

Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Piper aungustifolium* (Matico) sobre el crecimiento y desarrollo in vitro de *Enterococcus faecalis*.

Inhibitory effect of the ethanolic extract of *Piper angustifolium* (Matico) on the growth and development in vitro of *Enterococcus faecalis*.

¹Juan Guillermo Bornaz Acosta, ²Zenaida Inofuentes Espinoza, ³Soledad Amparo Bornas Acosta, ⁴Denisse Ethiel Tito Aquino y ⁵Vanessa Lisette Bornaz Arenas.

RESUMEN

El *Enterococcus faecalis* es considerada una de las cepas más responsables de las caries dentales, con gran capacidad de adaptación y tolerancia a las condiciones de un medio adverso, siendo difícil su erradicación.

Palabras Clave: Antimicrobiano, Fracaso Endodóntico, *Enterococcus faecalis*, *Piper aungustifolium*, Hidróxido de Calcio.

ABSTRACT

Enterococcus faecalis is considered one of the strains with great capacity of adaptation and tolerance to an adverse, environmental conditions still difficult its eradication.

Keywords: Antimicrobial, Endodontic Failure, *Enterococcus faecalis*, *Piper aungustifolium*, Calcium Hydroxide.

Objetivo. El objetivo de esta investigación fue establecer el efecto inhibitorio de la infusión de *Piper aungustifolium*, (Matico) sobre la cepa *Enterococcus faecalis*.

Métodos. Se realizó una siembra de la cepa ATCC 29212 (*Enterococcus faecalis*) en placas con Agar Cerebro Corazón BHI, colocando en la superficie del medio sensibilizados de 5 mm de diámetro embebidos con las soluciones del Matico, y se hizo 3 pozos de 5mm de diámetro por 6mm de profundidad, utilizándose una puntera descartable de 1ml, previamente tratada y esterilizada para colocar el Hidróxido de Calcio como grupo control y *Piper aungustifolium* como grupo experimental, para cada una se utilizó 24 muestras; luego se incubó a 37 °C a las 24, 48, 72 horas y 7 días se tomó medidas.

Resultados. Los promedios de la medida del halo inhibitorio *Piper aungustifolium* (Matico) fueron menores que la del Hidróxido de Calcio. Se aplicó posteriormente T de Student ($p < 0.05$), dando como resultado diferencia estadísticamente significativa entre los datos obtenidos para las tomas a las 24, 72 horas y 7 días, exceptuando a las 48 horas donde no hubo diferencia entre ambas sustancias.

INTRODUCCIÓN

Una de las dolencias más comunes en estomatología es la caries, afectando la pulpa dental, lo cual amerita realizar una endodoncia, consistente en su remoción radical (1). En todo procedimiento de endodoncia, se debe utilizar un medicamento intraconducto principalmente para contribuir con la eliminación de

¹Docente Principal de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann E-mail: willybornaz@hotmail.com

²Cirujano Dentista Práctica Privada E-mail: Zenaida.inofuente.aqp@hotmail.com

³Docente Principal de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann E-mail: solenadbornas1234@hotmail.com

⁴Docente de la Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez E-mail: ethiel19@hotmail.com

⁵Docente de la Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez E-mail: bomazzz@hotmail.com

Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Piper aungustifolium* (matico) sobre el crecimiento y desarrollo *in vitro* de *Enterococcus faecalis*

los microorganismos residuales y sus toxinas, luego de la reparación biomecánica (2). Sin embargo, el tratamiento del conducto radicular está asociado de características clínicas relacionadas de manera indirecta con el proceso fisiopatológico de la afeción del tejido pulpar, o por los procedimientos terapéuticos (3, 4, 5).

Enterococcus faecalis, es una bacteria en forma de coco dispuesta en cadenas o pares, Gram positiva, anaerobia facultativa, inmóvil y no esporulada que, en años recientes, ha atraído la atención de diversos investigadores porque ha sido identificada como una causa frecuente de infección del sistema de conductos radiculares en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico (3, 5, 6).

En medicina natural los principios activos de diversas especies de plantas, han demostrado tener múltiples beneficios en comparación a las sustancias sintéticas producidas en laboratorio usadas para procedimientos terapéuticos en estomatología (1, 4, 7). La *Piper aungustifolium* es una planta oriunda de América del Sur, más conocida con el nombre de “Matico”; perteneciente la familia de las piperáceas originaria del Perú (8). Fue clasificada por el botánico, recolector, doctor y farmacéutico alemán David Heinrich Hoppe (1760-1846) y sus poderes antimicrobianos han sido reconocidos por la medicina tradicional (6, 7).

Las bondades mostradas por el matico en medicina natural motiva, que se realicen investigaciones para determinar su efecto antimicrobiano, para utilizarla como alternativa en los tratamientos de endodoncia frente a las que ya existen en el mercado, donde las sustancias naturales resultan ser las más indicadas, debido que presentan menores efectos adversos (7, 9, 10, 11). Estos antecedentes nos han motivado a estudiar el efecto antimicrobiano de la *Piper aungustifolium* sobre *Enterococcus faecalis*. El objetivo de este trabajo de investigación ha sido determinar el efecto antimicrobiano de infusiones etanolicas de *Piper aungustifolium* sobre los cultivos de *Enterococcus faecalis*.

MATERIALES Y METODOS

Tipo de Investigación: longitudinal y prospectivo

Nivel de Investigación: Comparativo Experimental

Diseño: Factorial de Grupos

Identificación de los grupos

Los grupos serán distribuidos en 16 placas petri, 24 muestras para cada uno de los grupos; grupo experimental: *Piper aungustifolium*, grupo control: Hidróxido de Calcio.

Criterios Incluyentes

Cepa *Enterococcus faecalis*

Criterios Excluyentes

Cepa contaminada de *Enterococcus faecalis*

Descripción de la Técnica Se utilizó como materiales: un extracto etanólico de *Piper aungustifolium*, para el desarrollo del grupo experimental; la cepa ATCC 29212 (*Enterococcus faecalis*) y una pasta de Hidróxido de Calcio para el grupo control.

La cepa se reactivó de sus culturas originales en 250ml de infusión caldo cerebro – corazón BHI luego se realizó la siembra en agar cerebro corazón BHI, las cepas de **Bornaz et al.**

Ciencias, Vol. 3 43-55 (2019) *Enterococcus faecalis* fueron diluidas para su concentración final de 1×10^6 cels/ml. para los 500ml. Se dividió la placa en 3 partes para colocar sensidiscos embebidos con las soluciones del Matico, y se hizo 3 pozos de 5mm de diámetro por 6mm de profundidad, utilizándose una puntera descartable de 1mL, previamente tratada y esterilizada para colocar el Hidróxido de Calcio, las placas fueron rotuladas y almacenadas en la cámara de anaerobiosis y se incubaron por un lapso 7 días, en los cuales se tomó medidas a las 7, 24, 48 horas y 72 días

Análisis de variables

	Variables	Indicadores	Sub indicadores
Variable Estímulo 1	<i>Piper aungustifolium</i> (Matico)	Concentración óptima	Mg/ml
Variable Estímulo 2	Hidróxido de calcio		
Variable Respuesta	Halo inhibitorio microbiano de <i>Enterococcus faecalis</i>	Diámetro del halo inhibitorio	mm

Tipo de análisis: Análisis estadístico para muestra pequeña cuantitativa: T Student.

RESULTADOS

Tabla N°1. Comportamiento del halo inhibitorio del *Enterococcus faecalis* por la *Piper Aungustifolium* (matico)

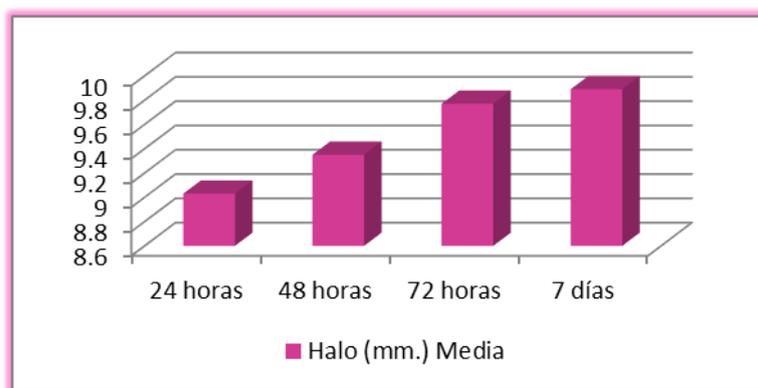
Medición	Halo (mm.)			
	Media	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
24 horas	9.03	0.38	8.50	9.75
48 horas	9.35	0.31	8.75	9.75
72 horas	9.77	0.31	9.25	10.25
7 días	9.89	0.27	9.50	10.25

Fuente: Matriz de datos.

P=0.000 (P<0.05) S.S

El halo inhibitorio del *Enterococcus faecalis* por la *Piper augustifolium* (Matico), a las 24 horas el halo alcanzó un diámetro de 9.03 mm, oscilando entre 8.50 mm y 9.75 mm; a las 48 horas un valor promedio de 9.35 mm, oscilando entre 8.75 mm y 9.75 mm; a las 72 horas el valor promedio fue de 9.77 mm, oscilando entre 9.25 mm y 10.25 mm y finalmente a los 7 días el halo obtuvo un valor promedio de 9.89 mm, oscilando entre 9.50 mm y 10.25 mm.

Existen diferencias significativas entre las medias de los halos de inhibición obtenidas a través del tiempo, lo que demuestra que existen cambios en el comportamiento del halo por la *Piper aungustifolium* (Matico), dado que el efecto aumenta conforme pasa el tiempo.

Figura N° 1. Comportamiento del halo inhibitorio del *Enterococcus faecalis* por la *Piper Aungustifolium* (matico)

Fuente: Matriz de datos

Tabla N° 2. Comportamiento del halo inhibitorio del *Enterococcus Faecalis* por el hidróxido de calcio.

Medición	Halo (mm.)			
	Media	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
24 horas	9.73	0.33	9.25	10.25
48 horas	9.62	0.25	9.25	10.00
72 horas	9.58	0.22	9.25	10.00
7 días	9.65	0.17	9.50	10.00

Fuente: Matriz de datos.

P = 0.135 (P ≥ 0.05) N.S.

Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *piper aungustifolium* (matico) sobre el crecimiento y desarrollo *in vitro* de *enterococcus faecalis*

El halo inhibitorio del *Enterococcus faecalis* por el Hidróxido de Calcio, a las 24 horas el halo alcanzó un diámetro de 9.73 mm, oscilando entre 9.25 mm y 10.25 mm; a las 48 horas el halo obtuvo un valor promedio de 9.62 mm, oscilando entre 9.25 mm y 10.00 mm; a las 72 horas el valor promedio observado del halo fue de 9.58 mm, oscilando entre 9.25 mm y 10.00 mm; y finalmente a los 7 días el halo obtuvo un valor

promedio de 9.65 mm, oscilando entre 9.50 mm y 10.00 mm.

Según la prueba estadística, no existen diferencias significativas entre las medias de los halos de inhibición obtenidas a través del tiempo, lo que demuestra que no existen cambios en el comportamiento del halo por el Hidróxido de Calcio

Figura N° 2. Comportamiento del halo inhibitorio del *Enterococcus faecalis* por el hidróxido de calcio.

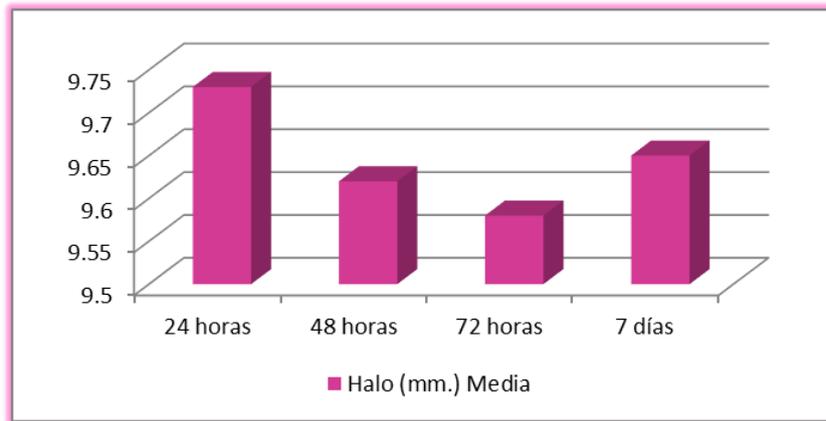


Tabla N° 3. Comparación del halo de inhibición del *Enterococcus Faecalis* a las 24 horas entre la *Piper Aungustifolium* (matico) y el hidróxido de calcio.

Halo (mm.) 24 horas	Grupo de Estudio	
	Piper Aungustifolium	Hidróxido de Calcio
Media	9.03	9.73
Desviación Estándar	0.38	0.33
Mínimo	8.50	9.25
Máximo	9.75	10.25
Total	24	24

Fuente : Matriz de datos.

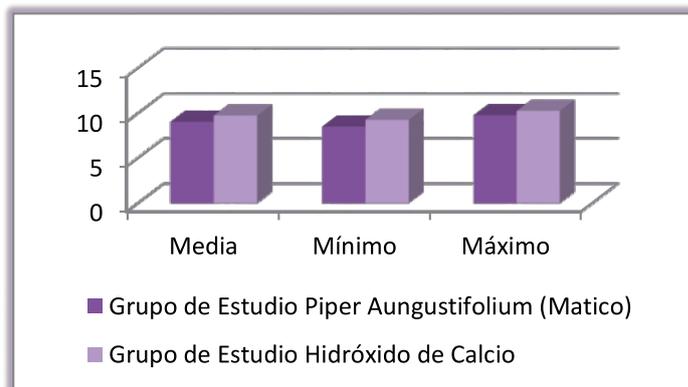
P = 0.000 (P < 0.05) S.S.

La comparación, a las 24 horas, entre los halos inhibitorios del *Enterococcus Faecalis* por la *Piper aungustifolium* (Matico) y el Hidróxido de Calcio. Para el *Piper aungustifolium* el halo obtuvo un promedio de 9.03 mm, oscilando entre 8.50mm y 9.75 mm; mientras que para el hidróxido de Calcio el promedio llegó a un

valor de 9.73 mm, oscilando entre 9.25 mm y 10.25 mm.

Existe diferencia estadísticamente significativa entre ambos, deduciéndose que el Hidróxido de Calcio es mejor que la *Piper aungustifolium* (Matico) a las 24 horas.

Figura N° 3. Comparación del halo de inhibición del *Enterococcus Faecalis* A las 24 horas entre la *Piper Aungustifolium* (matico) y el hidróxido de calcio.



Fuente : Matriz de datos.

Tabla 4. Comparación del halo de inhibición del *Enterococcus Faecalis* A las 48 horas entre la *Piper Aungustifolium* (matico) y el hidróxido de calcio.

Halo (mm.)	Grupo de Estudio	
	<i>Piper aungustifolium</i>	Hidróxido de Calcio
48 horas		
Media	9.35	9.62
Desviación Estándar	0.31	0.25
Mínimo	8.75	9.25
Máximo	9.75	10.00
Total	24	24

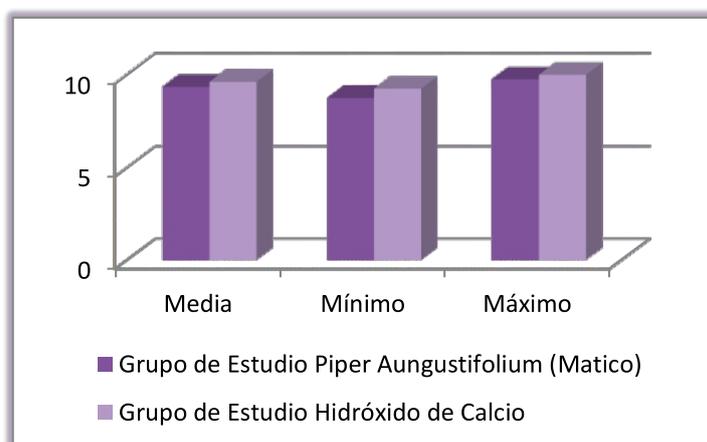
Fuente: Matriz de datos

P = 0.054 (P ≥ 0.05) N.S.

A las 48 horas se aprecia que para la *Piper aungustifolium* (Matico) el halo obtuvo un promedio de 9.35 mm, oscilando entre 8.75 mm y 9.75 mm; mientras que para el Hidróxido de Calcio el promedio llegó a un valor de 9.62 mm, oscilando entre 9.25 mm y 10.00 mm.

Según Estadística, las diferencias entre ambos grupos no son significativas, por lo tanto, los grupos son iguales, deduciéndose que el Hidróxido de Calcio y la *Piper aungustifolium* son igual de efectivos a las 48 horas.

Figura N° 4. Comparación del halo de inhibición del *Enterococcus Faecalis* A las 48 horas entre la *Piper Aungustifolium* (matico) y el hidróxido de calcio.



Fuente : Matriz de datos.

Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *piper aungustifolium* (matico) sobre el crecimiento y desarrollo *in vitro* de *enterococcus faecalis*

Tabla N° 5. Comparación del halo de inhibición del *Enterococcus Faecalis* a las 72 horas entre la *Piper Aungustifolium* (matico) y el hidróxido de calcio.

Halo (mm.) 72 horas	Grupo de Estudio	
	<i>Piper aungustifolium</i>)	Hidróxido de Calcio
Media	9.77	9.58
Desviación Estándar	0.31	0.22
Mínimo	9.25	9.25
Máximo	10.25	10.00
Total	24	24

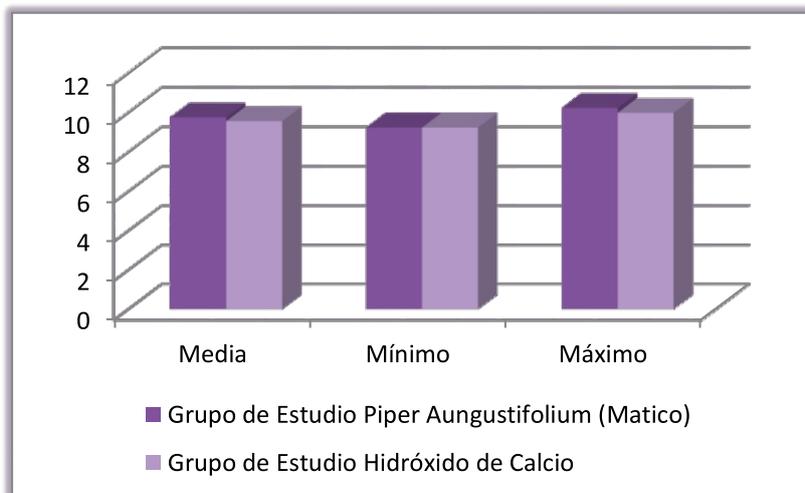
Fuente : Matriz de datos

P = 0.022 (P < 0.05) S.S.

La comparación, a las 72 horas, para el Matico se obtuvo un promedio de 9.77 mm, oscilando entre 9.25 mm y 10.25 mm, mientras que para el Hidróxido de Calcio el promedio llego a un valor de 9.58 mm, oscilando entre 9.25 mm y 10.00 mm.

Según la Prueba Estadística, las diferencias entre ambos grupos son significativa, por lo tanto, los grupos son diferentes, deduciéndose que la *Piper aungustifolium* (Matico) es más efectivo que el Hidróxido de Calcio a las 72 horas.

Figura N° 5. Comparación del halo de inhibición del *Enterococcus Faecalis* a las 72 horas entre la *Piper Aungustifolium* (matico) y el hidróxido de calcio.



Fuente : Matriz de datos.

Tabla N° 6. Comparación del halo de inhibición del *Enterococcus faecalis* a los 7 días entre la *Piper Aungustifolium* (matico) y el hidróxido de calcio.

Halo (mm.) 7 días	Grupo de Estudio	
	<i>Piper aungustifolium</i>	Hidróxido de Calcio
Media	9.89	9.65
Desviación Estándar	0.27	0.17
Mínimo	9.50	9.50
Máximo	10.25	10.00
Total	24	24

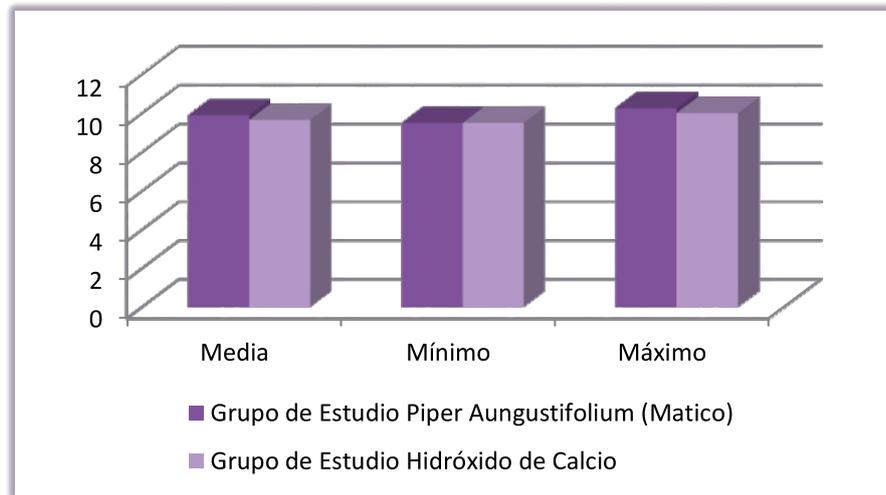
Fuente : Matriz de datos

P = 0.001 (P < 0.05) S.S

La comparación, a los 7 días, para la *Piper aungustifolium* el halo obtuvo un promedio de 9.89mm., oscilando entre 9.50 mm y 10.25 mm, mientras que para el Hidróxido de Calcio el promedio llegó a un valor de 9.65 mm, oscilando entre 9.50 mm y 10.00 mm.

Según la Prueba Estadística, las diferencias entre ambos grupos son significativa, por lo tanto, los grupos son diferentes, deduciéndose que la *Piper aungustifolium* (Matico) es mejor que el Hidróxido de Calcio a los 7 días.

Figura N° 6. Comparación del halo de inhibición del *Enterococcus Faecalis* a los 7 días entre la *Piper Aungustifolium* (matico) y el hidróxido de calcio.



FUENTE: Matriz de datos.

Discusión

Sánchez Ruiz y col. (13), su investigación sobre actividad microbiana de Hipoclorito de sodio al 5% en la dilución 1:1 (2.5%) dio como resultado que la actividad antimicrobiana no duró hasta las 72 horas. Podría deberse a que se trabajó con hipoclorito diluido, por lo tanto, el alcance antimicrobiano se redujo, comparándolo con nuestro estudio el efecto antimicrobiano si duro 72 horas por que se trabajó con hipoclorito al 5%.

Espinel Pinzon Mercy (14), su estudio fue realizado en 30 premolares que fueron infectados con enterococcus Faecalis, a los cuales se les colocó 4 combinaciones de NaOCl (hipoclorito) y EDTA. Los resultados obtenidos fueron que ninguna de las sustancias utilizadas ya sea solas o mezcladas con el quelante logró eliminar la cepa en cuestión. Uno de los factores que podría haber dado este resultado es que la investigación se realizó en diente natural y su compleja estructura anatómica pudo haber afectado el efecto del hipoclorito, a comparación de los resultados obtenidos en la presente investigación donde sí se apreció un efecto antimicrobiano en la cepa escogida.

Kloucek, P y col. (15), al estudiar el efecto de extractos etanólicos al 80% de nueve plantas obtenidas por maceración durante 5 días sobre cinco cepas gran positivas y tres grandes negativas, destacando la utilización de las vainas de *Caesalpinia spinosa*. Los resultados obtenidos fueron que para el *Enterococcus faecalis* se observó una CIM de 0.5 mg/ml, para *Bacillus cereus* de 8, y de 16 para las demás bacterias,

lo cual determina la especificidad y gran poder antimicrobiano de esta sustancia natural, lo que fue corroborado por nuestro estudio.

Conclusiones

La *Caesalpinia spinosa* al 60% logró un halo inhibitorio de 6.33 mm en promedio con una desviación típica de 0.68 frente al *Enterococcus faecalis*.

El HClO al 5.25% logró un halo inhibitorio de 2.82 mm en promedio con una desviación típica de 0.7 frente al *Enterococcus faecalis*. Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antimicrobiano de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 60% y el HClO al 5.25% en el halo inhibitorio del *Enterococcus faecalis*, esto con un margen de error del 5%. La hipótesis nula fue rechazada, debido a que el Halo inhibitorio de la Tara al 60% obtuvo mayores valores que el hipoclorito de Sodio al 5.25% por lo que su efecto antimicrobiano fue mayor para nuestra sustancia experimental en el halo inhibitorio del *Enterococcus faecalis*.

BIBLIOGRAFÍA

- CRAIG J, Bakland L, Sugita E. Microbiología de la Endodoncia y Asepsia en la práctica endodóntica. En: Ingle J, Bakland L, México. editores. Endodoncia. McGraw-Hill Interamericana 2003; p. 63-93.
- HAUMAN CH, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and

Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *piper aungustifolium* (matico) sobre el crecimiento y desarrollo *in vitro* de *enterococcus faecalis*

- substances. *Int Endod J* 2003; 36: 75-85.
- CHONG Bs, Pitt Ford Tr. The role of intracanal medication in root canal treatment. *J Endod* 1992; 25:97-06.
- BASRANI B, Ghanem A, Tjäderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. *J Endod.* 2004; 30(6):413-7.
- MAGUIRE H, Torabinejad M, Kettering JD. The use of aloe vera gel as an intracanal medicament. *J of Endod* 1996; 22:193
- YOLKEN R. Editores. *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology 2002: 207-305.
- MATUTE Centeno María Elena. Evaluación *in vitro* del extracto de *piper angustifolium* (matico) y la clorhexidina como antisépticos bucales. [Trabajo para obtener el título de Profesional de Cirujano Dentista] 2009. Facultad de Odontología de la Universidad Federico Vila Real. Lima - Perú.
- CLAROS, Bilbao, Damiani, Gonzales, Estensoro, Alvarez. Actividad Anti-*Helicobacter Pylori* de *Plantago major*, *Clinopodium bolivianum*, *Caléndula officinalis* y *Piper aungustifolium* por el método de difusión de disco. *BIOFARBO* 1997; Vol. XV Mahabir P. Gupta. "270 plantas medicinales iberoamericanas" programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo. Colombia. Convenio Andrés bello, editorial presencia ltda. 1995.
- ESTRELA C, Pécora Jd, Souza-Neto Md, Estrela Cr, Bammann ll. Effect of vehicle on antimicrobial properties of calcium hydroxide pastes. *Braz dent j.* 1999; 10:63-72.
- RODRÍGUEZ-Varo L, Pumarola J, Canalda C. Acción antimicrobiana *in vitro* de distintas medicaciones sobre *Enterococcus faecalis* y *Actinomyces israelii*. *Endodoncia* 2009; Vol. 27 (Nº 1):7-12
- ORJALA AJ, Wright AD, Behrends H, Folkers G, Sticher O, Ruegger H, et al. Cytotoxic and antibacterial dihydrochalcones from *Piper Aungustifolium*. *J Nat Prod* 1994; 57(1): 18-26.
- MARTÍNEZ L, Acosta H, Duarte ML. Evaluación *in vitro* de la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio en dos preparaciones en presencia del *enterococcus faecalis*. *Ustasalud Odontología* 2004; 3: 71-76.
- NAKAJO K. Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21: 283-8.
- HERRERA DR, Tay LY, Kose-Jr C, Andrade TM, Rezende EC, Kozlowski Jr VA, Santos EB. Efecto antibacteriano del hidróxido de calcio y yodoformo sobre *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Estomatol Herediana.* 2008; 18(1):5-8.