes
<i>Ureaplasma</i> sp.	Method 13	
<i>Veillonella</i> sp.	Method 4	
<i>Vibrio</i> sp.	Method 10	<i>V. alginolyticus</i> , Microbiologics 0819, does not recover well on Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar). For best results, grow on Marine Agar.
<i>Virgibacillus</i> sp.	Method 1	
<i>Walleimia sebi</i>	Method 5	
<i>Yarrowia</i> sp.	Method 5	
<i>Yersinia</i> sp.	Method 1	<i>Y. ruckeri</i> , Microbiologics 0785, should be incubated at 25°C.
<i>Zygosaccharomyces</i> sp.	Method 5	<i>Z. bailii</i> , Microbiologics 01011, does not grow well on nonselective Sheep Blood Agar, Nutrient Agar, or Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar).

3. The following information lists methods for growing microorganisms. When possible, more than one type of agar medium per method is listed.

#### Method 1

- Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar), nonselective Sheep Blood Agar, Standard Methods Agar (Plate Count Agar) or Nutrient Agar at 35°C in aerobic atmosphere for 24 to 48 hours.

#### Method 2

- Nonselective Sheep Blood Agar at 35°C in aerobic atmosphere for 24 to 72 hours. Growth of some species such as *Streptococcus* and *Arcanobacterium* are enhanced by CO<sub>2</sub> enrichment of the incubation atmosphere. 5% CO<sub>2</sub> is recommended for the culture of *Streptococcus pneumoniae* and other streptococcal species of the viridians group.

#### Method 3

- Chocolate Agar at 35°C in 5 to 7% CO<sub>2</sub> for 24 to 48 hours.

#### Method 4

- Anaerobic Blood Agar at 35°C in anaerobic environment for 48 to 72 hours.
- Some obligate anaerobes may require 5 to 7 days to demonstrate sufficient growth.
- Fresh prepared Nutrient Agar, Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar), and Standard Methods Agar (Plate Count Agar) are appropriate alternatives for some *Clostridium* species together with an additional period (24 hours) of incubation.

**Method 5**

- Sabouraud Dextrose Emmons Agar at 25°C in aerobic atmosphere for 2 to 7 days.
- Nonselective Sheep Blood Agar is an appropriate alternative.
- Nutrient Agar, Tryptic Soy Agar, Potato Dextrose Agar, and Standard Methods Agar (Plate Count Agar) are appropriate alternatives together with an additional period (24 hours) of incubation.

**Method 6**

- Chocolate Agar at 35°C in microaerophilic environment for 48 to 72 hours.

**Method 7**

- Lowenstein Jensen Agar or Middlebrook Agar at 35°C in 5 to 7% CO<sub>2</sub> or aerobic atmosphere. Incubation times may vary from 2 to 30 days. *M. fortuitum* subsp. *fortuitum*, *M. peregrinum* and *M. smegmatis* will also grow on Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar) as well as Lowenstein Jensen and Middlebrook Agar but additional incubation time may be required.

**Method 8**

- Buffered Charcoal Yeast Extract Agar at 35°C in aerobic atmosphere for 3 to 5 days.

**Method 9**

- V Agar or Chocolate Agar at 35°C in 5 to 7% CO<sub>2</sub> for 48 hours.

**Method 10**

- Rehydrate in sterile Brain Heart Infusion Broth, Tryptic Soy Broth (Soybean Casein Digest Agar), or 0.85% Saline. Rehydration with water may result in decreased or no recovery. Rehydration with fluid provided in the KWIK-STIK™ unit provides satisfactory recovery.
- Grow on Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar) at 35°C in aerobic atmosphere for 24 to 48 hours. *Vibrio* sp. also grows on Marine Agar.

**Method 11**

- The primary growth medium is MRS (Man, Rogosa, Sharpe) Broth. Incubate at 35°C in aerobic atmosphere for 48 hours. Transfer to either Columbia CNA with Sheep Blood or Tryptic Soy Agar with Sheep Blood. Incubate at 35°C in 5 to 7% CO<sub>2</sub> for 48 hours. A few *Lactobacilli* species, such as *L. fermentum*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, and *L. sakei* do not need to be started in Lactobacilli MRS broth. They may be plated directly to Columbia CNA with Sheep Blood or Tryptic Soy Agar with Sheep Blood and incubated at 35°C in 5 to 7% CO<sub>2</sub> for 48 hours.

**Method 12**

- Potato Dextrose Agar at 55°C in aerobic atmosphere for 24 to 48 hours.

#### Method 13

- Rehydrate 1 pellet of *Ureaplasma* sp. in SP4 Urea Broth. Alternatively, inoculate broth with a KWIK-STIK™. Make serial dilutions (for example, 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10,000). Incubate at 35°C in aerobic atmosphere. As soon as the SP4 Urea Broth turns red (24 to 96 hours), sub 0.1 ml of broth to A-8 Agar and streak for isolation. Do not use cotton swabs or wooden sticks. Incubate A-8 agar at 35°C in anaerobic conditions for 4 to 6 days. In order to see colonies, examine plates microscopically.

#### Method 14

- Leeming Notman Agar at 30°C in aerobic atmosphere for 72 hours.

#### Method 15

- Chocolate agar, Sheep Blood Agar, Tryptic Soy Agar, and Bordet Gengou Agar with 15% Defibrinated Sheep Blood at 35°C in aerobic atmosphere for 24 to 48 hours. Standard Methods Agar (Plate Count Agar) or Nutrient Agar are appropriate alternatives together with an additional period (24 hours) of incubation.

#### Method 16

- Chocolate or Bordet Gengou Agar with 15% Defibrinated Sheep Blood at 35°C in aerobic atmosphere for 2 days to 1 week. *B. pertussis*, Microbiologics 0100, and *B. pertussis*, Microbiologics 0843, require Bordet Gengou Agar with 15% Defibrinated Sheep Blood.

#### Method 17

- Prepare and Use ISF (modified Infant Soy Formula) Broth using the following steps:
  1. Fill tubes with 10 ml Infant Soy Formula. Infant Soy Formula may be purchased at a grocery store.
  2. Place a four-penny nail in each tube. A four-penny nail is approximately 1.5 inches, or 38 mm, in length. It should contain steel or iron.
  3. Sterilize the broth.
  4. Inoculate ISF Broth with one LYFO DISK® or KWIK-STIK™.
  5. Grow at 55°C in anaerobic conditions for 48 hours. The broth will turn grey, indicating growth.
  6. Make two dilutions, 1:10 and 1:100.
  7. Sub with a swab to Sulfite Agar. Plate the undiluted sample and the 1:10 and 1:100 dilutions. It is necessary to plate the diluted samples because at higher concentrations the colonies are pin-point which makes colony characteristics difficult to see. Sulfite Agar is used for detecting thermophilic anaerobes which produce sulfite.
  8. Incubate the agar in anaerobic environment at 55°C for 48 hours to 7 days.

**Method 18**

- Inoculate Broth with LYFO DISK® or KWIK-STIK™. Prepare a 1:10 serial dilution using the broth. Incubate broth according to the table below. Then plate 0.2 ml of the broth culture to Agar. Incubate agar according to the table below. Do not use cotton swabs or wooden sticks. In order to see colonies, examine plates microscopically.

Recommended Broth and Agar for Growth of Mycoplasma Species					
Catalog Number	Microorganism	Broth	Broth Incubation Temperature / ATM / Time	Agar	Agar Incubation Temperature / ATM / Time
0156	<i>Mycoplasma hominis</i>	Mycoplasma	35°C O <sub>2</sub> 48 hours	Mycoplasma	35°C 5 to 7% CO <sub>2</sub> 4 to 6 days
0503	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	SP4 Glucose	35°C O <sub>2</sub> 7 to 28 days	SP4 Glucose	35°C CO <sub>2</sub> (Candle Jar) 5 to 15 days
0504	<i>Mycoplasma orale</i>	Mycoplasma	35°C O <sub>2</sub> 48 hours	Mycoplasma	35°C AN 3 to 6 days
01053	<i>Mycoplasma bovis</i>	Mycoplasma	35°C O <sub>2</sub> 48 hours	Mycoplasma	35°C 5 to 7% CO <sub>2</sub> 3 to 7 days
0151	<i>Ureaplasma parvum</i>	SP4 with Urea	35°C O <sub>2</sub> 48 hours	A8	35°C AN 4 to 6 days

**Method 19**

- Sheep Blood Agar supplemented with Pyridoxal at 35°C in 5 to 7% CO<sub>2</sub> for 24 to 48 hours.

# INSTRUCCIONES DE USO



- Microorganismos LYFO DISK®
- Microorganismos KWIK-STIK™
- Microorganismos KWIK-STIK™ Plus

## USO PREVISTO

Los Microorganismos LYFO DISK®, KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus son preparaciones de cultivos madre liofilizados de referencia que contienen una única cepa de un microorganismo. Estas preparaciones de microorganismos están destinadas al uso en el control de calidad de medios de cultivo, programas educativos o instructivos y aplicaciones industriales. Las preparaciones de microorganismos pueden atribuirse a la Colección Estadounidense de Cultivos Tipo (ATCC®) u otras colecciones de cultivos de referencia auténticas.

## RESUMEN E HISTORIAL

Es fundamental contar con una fuente confiable de cultivos madre de referencia para su uso en programas microbiológicos de control de calidad. Los microorganismos con características conocidas y previsibles se utilizan en programas de control de calidad, educativos y de competencia. La liofilización es un método bien documentado y recomendado para la conservación a largo plazo de microorganismos. El uso de este material liofilizado ofrece resultados equivalentes a los métodos tradicionales utilizados en la preparación, el almacenamiento y la sustentación de colecciones de cultivos madre de referencia.

## PRINCIPIO

Los Microorganismos LYFO DISK®, KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus incorporan un método de liofilización informado por Obara et. al., que utiliza un medio en suspensión que comprende gelatina, leche descremada, ácido ascórbico, dextrosa y carbón. La gelatina sirve como vehículo para los microorganismos. La leche descremada, el ácido ascórbico y la dextrosa protegen al microorganismo mediante la preservación de la integridad de la pared celular durante la liofilización y el almacenamiento. El carbón está incluido con el fin de neutralizar las sustancias tóxicas formadas durante el proceso de liofilización.



## DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

- A. Microorganismos KWIK-STIK™** Cada unidad de KWIK-STIK™ contiene un sedimento liofilizado de una única cepa de microorganismos, un reservorio de líquido hidratante y un hisopo de inoculación. Cada dispositivo está sellado dentro de una bolsa laminada que contiene un secante para evitar la acumulación adversa de humedad. Los Microorganismos KWIK-STIK™ ofrecen una función adicional.
- Cada preparación de microorganismos liofilizada es menor o igual a cuatro (4) pases de un cultivo de referencia.
- B. Microorganismos KWIK-STIK™ Plus** El envase de los Microorganismos KWIK-STIK™ Plus es idéntico al de los Microorganismos KWIK-STIK™. Los Microorganismos KWIK-STIK™ Plus ofrecen dos funciones adicionales.
- Cada una de las preparaciones de microorganismos liofilizadas es dos (2) pases de un cultivo de referencia.
  - Se proporciona un certificado de ensayo. Ofrece documentación en relación con la identidad y trazabilidad de la preparación de microorganismos con un cultivo de referencia y la cantidad de pases que la preparación de microorganismos se ha quitado del cultivo de referencia.
- C. Microorganismos LYFO DISK®** Los Microorganismos LYFO DISK® están envasados en un vial resellable que incluye diez (10) sedimentos liofilizados de una única cepa de microorganismos y un secante para evitar las acumulaciones adversas de humedad. Los Microorganismos LYFO DISK® ofrecen una función adicional.
- Cada preparación de microorganismos liofilizada es menor o igual a cuatro (4) pases de un cultivo de referencia.

## PRECAUCIONES Y LIMITACIONES

- Estos productos son para uso *in vitro* únicamente.
- Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales (MSDS, por sus siglas en inglés) para obtener información más detallada. Visite nuestro sitio web, [www.microbiologics.com](http://www.microbiologics.com), y obtenga la MSDS en la biblioteca de documentos del centro de soporte técnico.
- Estos dispositivos, y la proliferación de estos microorganismos, son considerados material de riesgo biológico.
- Estos dispositivos contienen microorganismos viables que pueden producir enfermedades. Se deben emplear las técnicas adecuadas para evitar la exposición y el contacto con cualquier proliferación de microorganismos.
- El laboratorio de microbiología debe contar con el equipo y las instalaciones para recibir, procesar, mantener, almacenar y desechar el material de riesgo biológico.
- Solamente el personal de laboratorio capacitado debe usar estos dispositivos.
- Las agencias y los estatutos regulan el desecho de todos los materiales de riesgo biológico. Cada laboratorio debe conocer, y cumplir, las normas adecuadas de desecho de materiales de riesgo biológico.
- Ningún producto o envase de Microbiologics contiene látex.

## ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD

Almacene los Microorganismos LYFO DISK®, KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus a entre 2 °C y 8 °C en el vial o la bolsa sellada original que contiene el secante. Si se almacena según las instrucciones, la preparación de microorganismos liofilizada conservará, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del dispositivo, sus especificaciones y rendimiento dentro de los límites establecidos.

Los Microorganismos LYFO DISK®, KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus no deben utilizarse si:

- no se almacenan en forma adecuada;
- hay pruebas de exposición excesiva al calor o la humedad; o
- ha pasado la fecha de caducidad.

## INSTRUCCIONES DE USO

---

### A. Procedimiento para Microorganismos KWIK-STIK™ y KWIK-STIK Plus™

1. Deje que la bolsa KWIK-STIK™ sin abrir se equilibre a temperatura ambiente. Abra la bolsa por la muesca y retire la unidad KWIK-STIK™.
2. Tire de la lengüeta para retirar la etiqueta y colóquela en la placa del cultivo principal o el registro de control de calidad. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
3. Apriete (una sola vez) la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK™ (justo por debajo del menisco de líquido de la ampolla) situado en la tapa para liberar el líquido hidratante.
4. Sujete en posición vertical y golpee sobre una superficie dura para facilitar el flujo de líquido a través del eje hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento. Deje que el líquido hidratante fluya a través del eje del hisopo y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento.
5. Apretando en la parte inferior de la unidad, triture el sedimento en el líquido hasta que la suspensión del sedimento sea homogénea.
6. **DE INMEDIATO**, sature bien el hisopo en el material hidratado y transfiera a un medio de cultivo con agar.
7. Inocule la placa del cultivo principal haciendo rodar el hisopo con suavidad sobre un tercio de la placa.
8. Con un asa estéril, cree vetas para facilitar el aislamiento de colonias.
9. Utilice un método de desecho de riesgo biológico adecuado para desechar KWIK-STIK™.
10. **DE INMEDIATO**, incube la placa del cultivo principal inoculado a la temperatura y las condiciones adecuadas para los microorganismos.

### B. Procedimiento de los Microorganismos LYFO DISK®

1. Retire el vial sin abrir de LYFO DISK® de su lugar de almacenamiento a entre 2 °C y 8 °C y permita que se equilibre a temperatura ambiente.
2. Mediante técnica aséptica, retire del vial un (1) sedimento con pinzas estériles. No quite el secante.
3. Coloque el sedimento en 0,5 ml de líquido estéril (agua, solución salina, TSB o BHIB). **DE INMEDIATO**, tapone y vuelva a tapar el vial y regréselo, una vez resellado, a un lugar de almacenamiento a entre 2 °C y 8 °C.
4. Triture el sedimento con un hisopo estéril hasta que la suspensión sea homogénea. **DE INMEDIATO**, sature bien el mismo hisopo en el material hidratado y transfiera a un medio de cultivo con agar.
5. Inocule la placa del cultivo principal haciendo rodar con suavidad el hisopo sobre un tercio de la placa.
6. Con un asa estéril, cree vetas para facilitar el aislamiento de colonias.
7. Utilice un método de desecho de material de riesgo biológico adecuado para desechar el material hidratado restante.
8. **DE INMEDIATO**, incube los medios inoculados a la temperatura y las condiciones adecuadas para los microorganismos.

## MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

---

- Para los Microorganismos LYFO DISK® se necesitan tubos estériles y 0,5 ml de líquido estéril como caldo tripticasa-soja (TSB), caldo infusión cerebro-corazón (BHIB), solución salina o agua desionizada para hidratar la preparación liofilizada. Además, se necesitan hisopos estériles o asas de inoculación para transferir la preparación hidratada a una placa con agar.
- Para los Microorganismos LYFO DISK®, KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus, se necesitan medios con agar no selectivos, nutritivos o enriquecidos, y tiempos y condiciones de incubación específicos para optimizar la proliferación y la recuperación.

El boletín de información técnica (TIB.081) sobre "*Requisitos de proliferación recomendados*" menciona los medios recomendados y los requisitos de incubación. Este boletín está disponible en nuestra biblioteca de documentos del centro de soporte técnico del sitio web en [www.microbiologics.com](http://www.microbiologics.com).

# KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ PLUS

## INSTRUCCIONES ILUSTRADAS

Las preparaciones de microorganismos KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus contienen un sedimento liofilizado de una única cepa de microorganismos.

- 

1 Deje la bolsa sin abrir de KWIK-STIK™ para que se equilibre a temperatura ambiente. Abra la bolsa por la muesca y retire la unidad de KWIK-STIK™.
- 

2 Tire de la lengüeta de la etiqueta y colóquela en la placa de cultivo principal o el registro de control de calidad. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
- 

3 Apriete (una sola vez) la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK™ (justo por debajo del menisco de líquido de la ampolla) situado en la tapa para liberar el líquido hidratante.
- 

4 Sujete en posición vertical y golpee sobre una superficie dura para facilitar el flujo de líquido a través del eje hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento. Deje que el líquido hidratante fluya a través del eje del hisopo y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento.
- 

5 Apretando en la parte inferior de la unidad, triture el sedimento en el líquido hasta que la suspensión del sedimento sea homogénea.
- 

6 **DE INMEDIATO**, sature bien el hisopo en el material hidratado y transfiera a un medio de cultivo con agar.
- 

7 Inocule la placa del cultivo principal haciendo rodar el hisopo con suavidad sobre un tercio de la placa.
- 

8 Con un asa estéril, cree vetas para facilitar el aislamiento de colonias.
- 

9 Utilice un método de desecho de riesgo biológico adecuado para desechar KWIK-STIK™.

**10** **DE INMEDIATO**, incube la placa del cultivo principal inoculado a la temperatura y las condiciones adecuadas para los microorganismos.

 **Microbiologics®**  
A safer, healthier world.

## ANEXO N° 6

### SECUENCIA FOTOGRAFICA



VAINAS DE C. SPINOSA "TARA "RECOLECTADAS



SEPARACIÓN DE LAS SEMILLAS DE LAS VAINAS



INTRODUCCIÓN DEL POLVO DE C. SPINOSA EN UN FRASCO  
ÁMBAR



COLOCACIÓN DEL ALCOHOL DE 96°  
JUNTO CON LA C. SPINOSA



PROCESO DEL FILTRADO



USO DEL ROTAVAPOR PARA EVAPORAR Y CONDENSAR EL ALCOHOL



MIDIENDO EL ALCOHOL EN LA TARA



CALDO TIOGLICOLATO



CEPA DE LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS  
ATCC® 4356



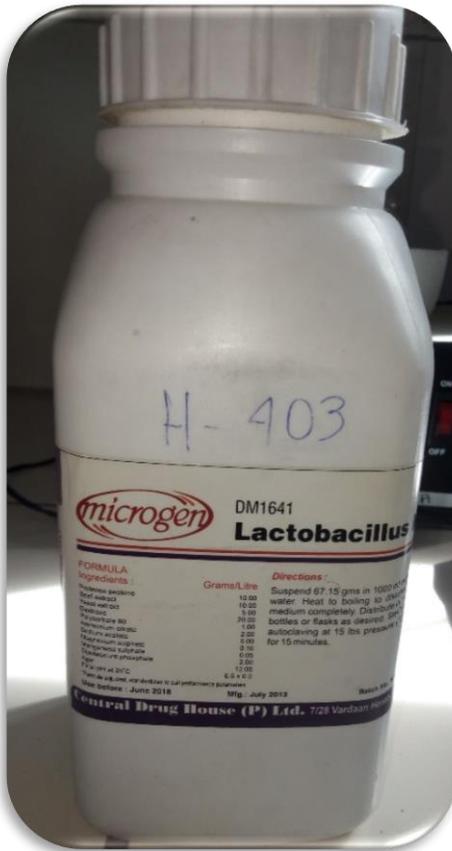
REACTIVACIÓN CEPA DE  
LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS



REACTIVACIÓN CEPA DE  
LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS



CÁMARA DE ANAEROBIOSIS



**AGAR ROGOSA**

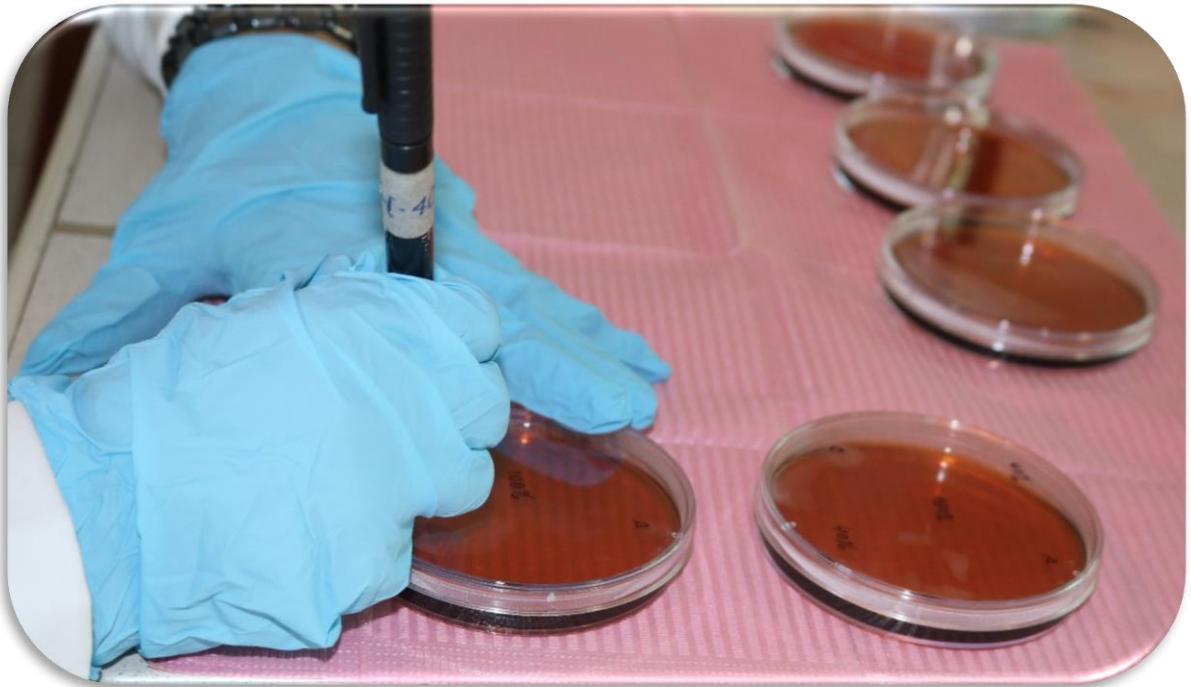
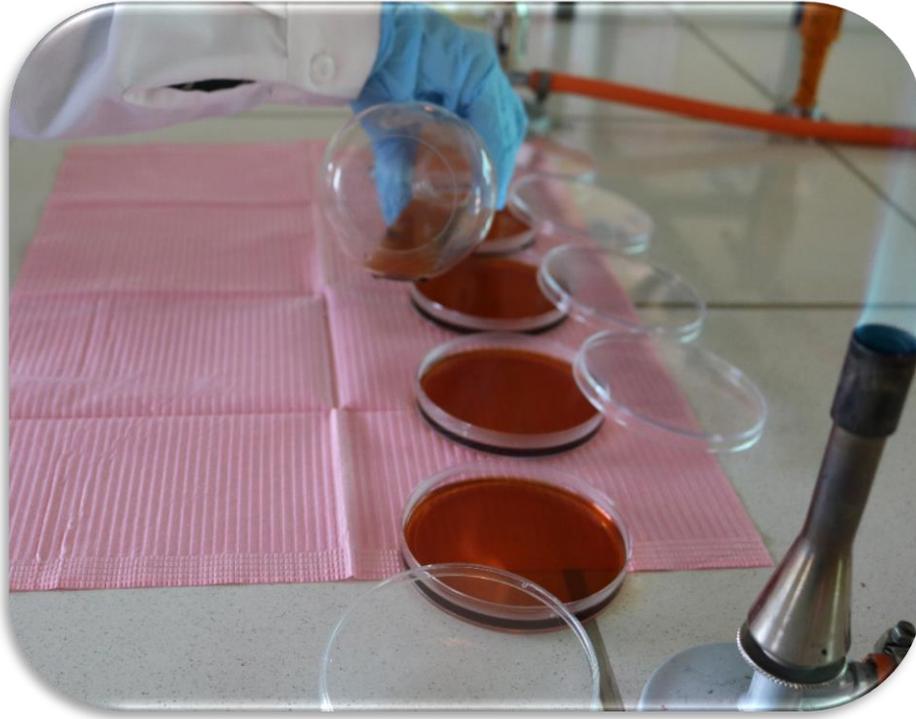




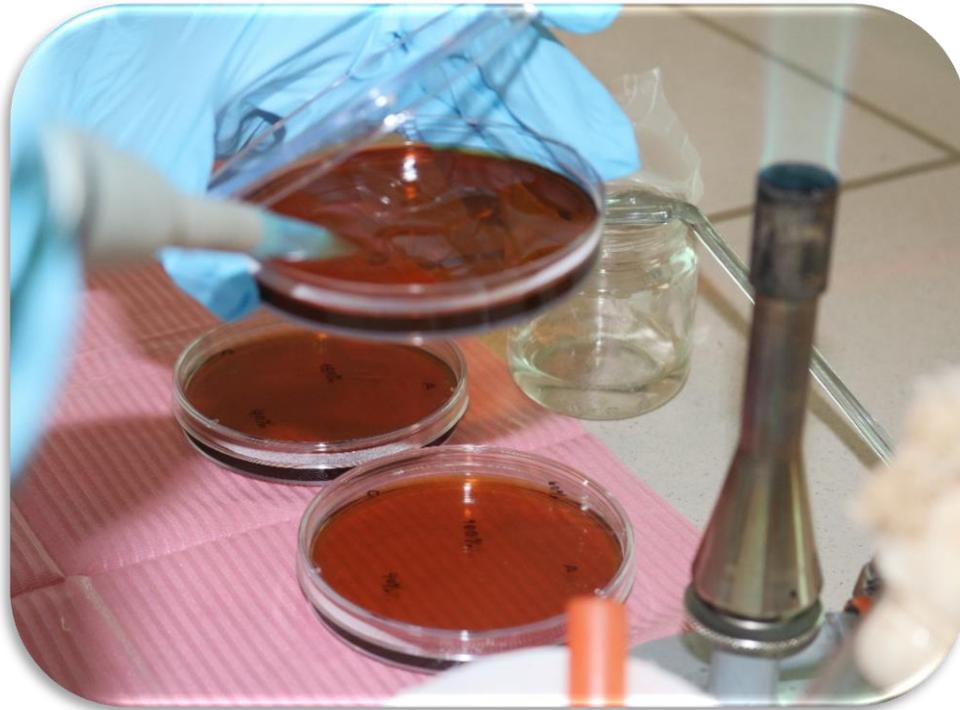
**HOMOGENIZACIÓN DEL AGAR**



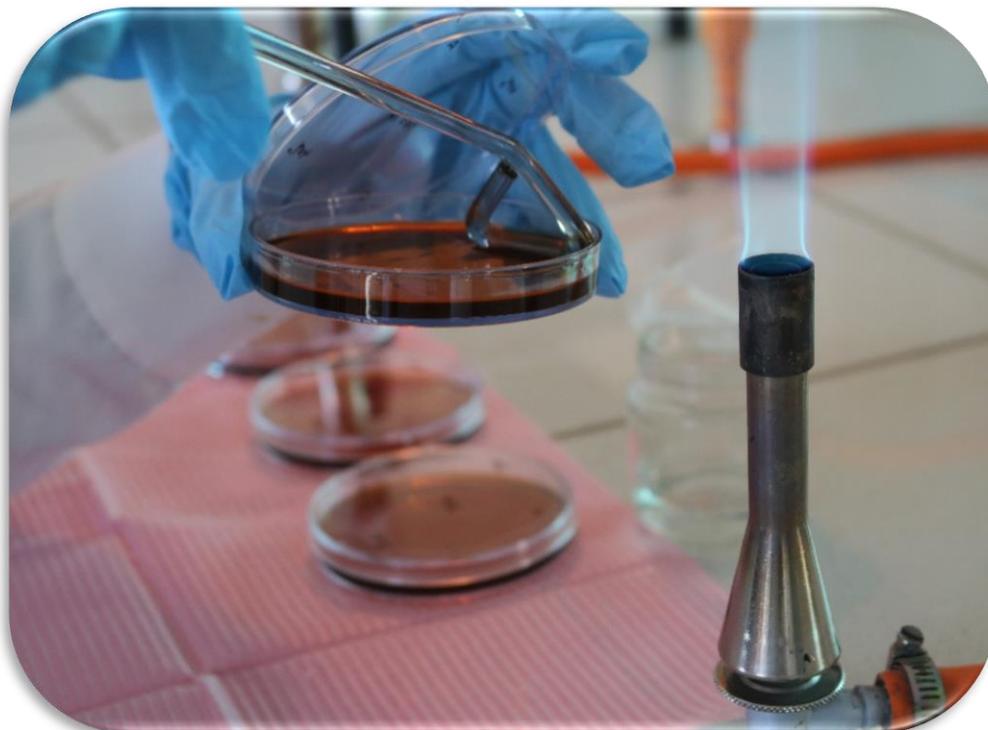
**ESTERILIZACIÓN DEL AGAR**



**ROTULADO**



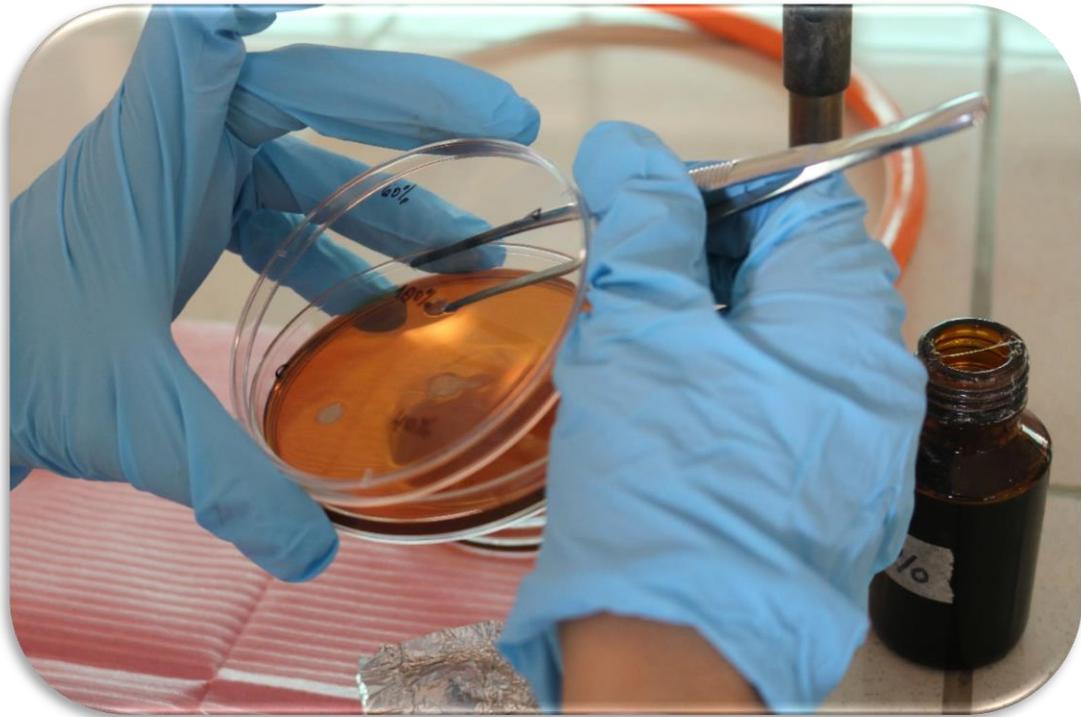
**SE COLOCÓ 1ml DE CEPA  
REACTIVADA**

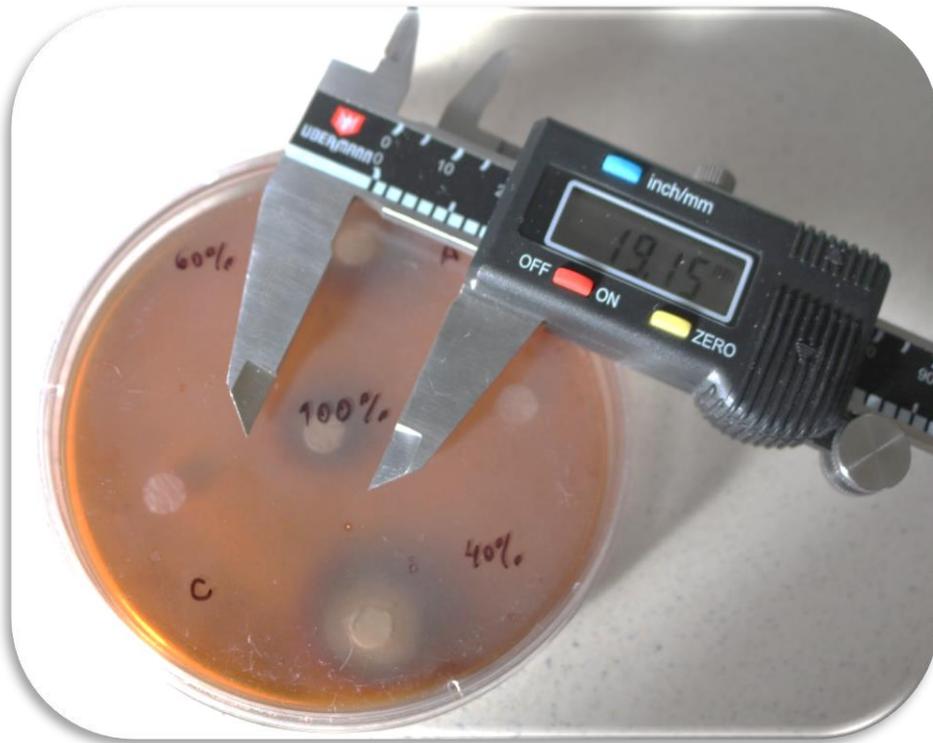


**ESPARCIENDO CON LA ASA DE  
DIGRASKI**



**COLOCADO DE SENSIDISCOS**





**TOMA DE MEDIDAS DE  
CAESALPINIA SPINOSA**

