

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

NUEVOS TIEMPOS, NUEVAS IDEAS



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO
HIDROALCÓHOLICO DEL FRUTO DE *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) EN
CEPAS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA ATCC 9027***

Tesis para optar al título profesional de químico farmacéutico y
bioquímico

TESISTAS:

BACH: León Calmet, Fátima Elizabeth Margot

BACH: Sánchez Lalangue, Katherine

ASESOR: Mg. Q.F. Martínez Cortez, Ysabel

Lima – Perú

2 0 1 9

TÍTULO:

**“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO
HIDROALCÓHOLICO DEL FRUTO DE *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) EN
CEPAS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA ATCC 9027*”**

DEDICATORIA

Quiero dar toda la gloria y la honra a mi DIOS, quien me ha colmado de sus infinitas bendiciones. A mis padres, en especial a mi mamá que con su amor y orientación me ha guiado para no darme por vencida. A mis hermanas y hermano, que siempre me apoyaron desinteresadamente. A Raydo quien con su amor, apoyo y ejemplo desinteresado me guió a través de la carrera.

Katherine Sánchez.

A Dios, por enseñarme que sus tiempos son perfectos y que siempre tiene algo mejor para mí.

A mi padre, quien a pesar de no estar físicamente a mi lado ha sido mi mayor apoyo y guía espiritual.

A mi madre, que a pesar de los malos momentos, siempre se mantuvo conmigo apoyándome día a día.

A mis hijos, quienes me han tenido paciencia y me han mostrado su apoyo incondicional durante toda la carrera y que además son mi mayor fuerza y fortaleza, para cumplir cada una de las metas trazadas.

A mi esposo, quien con su amor y apoyo desinteresado me acompaña en esta travesía y me alienta para no darme por vencida pesar de los momentos difíciles.

Fátima León.

AGRADECIMIENTO

A Dios, quien siempre guía nuestro camino.

A la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Alma Mater, formador de grandes profesionales para el desarrollo del país.

A la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, donde hemos adquirido, a lo largo de la carrera, conocimientos de excelentes docentes para nuestro desarrollo profesional además nos han brindarnos el apoyo necesario para desarrollar esta tesis.

A nuestra asesora Mg. Q.F. Martínez Cortez, Ysabel, por su apoyo permanente, compromiso, dedicación, experiencia y capacidad, la cual nos guió para desarrollar nuestra tesis.

A la Mg. Dra. Q.F Teresa Morales, docente de la universidad inca Garcilaso de la vega, por su orientación desinteresada.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por todos y cada uno de sus consejos, con los que aportaron mucho al presente estudio.

Fátima y Katherine

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria	
Agradecimientos	
Índice de Tablas	
Índice de Figuras	
Índice de Gráficos	
Índice de Anexos	
Resumen	
Abstract	
Introducción.....	1
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
1.1 Descripción de la realidad problemática	4
1.2 Identificación y Formulación del problema.....	6
1.2.1. Problema general.....	6
1.2.2 Problemas específicos	6
1.3. Objetivos de la investigación	7
1.3.1. Objetivo general	7
1.3.2. Objetivos específicos	7
1.4 Justificación de la investigación	7
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	10
2.1 Antecedentes de la Investigación	10
2.1.1 Antecedentes Nacionales.....	10
2.1.2 Antecedentes Internacionales	15
2.2 Bases Teóricas	18
2.2.1 Caesalpinia Spinosa.....	18
2.2.1.1 Características etnobotánica	18
2.2.1.2 Distribución geográfica	22
2.2.1.3 Hábitat.....	22
2.2.1.4 Clasificación taxonómica	23

2.2.1.5	Composición Química de la Tara	23
2.2.1.6	Metabolitos primarios presentes en Caesalpinia Spinosa (Tara)	24
2.2.1.7	Metabolitos secundarios presentes en Caesalpinia Spinosa (Tara)	25
2.2.1.8	Usos terapéuticos de la Tara.....	35
2.2.2	Pseudomona Aeruginosa	37
2.2.2.1	Características morfológicas	37
2.2.2.2	Patogenia	38
2.2.2.3	Resistencia de Pseudomona Aeruginosa.....	40
2.2.2.4	Tratamiento, prevención y control	43
2.2.2.5	Ceftazidima	44
2.3	Formulación de Hipótesis	49
2.3.1	Hipótesis general.....	49
2.3.2	Hipótesis específicas.....	50
2.4	Operacionalización de Variables e Indicadores	50
2.4.1	Variables de estudio.....	50
2.5	Definición de Términos Básicos.....	51
	CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	52
3.1	Tipo y Nivel de Investigación	52
3.1.1	Tipo de investigación.....	52
3.1.2	Nivel de investigación.....	53
3.2	Diseño de la Investigación	53
3.3	Población y Muestra de la Investigación.....	53
3.3.1	Población	53
3.3.2	Muestra	54
3.4	Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	54
3.4.1	Técnica.....	54
3.4.2	Instrumentos	55

3.4.2.1	Ficha de recolección de datos	55
3.4.2.2	Resumen de resultado Juicio de expertos.....	55
3.5	Equipos, Materiales y Reactivos	56
3.6	Procedimiento Experimental	58
3.6.1	Obtención del extracto hidroalcohólico de tara.....	58
3.6.2	Marcha fitoquímica	61
3.6.3	Análisis microbiológico	62
3.6.3.1	Fase pre analítica	62
3.6.3.2	Fase analítica	64
3.6.3.3	Fase post analítica	66
3.7	Técnicas Estadísticas de Análisis de Datos.....	67
3.7.1	Procesamiento de datos.....	67
3.8	Presentación y análisis de los resultados estadísticos descriptivos	68
3.9	Contrastación de hipótesis.....	74
CAPÍTULO IV. RESULTADOS		77
4.1	Resultados de la Investigación	77
4.2	Discusión de Resultados	85
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES.....		87
5.1	Conclusiones	87
5.2	Recomendaciones	88
Bibliografía		89
Anexos		95

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1	Exportación del producto tara según sus principales presentaciones 2006 – 2011	36
Tabla N° 2	Variabes de estudio	50
Tabla N° 3	Juicio de Expertos	55
Tabla N° 4	Tamizaje fitoquímica	61
Tabla N° 5	Cuadros de concentraciones de la muestra.....	64
Tabla N° 6	Estadísticas	68
Tabla N° 7	Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones	70
Tabla N° 8	Pruebas.....	70
Tabla N° 9	Resumen del modelo	71
Tabla N° 10	Análisis de Varianza	72
Tabla N° 11	Método de Tukey para ordenar medias	72
Tabla N° 12	Resultados dela marcha fitoquímica.....	77
Tabla N° 13	Prueba de solubilidad de extracto hidroalcohólico de Caesalpinia Spinosa (tara)	78
Tabla N° 14	Halos de Inhibición de Extracto al 100% en Pseudomonas	78
Tabla N° 15	Halos de Inhibición de Extracto al 80% en Pseudomonas Aeruginosa ATCC 9027	80
Tabla N° 16	Halos de Inhibición de Extracto al 60% en Pseudomonas Aeruginosa ATCC 9027	82
Tabla N° 17	Halos de Inhibición de Extracto al 40% en Pseudomonas Aeruginosa ATCC 9027	83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1	Fotos del árbol, flor y frutos de C. Spinosa	20
Figura N° 2	Dibujo de ramas, flor y frutos de la C. Spinosa	21
Figura N° 3	Estructura de los Taninos	28
Figura N° 4	Estructura de Ácido Gálico	29
Figura N° 5	Estructura de la Glucogalina	30
Figura N° 6	Estructura del Corilagin	30
Figura N° 7	Estructura de Tanino de J. Globiflora	31
Figura N° 8	Flavonoides. Estructura básica y tipos	34
Figura N° 9	Extracción de la Tara	60
Figura N° 10	Resultados de Coloración de la Marcha Fitoquímica	75
Figura N° 11	Resultados del extracto al 100%	80
Figura N° 12	Resultados del extracto al 80%	81
Figura N° 13	Resultados del extracto al 60%	84
Figura N° 14	Resultados del extracto al 40%	85
Figura N° 15	Resultados del extracto al 40%	100
Figura N° 16	Recolección y limpieza	104
Figura N° 17	Secado y maceración de Caesalpinia Spinosa	105
Figura N° 18	Tamizaje fitoquímico del extracto de Caesalpinia Spinosa.....	105
Figura N° 19	Metabolitos Secundarios del extracto de Caesalpinia Spinosa.....	106
Figura N° 20	Prueba de Solubilidad del Caesalpinia Spinosa	106
Figura N° 21	Obteniendo el extracto de Caesalpinia Spinosa (Tara).....	107
Figura N° 22	Evaluación del efecto antibacteriano del extracto de Caesalpinia Spinosa	108

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1	Gráfico de barras de la media de las mediciones	69
Gráfico N° 2	Medidas tomadas por grupo	73
Gráfico N° 3	Medidas tomadas por grupo	73

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°1	Matriz de Consistencia de Caesalpinia Spinosa (Tara)	96
Anexo N° 2	Constancia emitida por el Herbario Hamilton Beltrán	97
Anexo N° 3	Certificado de análisis de la cepa P. Aeruginosa – ATCC9027	98
Anexo N° 4	Certificado de calidad de los medios de cultivo Agar.....	99
Anexo N° 5	Validación del Instrumento	100
Anexo N° 6	Materia Prima	104

RESUMEN

El presente estudio tipo experimental, de diseño cuasi experimental, ha sido realizado con el fin de estimar la eficiencia antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de Tara (*Caesalpinia spinosa*) como sustancia natural, en comparación con Ceftazidima sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027). El método experimental in vitro se efectuó usando 25 placas con agar Müller Hilton, para un tamaño de muestra de 80 mediciones de halos de inhibición; para hacer la siembra microbiológica se utilizó el método de difusión en placa ó (kirby-bauer), en 4 grupos de investigación; se usó el extracto hidroalcohólico de tara (*Caesalpinia spinosa*) en concentraciones distintas, al 100 %, 80%, 60% y 40%, usando Ceftazidima (control positivo) y agua destilada (control negativo), la evaluación fue pasada las 24 horas en la estufa a 37°C, midiendo los halos inhibición en mm.

The results obtained in the investigation were processed through the MINITAB 19 statistical program, through the analysis of variance analysis (ANOVA) and the Bonferroni Confidence Intervals test, works with a 95% confidence level. Obtaining as results that the antibacterial activity against strains of *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC9027) is greater as the concentration of the natural sample increases, thus being the 100% sample, presented a 27 mm inhibition halo, at the concentration at 80% with a 27mm halo of inhibition, while at 60% and 40% concentrations the inhibition halo was 26mm and 18mm respectively. In conclusion, the essence of *Caesalpinia spinosa* (Tara) has an antibacterial effect against *Pseudomonas aeruginosa*.

Palabras clave: extracto de *Caesalpinia spinosa* (Tara); metabolitos secundarios; efecto antibacteriano; *Pseudomonas aeruginosa*; ceftazidima.

ABSTRACT

The present experimental study, of quasi-experimental design, has been carried out in order to estimate the in vitro antimicrobial efficiency of the hydroalcoholic extract of Tara (*Caesalpinia spinosa*) as a natural substance, in comparison with Ceftazidime on strains of *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027). The in vitro experimental method was carried out using 25 plates with Müller Hilton agar, for a sample size of 80 measurements of inhibition halos; To make microbiological planting, the plate diffusion method (Kirby-Bauer) was used in 4 research groups; the hydroalcoholic extract of Tara (*Caesalpinia spinosa*) was used in different concentrations, at 100%, 80%, 60% and 40%, using ceftazidime (positive control) and distilled water (negative control), the evaluation was after 24 hours in the stove at 37 °C, measuring the halos inhibition in mm.

The results obtained in the investigation were processed through the statistical program MINITAB 19, through the analysis of variance tests (ANOVA) and the Bonferroni confidence intervals test, at a confidence level of 95%. The results obtained show us that the antibacterial activity against strains of *Pseudomonas Aeruginosa* (ATCC9027) is greater as the concentration of the natural sample is increased, being that the sample of 100%, made a halo of inhibition of 27 mm, followed by 80% concentration with a 27mm inhibition halo. In conclusion, the essence of *Caesalpinia Spinosa* (Tara) has an antibacterial effect against *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: Extract of *Caesalpinia spinosa* (Tara); secondary metabolites; antibacterial effect; *Pseudomonas aeruginosa*; ceftazidime.

INTRODUCCIÓN

Desde nuestros antepasados se han prevenido enfermedades que afectan a nuestra especie, empleando diversas plantas con efecto medicinal. En el Perú tenemos una diversidad de estas plantas de las cuales los antepasados las utilizaban para aliviar o curar las enfermedades utilizando sus esencias, tinturas entre otros; beneficiándose con sus resultados; En este camino de investigación: “Encontrarse con el estudio de las plantas con beneficios medicinales, esto nos ha llevado a que sea necesario de estudiar sus actividades de cada una de ellas, especialmente en la parte científica a que investiguemos más para así obtener todos los beneficios a favor de la humanidad”.

En la actualidad muchas plantas se van estudiando y comprobando la acción de sus principios activos de diferente actividad antibacteriana. Y una de estas plantas con actividad antibacteriana es la *Caesalpinia spinosa* (Tara).

Durante estos últimos 10 años la oposición de las bacterias producida por microorganismo Gram negativos ha ido en aumento, para obtener la concentración mínima inhibitoria (MIC) de las esencias de plantas, se viene utilizando la técnica de micro disolución, así como para llegar a una concentración mínima de bacteria (MBC) (1).

La *Caesalpinia spinosa* (Tara) es una planta propia de la variedad originaria del Perú, siendo una de las plantas con mayor actividad antibacteriana de mayor importancia, ha sido utilizada de diversas formas desde la época prehispánica hasta la actualidad en la medicina alternativa o de tradición por sus diversas actividades curativas (2).

En la familia *Caesalpinia spinosa* se han encontrado, diferentes metabolitos secundarios, con distintos efectos farmacológicos. Por encontrarse flavonoides, taninos y compuestos fenólicos también presenta actividad ante las bacterias. Esta actividad se evidencia cuando se determina una concentración inhibitoria mínima,

y también obteniendo la concentración más baja de la bacteria que inhibió este crecimiento visible de esta. El precipitado o turbidez presente en los pocillos indica un crecimiento de bacterias (3).

Diversas investigaciones han reportado que la tara posee taninos, flavonoides, gomas, alcaloides y proteínas que le brindan un poder contra diversos microorganismos causantes de patologías.

La población empíricamente usa más sus frutos y las vainas contra la amigdalitis haciendo gárgaras, también en casos de fiebre, gripe, para evitar la caída de cabello, entre otros, mostrando así su actividad antibacteriana.

Según la OMS, la prevalencia de infecciones nosocomiales se da en el área de UCI, en pacientes vulnerables ya sea por una edad avanzada, enfermedad subyacente o quimioterapia y los causantes son microorganismos como bacterias, virus, parásitos, que incluso pueden transmitir los pacientes después del alta a la comunidad; entre las bacterias causante de estas infecciones tenemos a la Gram negativa: *Pseudomonas aeruginosa*, una bacteria oportunista y naturalmente resistente a muchos antibacterianos, por su capacidad de adquirir nuevos mecanismos de resistencia, reduciendo así las posibilidades terapéuticas (4)

Entonces, esta investigación se avala en la siguiente pregunta ¿El extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) tendrá efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027?

En este contexto el desarrollo de la temática tiene el siguiente criterio estructural:

En el Capítulo I se realiza el planteamiento y formulación del problema de estudio.

En el Capítulo II se presentan los antecedentes nacionales e internacionales, y las bases teóricas que corresponden a las variables de estudio respectivamente, así mismo se realiza la definición de términos relacionados.

En el Capítulo III se plantea la Metodología de la investigación, se explican las técnicas e instrumentos de recolección de datos y fundamento de los equipos utilizados en la investigación. Así mismo el procesamiento y análisis de los datos estadísticos.

En el Capítulo IV se detalla la discusión de los resultados y se realiza la comprobación de la hipótesis.

Y como última parte de la investigación se presenta el Capítulo V donde finalizamos con las Conclusiones y Recomendaciones.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCION DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

En estos últimos años, las investigaciones científicas se han dedicado a la búsqueda de nuevos medicamentos de origen herbario en todo el mundo, para el tratamiento de diversas patologías del ser humano, siguiendo esta tendencia las patologías odontológicas no son la excepción, es así que se está dando gran importancia al estudio de plantas medicinales ⁽⁵⁾.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Comunidad Andina de Naciones y la Universidad Nacional de Colombia, se pueden diseñar nuevas alternativas de tratamiento utilizando plantas para obtener nuevos compuestos antibacterianos. ⁽⁶⁾.

Considerada uno de los microorganismos con mayor grado de patogenicidad, al punto de ser considerado el patógeno más oportunista a nivel intrahospitalario, la *Pseudomonas aeruginosa*, bacteria Gram negativa aerobia, es la causante de infecciones a nivel del tracto pulmonar, urinario, de tejidos, entre otros; que extrañamente no se dan en personas enfermas ⁽⁶⁾.

En el Perú, mucha población con bajos recursos económicos sufre los estragos al ser infectados con esta bacteria y no contar con los recursos necesarios para combatirla debido a que en los ambientes hospitalarios reportados se mantiene la presencia de microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia Coli*, *Staphilococcus Aereus*, entre otros.

Pseudomonas aeruginosa es causante de infecciones asociadas al cuidado de la salud, especialmente en pacientes inmunosuprimidos, en aquellos que sufrieron quemaduras y en usuarios de unidades de cuidados intensivos (UCI). Su resistencia a varias clases de antibacterianos dificulta el

tratamiento y se asocia a tasas mayores de mortalidad e incrementos en los costos de la atención hospitalaria, motivo por el cual el Ministerio de Salud se ha visto obligado a implementar planes de prevención y control, no solo organizando, monitoreando y evaluando los establecimientos de salud, sino también vacunando, capacitando a sus trabajadores de la salud, a pacientes y familiares ⁽⁴⁾.

Los cambios y adaptaciones microbianas han generado el fenómeno de resistencia a los antibióticos, lo cual es un problema de salud a nivel mundial. Las cepas patógenas resistentes han surgido principalmente en los hospitales a consecuencia de varios factores como son el amplio uso de los antimicrobianos, las dosis utilizadas, el tiempo de tratamiento, y la eliminación de la mitad de la droga que no se alcanza a metabolizar en su totalidad, las altas posibilidades de transmisión o contagio y el estado inmunocomprometido de los pacientes que los hacen susceptibles a infecciones con patógenos oportunistas. Otros dos elementos que favorecen el surgimiento de este fenómeno: el uso inadecuado de antibióticos y la adaptación de los microorganismos a los diferentes ambientes ⁽⁷⁾.

Cajamarca, La Libertad, Ancash, Lambayeque, Amazonas, Ayacucho, Apurímac y Huánuco encontramos plantas que han crecido silvestremente de este árbol con nombre "Tara", sus vainas al madurar llegan a obtener entre 30 a 60 % de taninos, del cual, mediante síntesis, se puede obtener ácido tánico, ácido gálico, ácido elágico, proteínas, carbohidratos, etc., de los cuales nos facilitan como base para elaborar productos usados en la industria farmacéutica, alimentaria, peletera ⁽⁸⁾.

Esta realidad dio la iniciativa al investigador a realizar más indagaciones sobre la planta mencionada, ya que existen estudios realizados que han encontrado taninos y flavonoides mediante un estudio fitoquímico del extracto de *Caesalpinia spinosa*, que se encuentran en diferentes partes de la planta. Disolviéndose en agua, etanol, acetona y otros disolventes orgánicos. Con actividad farmacológica como antihemorrágico local, antidiarreico, antihepatóxica y antibacteriano ⁽⁸⁾.

En esta orientación la investigación tiene como propósito recopilar información y conocimiento científico comprobado mediante los procesos experimentales realizados para ayudar en el tratamiento de las patologías descrita anteriormente.

Así mismo la característica de la realidad problemática descrita anteriormente se puede agravar si no hay un estudio experimental y explicativo adecuado con respecto a los metabolitos secundarios presentes en esta especie, con este propósito se pretende construir un tratamiento antibacteriano alternativo.

1.2 IDENTIFICACIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1 PROBLEMA GENERAL

¿El extracto hidroalcohólico del fruto de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) tendrá efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027?

1.2.2 PROBLEMAS ESPECÍFICOS

1. ¿Existen metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto hidroalcohólico del fruto de *Caesalpinia Spinosa* (Tara)?
2. ¿Existe una concentración del extracto hidroalcohólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* (Tara) con mayor efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027?
3. ¿El extracto hidroalcohólico del fruto de extracto hidroalcohólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* (Tara) presenta efecto bacteriano in vitro comparado con Ceftazidima en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Determinar los metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto hidroalcohólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* (Tara).
2. Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* (Tara) que presente mayor efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027
3. Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* (Tara) con Ceftazidima en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

1.4 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

En la teoría se llega a justificar esta investigación, ya que el estudio aportara bases teóricas y científicas sobre la *Caesalpinia Spinosa* (Tara) que es una planta propia de la biodiversidad nativa peruana, siendo una de las especies forestales más importantes, ha sido utilizada de diversas formas desde nuestros antepasados hasta la actualidad en la medicina alternativa o tradicional por sus actividades para curar ⁽⁹⁾.

Volver al método alternativo con plantas con actividad medicinal, nos lleva a estudiar los efectos farmacológicos, y muchos medicamentos nuevos que se descubren ⁽¹²⁾.

Empíricamente esta planta ha sido utilizada, por sus actividades curativas, en infecciones bronquiales, como antiinflamatorio, en caso de sinusitis; infecciones vaginales y hongos, heridas crónicas y piezas dentales con caries dental, para el dolor de estómago, las diarreas, cólera, reumatismo y como depurador de colesterol ⁽¹⁾.

Además la Tara también tiene propiedades que benefician al medio ambiente, ya que es capaz de mejorarlo, gracias a que tiene la capacidad de recuperar áreas degradadas, que por el mal uso del hombre perdieron su vegetación y terminaron como suelos empobrecidos, esto se debe a la peculiaridad de que fija el Nitrógeno del aire en el suelo a través de las bacterias que habitan en sus raíces, otra cualidad es que por la profundidad de sus raíces facilitan la absorción del agua, lo que hace que el suelo se vuelva más húmedo y pueda soportar sequías ⁽²⁾.

Si hablamos en el factor económico, la Tara también brinda beneficios a nuestro país, ya que, en el 2018 el Perú exportó un valor FOB de US\$ 4002 mil dólares en mercado americano, europeo y asiático, entre otros; se tiene como perspectiva un 80% de exportación de Tara, por lo que es necesario incentivar e incrementar el cultivo de esta, para cubrir la demanda del mercado ⁽²⁾.

En consecuencia, a estos estudios, la presente investigación busca encontrar en un estudio in vitro que el extracto hidroalcohólico de la Tara posee propiedades antibacterianas que inhiban a la bacteria del *Pseudomonas aeruginosa*, causante de infecciones en el paciente.

El estudio experimental se realizará en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega donde se buscará ver la efectividad de la planta sobre *Pseudomonas aeruginosa* la cual constituye un problema de salud importante en los diversos hospitales de nuestro país. Frente a ello, las alternativas de tratamiento para estas infecciones en pacientes hospitalizados, tienden a ser limitadas en algunos casos. Esto se da, en parte, por el diverso arsenal de antibióticos y entonces las bacterias crean

resistencia a los medicamentos por la automedicación. Porque no son utilizados en concentraciones terapéuticas o por tiempos largos e innecesarios.

Ante esta problemática existente se elogió una metodología de un estudio experimental buscando obtener diferentes alternativas de uso para nuestro país, la motivación de investigar nos dirige a que esta planta se siga utilizando como medicina alternativa, apoyándonos en sus principios activos (taninos) y referenciándonos en el uso de las le dan en tratamiento de gárgaras y lavado de heridas. Se han reportado que la tara posee tanino, flavonoides, gomas, alcaloides y proteínas que le brindan un poder contra diversos microorganismos causantes de patologías ⁽¹⁰⁾.

Con esta investigación, se quiere dar a conocer que el fruto de *Caesalpinia spinosa* (Tara) tiene una actividad inhibidora in vitro del crecimiento bacteriano e incluyéndola como tratamiento de infecciones leves, moderadas y enfermedades crónicas obteniendo mejoras terapéuticas, ya que las esencias vegetales poseen márgenes terapéuticos mayores que los medicamentos de origen sintético, efectos secundarios disminuidos, por la limitación en el uso nosocomial, donde las bacterias aún no han desarrollado mecanismo de resistencia ante esta planta.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1 Antecedentes Nacionales

Bazán, L. (2018) “Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de los extractos acuoso e hidroalcohólico de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).” Las esencias acuosas e hidroalcohólicas en diferentes concentraciones de la *Caesalpinia spinosa* (taya), ante colonias de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), por disco-difusión y concentración mínima inhibitoria, según CLSI. Se hizo 10 veces consecutivas y se utilizó el gluconato de clorhexidina al 0.12% como control positivo. La esencia acuosa de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en concentraciones al 10%, 50% y 100%, por el método de disco difusión, se obtuvo 6 mm en la medida del halo de inhibición para esencia acuosa al 10%, 7.9 mm para concentraciones del 50% y 11.4 mm para el 100%. Por otro lado, el extracto hidroalcohólico de taya en concentraciones al 10%, 50% y 100%, por el método de disco difusión, presentó halos de inhibición con una media de 6 mm, respectivamente. El gluconato de clorhexidina al 0.12% (control positivo) presentó halos de inhibición con una media de 16.35 mm. Se determinó que la concentración mínima (CMI) capaz de inhibir a *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) fue del 100%, tanto para el extracto acuoso e hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (taya). Se concluyó que el extracto acuoso de taya en altas concentraciones (50% y 100%) posee efecto antibacteriano *in vitro*, sobre colonias de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Las medias de los halos de inhibición, así como las

CMI de los extractos acuoso e hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (taya) no supera al gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre colonias de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) ⁽¹³⁾.

Cárdenas M Quintana P. (2017) “Efecto sinérgico antibacteriano in vitro del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (Tara) y del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) EN CEPAS *Escherichia Coli*”. Establecer el sinergismo ante las bacterias, in vitro, de la esencia acuosa de *Caesalpinia spinosa* (Tara) y de la esencia hidroalcohólica de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en familias de *Escherichia Coli*. La evidencia del sinergismo de la esencia acuosa de taya y de la esencia hidroalcohólica de calaguala frente con *Escherichia Coli*, se obtuvo mediante el método de difusión en discos. Para el control positivo se usó a la gentamicina 80mg y 160mg y cloruro de sodio como blanco. En resumen, la esencia acuosa de tara y la esencia hidroalcohólica de los rizomas de Calaguala no tiene resultado sinérgico ante las bacterias. Cuando aumentamos la concentración de la esencia acuosa de taya y de la esencia hidroalcohólica de los rizomas de Calaguala, tenemos resultados de menor tamaño de halos inhibidos. Y al 10% de la concentración de la esencia de taya y de la esencia hidroalcohólica de los rizomas de Calaguala, es cuando los tienen igual medida de halos de inhibición que con la solución de tara, a más concentración no se observa mayor halo de inhibición ⁽¹⁴⁾ .

Cortez, K y Mego, L. (2017) “Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* “Tara”, frente a *Streptococcus mutans*.” Establecer el resultado bactericida, in vitro, de la esencia hidroalcohólica de las vainas de *Caesalpinia spinosa* “Tara”, contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Esta planta fue traída desde el pueblo de Pariamarca, departamento de Cajamarca. Se extrajeron los metabolitos secundarios bajo la forma de esencia hidroalcohólica de las vainas de *Caesalpinia spinosa*

“Tara”, se usó el método de Kirby Bauer, y así obtener el resultado bactericida, se empleó como controles el con Gluconato de Clorhexidina y alcohol de 70°. Concluyendo, la esencia hidroalcohólica de las vainas de *Caesalpinia spinosa* “Tara” en las concentraciones 10%, 50% y 100%, nos mostró como resultado bactericida, que el halo de inhibición se incrementa proporcionalmente al aumento de la concentración de la esencia hidroalcohólica de las vainas de *Caesalpinia spinosa* “Tara” ⁽¹⁵⁾.

Núñez W.et al (2016) “Actividad antioxidante y antienzimática in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara)”. Se estableció como objetivo la exploración potencial antioxidante, antienzimático y antiinflamatorio de la esencia hidroalcohólica de vainas de *Caesalpinia spinosa* “Tara”. Se determinó la acción antioxidante balanceando los radicales y del ácido. Inhibiendo las enzimas colagenasa y elastasa se valoró la acción antienzimática. La eficiencia antiinflamatoria se delimitó, con 30 ratas albinas de cepa Holtzman (200 gr ± 20 gr), divididas al azar en 5 grupos de 6, el control fue suero fisiológico, el grupo estándar fue indometacina y los grupos con esencia hidroalcohólica en cantidad de 50, 100 y 250 mg/kg, consecutivamente. Usando el procedimiento de incitación de edema plantar en ratas por λ-carragenina. Obteniendo resultados de acción antioxidante superiores a la del patrón de referencia trolox. Para la acción antienzimática, la esencia presentó un potencial superior de inhibición de la enzima colagenasa, frente al control positivo galato de epigallocatequina, no presentando acción mínima para la inhibición de la enzima elastasa. En cuanto a la acción antiinflamatoria con la esencia de 250 mg/kg, redujo la hinchazón en 44,854% en un tiempo de 6 horas, pero, al mismo tiempo la indometacina de 5 mg/k se redujo a 48,267%; las esencias de 100 y 50 mg/g igualmente redujeron los edemas proporciones menores que el estándar. En resumen, la esencia hidroalcohólica de *Caesalpinia*

spinosa (Tara) si tiene acción antioxidante, antienzimática, antiinflamatoria ⁽¹⁶⁾.

Montenegro, A, y Ramos, D. (2016) “Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Porphyromonas gingivalis*” de la Universidad Mayor de San Marcos. Determinar la actividad antibacteriana in vitro de las concentraciones 6,25; 12,5; 25; 50 y 75 mg/mL de la esencia alcohólica de la *Caesalpinia spinosa* “Tara” (EACS) en cepas de *Porphyromonas gingivalis*. El estudio experimental in vitro se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM, se empleó el método de difusión en placa comparando la esencia del extracto alcohólico de *Caesalpinia Spinosa* y de Clorhexidina 0,12% (control positivo) y Alcohol 96° (control negativo). Se obtuvo como resultado: la esencia alcohólica de *Caesalpinia Spinosa* posee efecto antibacteriano sobre *Porphyromonas gingivalis*, mostrando también que el efecto es no proporcional al aumento de la concentración de la esencia, puesto que no aumenta el diámetro del halo de inhibición. Concluyendo así, la evidencia del efecto antibacteriano sobre *Porphyromonas gingivalis*⁽¹⁷⁾.

Abanto, M. (2016) “Efecto antibacteriano, in vitro, del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “Tara” sobre streptococcus mutans ATCC 25175. Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “Tara”, frente a cepas de streptococcus mutans ATCC 25175. La prueba de susceptibilidad, fue realizada mediante el método de difusión en discos; obteniendo como resultado que el extracto a diferentes concentraciones presentó halos de inhibición y los tamaños de dichos halos crecieron de acuerdo al aumento de concentración del extracto. Para determinar la concentración mínima inhibitoria utilizaron el método de dilución de tubos, a diferentes concentraciones 40%, 60% y 80 % de la esencia etanólica de *Caesalpinia spinosa* “Tara”; los cultivos fueron

sembrados de Agar Mueller Hinton – Sangre. El resultado fue que la esencia etanólica de *Caesalpinia spinosa* “Tara” al 80% dio como resultado un halo de inhibición 14.80mm y su CMI fue la del 40%. En conclusión, quedó demostrado el efecto antibacteriano in vitro de la esencia etanólica de *Caesalpinia spinosa* “Tara” en cepas streptococcus mutans ATCC 25175⁽¹⁸⁾.

Zárate, M. (2014) “Efecto, in vitro, antibacteriano del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* “Tara” sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *escherichia coli* aisladas de pacientes del hospital regional docente de Trujillo” para evaluar la actividad antibacteriana in vitro de la esencia acuosa de *Caesalpinia spinosa* (“Tara”), en cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli*, aisladas del Hospital Regional Docente de Trujillo. Este estudio experimental, para su realización usó muestras de orina (80) de personas con infección a las vías urinarias causada por *Escherichia Coli* y otras muestras (80) con pacientes con Faringoamigdalitis causadas por *Streptococcus Pyrogenes*; Se aplicó la esencia acuosa de *Caesalpinia Spinosa* a las muestras de cepas aisladas para determinar si hay efecto antibacteriano. Se demostró: que usando como bacteria a la *Streptococcus Pyrogenes* y en comparación con la esencia acuosa de *Caesalpinia Spinosa* con amoxicilina, si hubo efecto antibacteriano ya que presento alta sensibilidad; el de la esencia acuosa de *Caesalpinia Spinosa* comparado con Cotrimoxazol mostró también el igual resultado que con la anterior prueba; Usando las cepas de *Escherichia coli* y comparación con la esencia acuosa de *Caesalpinia Spinosa* con gentamicina también se evidenció igual resultado que las muestras anteriores, obteniendo diferencia al comparar el extracto acuoso de *Caesalpinia Spinosa* frente al Ciprofloxacino donde el efecto antibacteriano fue menor que las muestras anteriores⁽¹⁹⁾.

Rojas, N., et al (2011) “Tratamiento de quemaduras con películas obtenidas por radiación gamma que contienen extracto

hidroalcohólico de Tara (*Caesalpinia spinosa*) en animales de experimentación”. Determinar la actividad cicatrizante de hidrogeles elaborados con radiación gamma empapados con extracto hidroalcohólico de tara (*Caesalpinia spinosa*); El estudio se realizó aplicando el hidrogel en conejos con quemaduras en la piel, con el fin de determinar el grado cicatrizante comparándolo con hidrogel solo y Nitrofuril. Se evaluó a los a la semana, a las 2 semanas y a las 3 semanas, de la siguiente manera: la primera fue macroscópicamente y microscópicamente (biopsias); y otra calculando el área y el porcentaje de retracción de la quemadura. Los obtuvo lo siguiente: a la primera semana, se evidenció actividad cicatrizante en el área de las heridas de los grupos (p:0.002), mientras que el grupo Q-APV-EHAT, el resultado fue menor que con Nitrofuril. A la segunda semana, no se evidenció actividad cicatrizante significativa entre los grupos de tratamiento. A la tercera semana, se evidenció actividad cicatrizante significativa entre los grupos de tratamiento, el grupo tratado con Q-APV-EHAT tuvo resultado significativamente menor que el grupo tratado con Nitrofuril, mientras que el grupo tratado con hidrogel solo (esencia de Tara) también obtuvo un resultado significativamente menos que con el Nitrofuril. En cuanto al resultado por Microscopia tomado a la primera, segunda y tercera semana nos mostró mayor actividad cicatrizante con el Q-APV-EHAT. Finalizando así el estudio, acotando que el hidrogel de quitosano-alcohol polivinílico empapado con la esencia hidroalcohólica de tara tiene mayor actividad cicatrizante que la esencia hidroalcohólica de tara sola, las películas de quitosano (sin extracto de Tara) y el Nitrofuril⁽²⁰⁾.

2.1.2 Antecedentes Internacionales

Durán L, Mateo David (2018), “Evaluación IN VITRO de la capacidad inhibitoria de taninos presentes en la Tara (*Caesalpinia spinosa*) frente a *Fusarium* sp.” El objetivo de este trabajo de investigación fue, evaluar *in vitro* la acción de los taninos de la tara (*Caesalpinia spinosa*) frente a *Fusarium* sp. Comprobando su capacidad inhibitoria. Se

usaron muestras de vaina de Tara (*Caesalpinia spinosa*), acondicionadas para obtener taninos mediante la extracción acuosa e hidroalcohólica; para la identificación de taninos se realizaron pruebas cualitativas (coliremetria) y cuantitativas (espectrofotometría aplicando el método Folin-ciocalteu), para la determinar el porcentaje de inhibición radial se hace a través de la prueba de disco. De los cuatro tratamientos de extracción de taninos, la extracción acuosa por calentamiento (EAC) obtuvo un promedio de 5,88 g de ácido gálico/100g de muestra seca; al contrario, el AHA presento la menor concentración de taninos, con un promedio de 0,23 g de ácido gálico /100 g de muestra seca. El EAC inhibió el crecimiento radial en un 34,80% de fusarium sp⁽²¹⁾.

Guillen R. Haro, A. (2015) “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 Enterococos Faecalis”. Esta investigación realizada in vitro para determinar el efecto antibacteriano de la esencia alcohólica de Tara 100% contra el hipoclorito de sodio 5,25% en cepas de bacterias del Enterococcus Faecalis. Se embebió sensidiscos con 50uL de cada muestra, incluyendo los controles, y se colocó en placas con medios de cultivo Mueller Hilton, que previamente fueron inoculadas con la bacteria Enterococcus Faecalis - ATCC 29212, las muestras se incubaron a una temperatura de 37°C en un tiempo de 24 a 72 horas. Los resultados obtenidos se representaron en halos inhibitorios los cuales demostraron que las dos soluciones tuvieron efecto antibacteriano; las más efectivos durante las primeras 24 h fue la solución de NaOCl 5,25% cotejando con la esencia de Tara 100%. Además, cabe resaltar se estudió también el efecto de sustentividad de ambas soluciones en el transcurso del tiempo de 48 a 72 h; evidenciando que el extracto de Tara 100% tiene un efecto antimicrobiano mayor y prolongado en comparación con el NaOCl 5,25%, el cual presentó un efecto antibacteriano menor⁽²²⁾.

Aguilar, A, Noratto “Potencial de Tara (*Caesalpinia spinosa*), galotaninos e hidrolizados como compuestos antibacterianos naturales” Los Galotaninos obtenidos de extractos de tara pod (EE) y de los productos de la hidrólisis ácida durante 4 y 9 h (HE-4 y HE-9) se caracterizaron por tener en su composición, actividad antioxidante, actividad antimicrobiana (AA) y concentración mínima inhibitoria (MIC).Según se muestran los resultados de la actividad antimicrobiana y la concentración mínima inhibitoria demostraron que los galotanino del extracto ejerció actividad inhibitoria según el orden: más alta contra *Staphylococcus aureus* , seguido de *Pseudomonas fluorescens* ; y entre estas bacterias, la potencia antibacteriana se mejoró después de la hidrólisis de EE solo contra *S. aureus*. El valor más bajo de concentración inhibitoria mínima (CMI) (0,13 mg de ácido gálico equivalente (GAE) / ml) fue ejercido por HE-4 contra *S. aureus*. Estos resultados indican que los galotaninos tara tienen el potencial de inhibir bacterias patógenas con posible aplicación en alimentos, ya que los antimicrobianos y su AA pueden potenciarse mediante la hidrólisis ácida ⁽²³⁾.

Añanca, E. (2009), “Efecto Antibacteriano in vitro del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia Spinosa (Tara)* en cepas de *staphylococcus aureus* y *streptococcus pyogenes*”. Determinar la capacidad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de vainas de tara frente a bacterias patógenas clínicamente conocidas. Para este estudio utilizaron las vainas previamente molidas (polvo), del material vegetal se obtuvo y se estandarizaron también diferentes concentraciones del extracto, como siguiente paso se impregnó el extracto acuoso en discos de antibiogramas. Para la prueba microbiológica se utilizó las cepas de las bacterias: *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, que se obtuvieron de pacientes ambulatorios, mediante exudados faríngeos (los cuales se lograron aislar e identificar experimentalmente). Usando los métodos de macrodilución, determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), Kirby-Bauer,

para determinar la sensibilidad y la determinación de la concentración mínima bactericida CMB, en las diferentes muestras a diferentes concentraciones del extracto. Se concluyó, que el extracto acuoso de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) presenta inhibición sobre las bacterias mencionadas, demostrando así el efecto antibacteriano en las cepas de estudio ⁽²⁴⁾.

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 *Caesalpinia Spinosa* (Tara)

La planta *Caesalpinia spinosa*, es una especie forestal nativa de Perú, utilizada desde la época prehispánica en la medicina folclórica o popular por sus propiedades curativas; recientemente, como materia prima en el mercado mundial de hidrocoloides alimenticios ⁽²⁵⁾.

Se denomina *Caesalpinia* en honor al filósofo y botánico Caesalpini (1524 - 1603) y *Spinosa* del latín spinosus-a-um, con espinas.

A la Tara se le da diversos nombres en nuestro país (Tara o taya)⁽⁹⁾.

2.2.1.1 Características etnobotánicas

Arbusto: tiene una altitud de 2 a 3 m, de asta corta, cilíndrico y en ocasiones curvo, en su tronco tiene la corteza gris espinosa, con ramillas compactas. Muchas veces las ramas salen de la base pareciendo que tuviera varios tallos. De copa irregular, aparasolada y poco compacta, con ramas ascendentes ⁽²⁷⁾.

Corteza: cuarteada, color marrón claro, de color marrón claro, provisto de púas triangulares, gruesos y cortos (cuando son adultos); corteza interna de color rosado claro ⁽²⁶⁾.

Hojas: son pinnadas a ambos lados, están alternadamente puestas como espiral, peciolo de dos a tres centímetros, raquis de tres a siete centímetros de largo, las pinnas una al frente de la otra de dos a tres pares, su base no tiene simetría y el conjunto de sus nervios no primarios de sus hojas aproximadamente de siete a ocho pares ⁽³⁾.

Inflorescencia: con ramilletes terminales de 15 a 20 cm ⁽²⁷⁾.

Frutos: son de fruto que no se abre espontáneamente al llegar a la madurez para liberar las semillas. De cubierta color naranja de ocho a diez centímetros longitud y dos centímetros de ancho en aproximado, conteniendo de cuatro a siete semillas redondas de aproximadamente 0.6 centímetros a 0.7 centímetros de diámetro, cuando empiezan a madurar van cambiando su color desde el amarillo al anaranjado- rojizo de esponjosa textura ⁽²⁶⁾.

Flores: se encuentran alejadas, flores bisexuales, poseen un plano de simetría bilateral, cáliz desigual provisto de 1 sépalo largo de alrededor de un centímetro, y en los bordes muchos apéndices y hundido, sus pétalos de color amarillento, puestas en ramilletes de ocho a veinte centímetros de longitud, un árbol de Taya puede darnos un aproximado de veinte a cuarenta kilogramos de fruto cosechándolos 2 veces por año ⁽²⁸⁾.

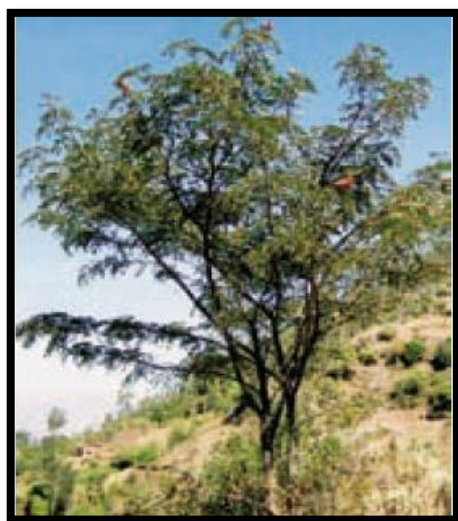


Figura 1. Fotos de: árbol, flor y frutos de la C. spinosa

Fuente: Árboles De Los Ecosistemas Forestales Andinos
Manual de Identificación de Especies.



Figura N° 2: Dibujo de ramas, flor y fruto de la C. Spinosa

Fuente: Árboles De Los Ecosistemas Forestales Andinos.
Manual de Identificación de Especies.

2.2.1.2 Distribución geográfica

CAESALPINIA SPINOSA (TARA) la encontramos en los departamentos de Ancash, Apurímac, Ayacucho, Cuzco, Huánuco, Junín, Moquegua, Tacna, Piura y Lima ⁽²⁸⁾.

Al sur de la provincia de Arequipa, algunos terrenos de Ica, Lima y Cañete, donde se encuentran suelos arcillosos o pedregosos ⁽²⁸⁾.

En el valle de Apurímac que limita por el lado superior de 3150 m.s.n.m. y el valle del Mantaro, *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) se encuentra en las laderas que va de Ayacucho hasta el río Pongora, con alturas desde los 6 30´ de latitud sur, se le encuentra entre los 2500 y 2900 m.s.n.m. ⁽²⁸⁾.

En las alturas de 900 y 2000 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.) de los Andes peruanos: al sur del occidente entre los valles Corumas, de Cotahuasi, de Coracora y del río Lomas ⁽²⁹⁾.

Al occidente de la vertiente del Ande central de Perú, que se ubica entre el valle del río Pisco, entre 800 y 2000 m.s.n.m., del río Rímac entre los 2400 y 2900 m.s.n.m. y en los Ocos entre 2300 y 2900 m.s.n.m.; en el Nepeña, entre 2000 y 2800 m.s.n.m. En el río Santa entre los 2000 y 2800 m.s.n.m ⁽²⁹⁾.

2.2.1.3 Hábitat

CAESALPINIA SPINOSA (TARA) se desarrolla en climas secos, cálidos y subcálidos de nuestro país, entre los andes y valles interandinos de la vertiente del occidente. *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) es una planta denominada "rústica" porque resiste a la sequía, plagas y enfermedades y

es considerada como una especie bastante plástica. La Tara es una especie poco exigente en cuanto a la calidad de suelo, aceptando suelos pedregosos, degradados y hasta lateríticos, aunque en esas condiciones reporta una baja producción; sin embargo, desarrolla en forma óptima y con porte arbóreo robusto en los suelos de "chacra"; es decir suelos francos y franco arenosos, ligeramente ácidos a medianamente alcalinos ⁽²⁹⁾.

2.2.1.4 Clasificación taxonómica

Nombre científico: ***Caesalpinia spinosa (Mol.) O. Kuntz.***

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Faba/es

Familia: Caesalpinaceae

Género: Caesalpinia

Especie: Spinosa

Nombres comunes: Tara, taya (Perú), Guarango, Vainillo (Ecuador), Dividive, Dividivi, Guarango (Colombia), Tara (Bolivia, Chile, Venezuela), Acacia, Dividi de los Andes (Europa).

2.2.1.5 Composición Química de la tara

En las **semillas** se encuentran:

- Aceites volátiles ⁽²⁹⁾.
- Ácidos grasos (lípidos 5,68%) ⁽²⁹⁾.
- Antocianinas ⁽²⁹⁾.
- Esteroides ⁽²⁹⁾.
- Triterpenoides ⁽²⁹⁾.

- Flavonoides ⁽²⁹⁾.
- Resinas ⁽²⁹⁾.
- Taninos (0,22%), ⁽²⁹⁾.
- Antracenos ⁽²⁹⁾.
- carbohidratos (fructosa, glucosa, sacarosa) ⁽²⁹⁾.
- Proteínas (17,86%) ⁽²⁹⁾.
- Vitaminas además iones y minerales (ca fósforo 270mg, Odio, potasio, cloruros, nitratos, sulfatos) ⁽²⁹⁾.

Hojas:

- Glicósidos ⁽²⁹⁾.
- Gomas ⁽²⁹⁾.
- Mucílagos ⁽²⁹⁾.
- Taninos (12,7% en la forma de taninos gálicos) ⁽²⁹⁾.
- Antraquinonas (libres en mayor cantidad que combinadas al estado glicosídico): reína, sennósido, agliconas libres, C-glicósidos, -aloeemodina e iso-emodina, esteroides y flavonoides⁽²⁹⁾.

Vaina:

Encontramos una gran cantidad de taninos en el fruto de la Tara, tomando un color amarillo pálido, sus hojas cuando se muelen forman el polvo de taya. Este agente tánico amigable con el medio ambiente utilizado en la industria ⁽³⁰⁾.

2.2.1.6 Metabolitos primarios presentes en *Caesalpinia spinosa* (tara)

Carbohidratos

Se les considera la primera fuente de energía y a su estructuración de la célula. Como: polihidroxialdehidos o polihidroxicetonas, los hidratos de carbono (CH₂O), son sacáridos o glúcidos ⁽⁴¹⁾.

Polisacáridos

Son compuestos por muchos cientos, miles de unidades de monosacáridos que tienden a enlazarse unos con otros por unión glucosídica, llamándose con otro nombre como glicanos (41).

De estas sustancias algunas ayudan a dar consistencia para que las plantas resistan, y las demás acumulan la provisión de energía para alimentar a las plantas. Tenemos: mucílagos, gomas, celulosa, pectina, etc. Por descomposición completa, con ácidos o con enzimas específicos, estos glicanos nos dan como resultado. La molécula que más encontramos es La D-glucosa (41).

2.2.1.7 Metabolitos secundarios presentes en *Caesalpinia spinosa* (tara)

Las sustancias de que tienen efecto antibacteriano que se encuentran en cada planta son los polifenoles donde tenemos:

Taninos, quinonas, flavonoides, cumarinas, otros como los terpenoides, aceites esenciales, los alcaloides, lecitinas y polipéptidos, entre otros (40).

El efecto antimicrobiano de los taninos está en función de impedir a las bacterias del medio apropiado para su crecimiento donde se inhibe enzimáticamente el alimento, acción de membrana y pérdidas de iones metálicos, también los taninos producen en las bacterias cambios morfológicos.

Taninos

Son metabolitos secundarios, que son hábiles formando complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas que se usan en cada planta como una forma de defensa contra cada insecto ⁽³¹⁾.

Precipitan con las proteínas, debido a la función astringente que estos tienen, la astringencia se explica cuando un tanino se une a una macromolécula y provoca que las glicoproteínas que tiene prolina precipiten ⁽³¹⁾.

Los taninos biológicamente son metabolitos secundarios que producen las plantas con función septicida y para conservarse ⁽³¹⁾.

Los taninos de las plantas sin duda tienen gran importancia, y esto ha ido creciendo a través del paso de los años hasta la actualidad, encontrando sus beneficios y sus usos tan variados.

Su uso más común se remonta a la industria del cuero donde se usaba para proceder a curtirlo, donde se aprovechaba su acción de hacer precipitación en la proteína, y esta acción también fue usada en la medicina aplicando a tejidos vivos teniendo como efecto una acción terapéutica, como las escoriaciones, tratar el tracto gastrointestinal, y quemaduras de la piel ⁽⁴⁰⁾.

Cuando hay una piel quemada los taninos actúan como astringentes, donde las proteínas forman una capa protectora antiséptica donde se hace la regeneración de los tejidos ⁽⁴⁰⁾.

Encontramos a los taninos, a cada parte que tiene una planta: como sus hojas, tallos, semillas y cúpulas. En el caso de las plantas herbáceas, están presentes grandes cantidades en las raíces, y una pequeña cantidad cuando se trata de plantas anuales ⁽⁴²⁾.

Características

- ❖ sustancias químicas que no llegan a cristalizarse y en solución acuosa forma coloides, reacción ácida y sabor astringente ⁽³¹⁾.
- ❖ Llegan a precipitar con gelatina, albúmina y alcaloides disueltos en agua ⁽³¹⁾.
- ❖ En soluciones con sal férrica tenemos como resultado verdoso o negro azulado ⁽³¹⁾.
- ❖ Reaccionan con ferrocianuro de potasio y amoníaco. Produciendo coloración rojo intenso ⁽³¹⁾.
- ❖ En soluciones proteicas se combinan llegando a precipitarse, haciendo que se resistan a las enzimas proteolíticas. Anteriormente ya se mencionó sobre el efecto astringente de estos ⁽³¹⁾.

Al contactarse con el aire estas sustancias llegan a oxidarse rápidamente, no tienen olor, y sabor es agrio, se disuelven en agua, alcohol y acetona ⁽⁴⁰⁾.

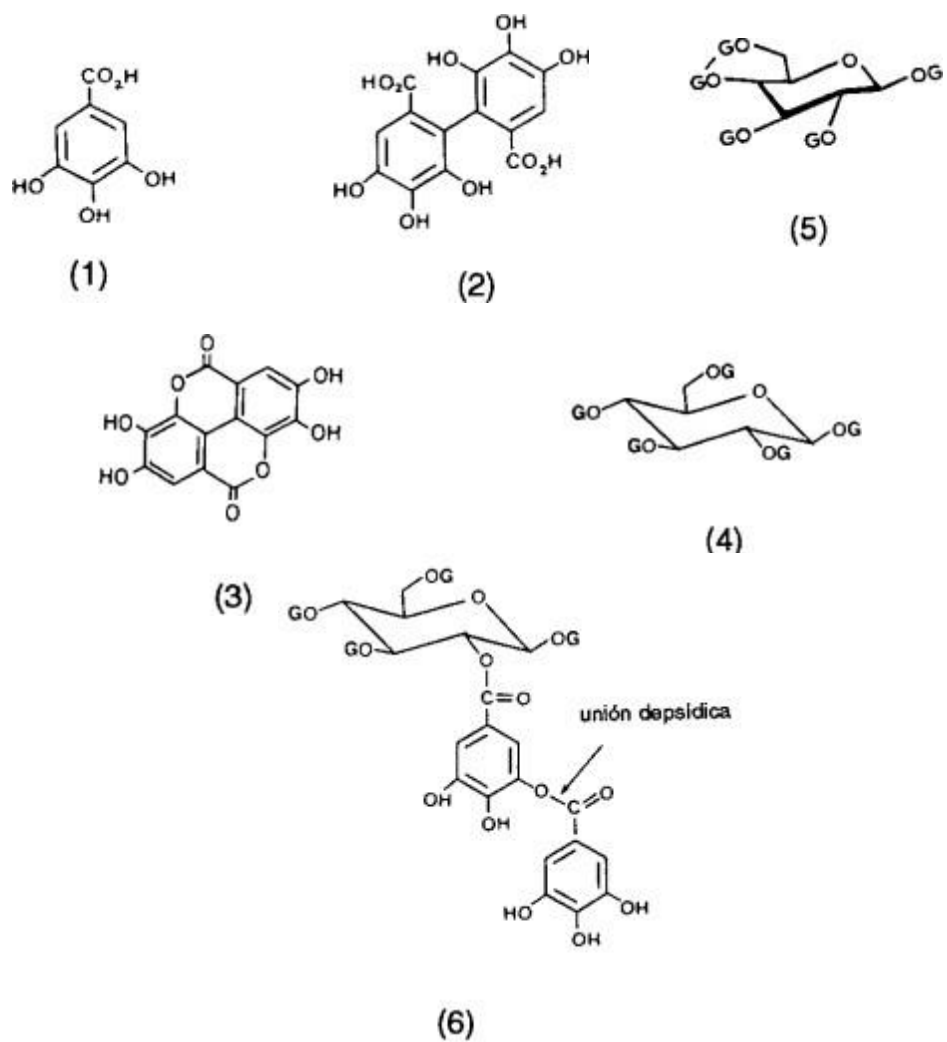


Figura 3: Estructuras de los Taninos (1) ácido gálico. (2) ácido hexahidroxi difénico. (3) ácido elágico. (4) f3-penta-o-galoil-glucopiranas. (5) hexahidroxi difenoil ésteres. (6) gaitanino con uniones depaidicas. G=galoilo

Clasificación:

Según Freudenberg, clasifica los taninos de acuerdo al tipo de estructura de la base, se agrupan en 2 grandes grupos: taninos que se hidrolizan y taninos que se condensan ⁽⁴²⁾.

➤ Taninos hidrolizables

Los ácidos, bases o enzimas, hacen que se hidrolicen rápidamente, en su azúcar, un polialcohol y un ácido fenolcarboxílico. Se sub clasifican en: galotaninos (ácido gálico) y elagitaninos (ácido elágico o dilactoma estable del ácido hexahidroxi-difénico), dependiendo del tipo de ácido que producen. Con cloruro férrico dan color azul, ya que los núcleos que contienen benceno están unidos de átomos de oxígeno ⁽⁴²⁾.

Un ejemplo del grupo de los galotaninos, que se obtiene de las vainas de “Tara”; la enzima tanasa llega a hidrolizarle fácilmente a este tipo de tainos ⁽⁴²⁾.

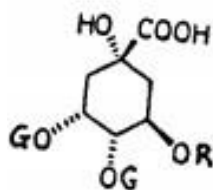


Figura 4. Estructura de Ácido Gálico

También identificada por cromatografía de papel en muestras de tara, eucalipto es la glucogalina, que se obtiene del ruibarbo (*Rheum officinale*), y cuya estructura mostramos a continuación ⁽⁴²⁾:

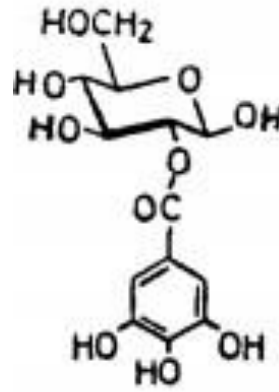


Figura 5. Estructura de la Glucogalina

En el caso de los Elagitaninos, tenemos como ejemplo al Corilagin, que es el primer tanino, de este tipo, de *Caesalpinia Coriaria* o conocida comúnmente como “Divi-Divi” ⁽⁴²⁾.

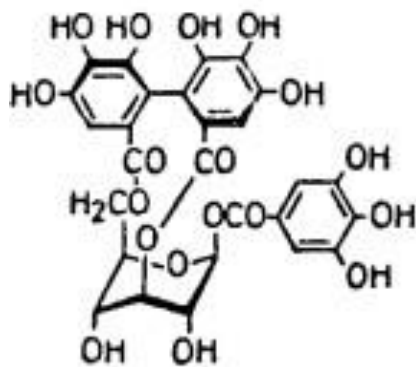


Figura 6. Estructura del Corilagin

➤ **Taninos condensados**

Son taninos condensados dímeros o polímeros flavánicos con uniones carbono – carbono con diferente unidad de flavan-3-ol. Llegan a formarse por polimerización de catequinas y leucoantocianos. Se encuentran en Dicotiledóneas, helechos y Gimnospermas. Se resisten a hidrolizarse. Solo llegan a afectarse cuando se hidrolizan con ácidos o enzimas convirtiéndose en antocianidinas, polimerizando para formar los flobáfenos insolubles ⁽³¹⁾.

Destilándose en seco da como resultado el catecol (1,2-dihidroxibenceno). Recibiendo así el nombre de taninos catequicos. En (FeCl₃) los taninos condensados dan un color verde. Estos se encuentran en 3 formas principalmente: extractables (reactivos con proteína), ligados a proteína, y ligados a fibra. Algunas leguminosas los taninos son extractables y en otras donde todos son ligados ⁽³¹⁾.

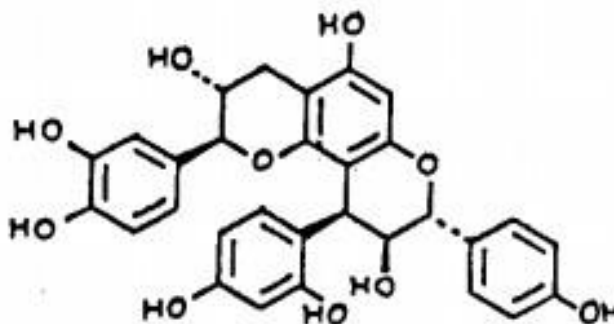


Figura 7. Estructura de Tanino de J. Globiflora Corilagin

Actividad terapéutica:

La terapéutica de los taninos se relaciona con sus propiedades principales: como son.

1. Cuando hay intoxicación con un metal pesado y alcaloide, es el mejor antídoto ⁽³¹⁾.
2. Se usa externamente como cicatrizante debido a su acción de hacer precipitación con las proteínas de la piel e internamente como antidiarreico por su efecto astringente ⁽³¹⁾.
3. Por su efecto bacteriostático, antifúngico y bactericida se le usa como un gran antiséptico.
4. Nos protegen al impermeabilizar la piel usados como pomada externamente ⁽³¹⁾.
5. Van a impedir que la vitamina C se auto oxide, también captan gran cantidad de radicales libres e impiden la peroxidación lipídica ⁽³¹⁾.
6. Son Hipocolesterolémicos, disminuyendo el colesterol en sangre y aumentando su metabolismo ⁽³¹⁾.
7. Antinutrientes, algunos taninos bajan el efecto de algunos nutrientes inhibiendo las enzimas endógenas o porque se absorben y ejercen precipitación de proteínas en la dieta ⁽³¹⁾.

Flavonoides

Se encuentran en las plantas, son pigmentos naturales que se encuentran en los alimentos y el ser humano no puede producir y los obtiene a través de la dieta diaria, o en forma de suplementos; son protectores de los oxidantes como los rayos ultravioletas ⁽³¹⁾.

En el año 1930 Szent-Gyorgy los descubrió al aislar de la cascara del limón la citrina, que regulaba la permeabilidad de los capilares; al inicio los flavonoides los llamaron vitamina P

y también vitamina C₂, pero, no pudieron confirmarse que los flavonoides fueran vitaminas, y en los años 1950 se dejó de darles esta denominación ⁽⁴³⁾.

Tienen grandes efectos en terapias de patologías, como: cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer. Tiene numerosos grupos hidroxilo fenólicos y su excelente acción de quelación del hierro y otros metales de transición, adquiriendo numerosas capacidades antioxidantes; es por eso que desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo ⁽⁴³⁾.

Características de los flavonoides

Estructuralmente son de tipo C₆-C₃-C₆, conteniendo 2 anillos aromáticos (bencénicos) uniéndose uno a uno, por una cadena de 3 carbonos ciclada ayudada por un oxígeno. Son de estructura hidroxiladas (OH) en el benceno por lo tanto son polifenólicas ⁽³¹⁾.

Clasificación de los flavonoides

Estructuralmente su clasificación es:

- Con 2 enlaces entre las posiciones 2 y 3: flavonas ⁽³¹⁾.
- Con 2 enlaces en OH ⁽³¹⁾.
- Flavonoles: con un solo enlace entre las posiciones 2 y 3⁽³¹⁾.
- Flavanonas: Con el anillo C ⁽³¹⁾.
- Chalconas: Con el anillo B en la posición 3 ⁽³¹⁾.
- Isoflavonoides
- Neoflavonoides
- Antocianinas

➤ Auronas ⁽³¹⁾.

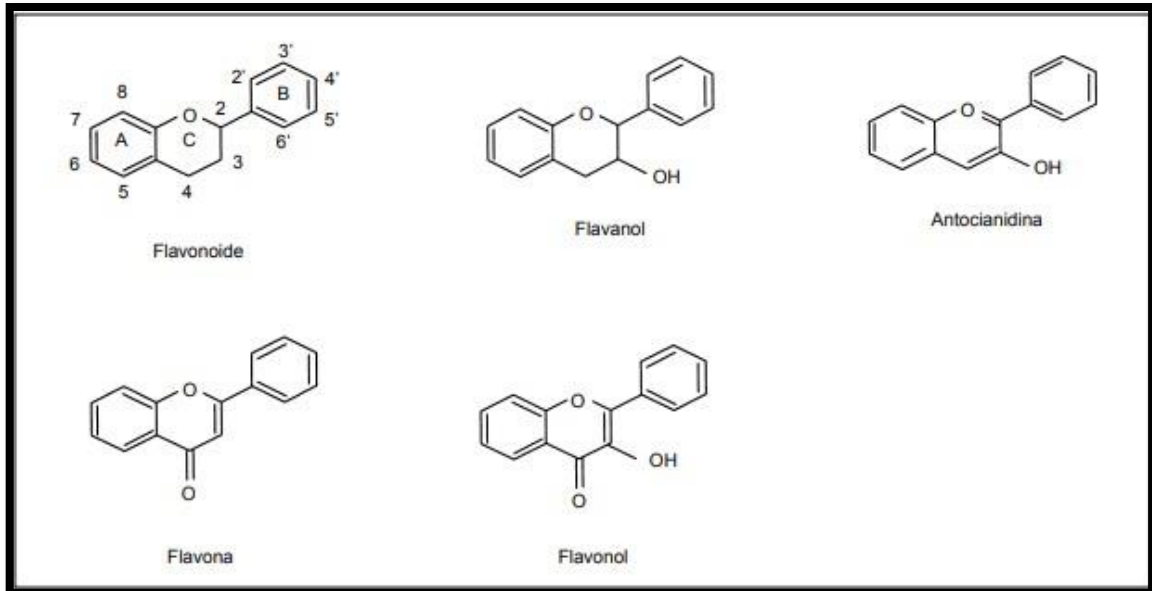


Figura 8. Flavonoides. Estructura básica y tipos

Eficacia terapéutica de los flavonoides

Son responsables de:

- color amarillo de ciertas flores.
- Acción vitamina P (factor antiescorbútico)
- Antihemorrágicos
- Antirrítmicos
- Protectores de la pared vascular o capilar
- Antiinflamatorios
- Antirradicales libres
- Antihepatóxicos
- Antibacterianos
- Antivíricos y antifúngicos
- Diuréticos y antiurémicos
- Antiespasmódicos

Mucílagos vegetales o hidrocoloides vegetales

Tienen gran peso molecular superior a 200.000 g/mol, son polisacáridos heterogéneos con distintos azúcares y en gran mayoría contienen ácidos urónicos, se desconoce su molécula, al disolverse con agua se hinchan gelificándose o dan una apariencia de coloide, viscosa que se coagula con alcohol ⁽⁴¹⁾.

Durante el crecimiento de las plantas se forman los mucilagos interiormente, y se asocia a sustancias como los taninos ⁽⁴¹⁾.

2.2.1.8 Usos terapéuticos de la tara

Diferentes enfoques que se le da al utilizar la Tara; usada tradicionalmente como medicina en nuestro Perú, para curar la inflamación de las amígdalas haciendo infusión del fruto ya maduro, procediéndose como gargarismos y para cicatrizar heridas cuando se lavan con esta infusión ⁽³²⁾.

Utilizándola también para la inflamación del estómago, lesiones de caries dental, gripe y fiebre ⁽³²⁾.

Tabla N°1: Exportación del producto tara según sus principales presentaciones 2006 – 2011.

Descripción	AÑO		
	2006	2010	2011
Polvo	15,106,653.51	23,116,670.15	17,225,752.91
Curtiente	1,578,831.06	2,831,225.00	1,834,990.50
Goma	378,546.70	1,128,576.48	838,863.00
Extracto	60,600.00	261,820.00	474,400.00
Natural	0.00	58,200.00	130,575.00
Orgánico	0.00	0.00	932.00
Filtrante	0.00	3.47	0.00
Deshidratado	1.79	0.00	0.00
Mucilago	21,000.00	0.00	0.00
Otras Presentaciones	563,799.05	218,437.73	63,630.00
Semilla	869,878.67	0.00	0.00
Pulpa	0.00	0.00	0.00
Jugo	0.00	0.00	0.00
Hojuela	0.00	0.00	0.00
Total	18,579,310	27,614,932	20,569,143

Fuente: Elaborado en la página web de PROMPERU 2011

2.2.2 Pseudomonas Aeruginosa

2.2.1.1 Características morfológicas

Bacteria aerobia gram-negativa con forma de bastoncitos finos con aproximadamente 1 a 3 μm de largo y 0,5 a 1,0 μm de ancho. Genera pioverdina y piocianina, se mueven a través de flagelos polares ⁽³³⁾.

Es una bacteria no fermentadora, móvil, presente en casi cualquier ambiente (agua, suelo, diversas superficies, dispositivos médicos), con una gran habilidad de adaptación y versatilidad metabólica, pudiendo crecer tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas, a temperaturas de hasta 42°C y hacer uso de diferentes compuestos metabólicos, desde las moléculas más pequeñas hasta las más complejas ⁽⁴⁵⁾.

Crece en diferentes rangos de temperatura entre (4 - 42°C), metabolizan compuestos como fuentes de carbono y nitrógeno. La inconstancia metabólica le ha dado facultad de hacer colonias en diferentes hábitats como en agua y tierra, creando resistencia a antibióticos, detergentes y metales pesados ⁽⁴⁶⁾.

Algunos sistemas bacterianos relevantes y factores implicados en la regulación de la formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* son: sistema quorum sensing (QS) y sistema regulador. El QS es una comunicación de célula a célula utilizada por muchas bacterias para detectar su densidad poblacional mediante la producción y la percepción de moléculas señalizadoras que coordinan la producción de factores de virulencia, la motilidad y la formación de biopelículas. *P. aeruginosa* posee dos sistemas QS principales (las y rhl) que impulsan la producción (a través de

las sintasas LasI y RhII) y la percepción (por los factores de transcripción LasR y RhIR) de moléculas de señalización. Un tercer sistema QS, basado en señales de quinolona (sistema PQS), interactúa con los sistemas de las acil homoserina lactonas (AHLs) ⁽⁴⁶⁾.

Pseudomonas aeruginosa se aísla selectivamente en agar cetrimide y tiene crecimiento favorable en casi todos los medios usualmente usados en laboratorio, así como: agar McConkey y agar eosina azul de metileno donde no fermenta ningún carbohidrato y es capaz de crecer a 42°C⁽⁴⁸⁾.

Esta bacteria fabrica pigmentos solubles en agua que dan un color al agar: piocianina (azul), pioverdina (verde), piorrubina (rojo) y piomelanina (negro). La cantidad relativa de cada uno de estos pigmentos determina la coloración final del cultivo ⁽⁴⁹⁾.

Una caracterización de *Pseudomonas aeruginosa* es una especie única, porque va a producir piocianina (metabolito secundario capaz de matar a otros microorganismos). Donde podemos diferenciarla de otras bacterias ⁽⁴⁹⁾.

2.2.2.2 Patogenia

Esta bacteria es causante de diversas infecciones respiratorias, urinarias, gastrointestinales, dérmicas, oculares, óticas, entre otras, siendo estas, frecuentemente, de alta morbilidad y mortalidad. Sin embargo, este no afecta a personas inmunocompetentes y en ausencia de cualquier lesión, sino que afecta a pacientes con un sistema inmune debilitado, incluyendo adultos mayores, personas con SIDA, cáncer, fibrosis quística, quemaduras, úlceras, pacientes intubados en cuidados intensivos, postoperatorios o aquellos en tratamiento con inmunosupresores ⁽⁴⁷⁾.

Se distribuye en todos lados, considerado como una bacteria oportunista ya que puede llegar a infectar a cualquier parte del cuerpo, si existiesen la condición predisponente causando: Infecciones de la piel, conjuntivitis, úlceras corneales, paroniquia (síndrome de las uñas verdes), infección de espacios interdigitales de los pies. En la mayoría de infecciones intrahospitalarias como: infecciones urinarias, pulmonares, bacteriemia asociada a catéteres, meningitis, sepsis, infecciones asociadas a exploraciones endoscópicas, endocarditis, infección osteoarticular ⁽⁵¹⁾.

- Fimbrias, que permiten su adherencia a células epiteliales ⁽⁵¹⁾.
- Cápsula polisacárida, que la protegen de la fagocitosis ⁽⁵¹⁾.
- Capacidad de sobrevivir en medios con bajo contenido de nutrientes, especialmente en ambientes húmedos ⁽⁵¹⁾.
- Las proteasas y elastasas extracelulares contribuyen a la destrucción del tejido en los lugares de infección ⁽⁵¹⁾.

Pseudomonas aeruginosa era, entre el 2011 y el 2012, la causante de casi el 9% de infecciones y era el cuarto patógeno más común en hospitales de Europa, mientras que, en Estados Unidos, el 7.1% de las infecciones eran causadas por esta bacteria ⁽⁴⁸⁾.

En el 2016, se encontró que *Pseudomonas aeruginosa* era la segunda causa de infecciones hospitalarias en España y que representaba el 10.5% de estas infecciones. Esta prevalencia es mayor en áreas de cuidados intensivos, reportándose una prevalencia del 13% ⁽⁴⁸⁾.

2.2.2.3 Resistencia de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa tiene resistencia intrínseca a un numeroso grupo de antibióticos. La resistencia natural de este microorganismo se debe principalmente a la baja permeabilidad de la membrana externa, la expresión de bombas de eflujo y la producción de β -lactamasas inducibles por AMPc; sin embargo, su alta adaptabilidad debido a factores genéticos, incluyendo hipermutabilidad, le permite también desarrollar fácilmente gran virulencia y otros tipos de resistencia (51).

En general, la adquisición de β -lactamasas transferibles resulta en la resistencia a Imipenem, meropenem y todas las cefalosporinas (50).

Otros mecanismos de resistencia incluyen la producción de enzimas y mutaciones de los receptores (por ejemplo, enzimas modificadores de aminoglicósidos o la metilación de nucleótidos específicos impidiendo la unión de aminoglicósidos a su receptor) (50).

Por otro lado, el uso prolongado, repetitivo o inadecuado de antibióticos de amplio espectro potencia la resistencia a los antibióticos conllevando a la multidrogo-resistencia, definida como la “no susceptibilidad a tres o más clases de antimicrobianos”. La terapia antibiótica puede inducir la expresión de genes mutantes no expresados de manera estable ya que *Pseudomonas aeruginosa* posee mecanismos multifactoriales de respuesta hacia los antibióticos. En el caso de las β -lactamas, el imipenem parece elevar la expresión de genes codificadores de la biosíntesis de alginato, permitiendo la formación de biopelículas densas y robustas. Además, las

bencilpenicilinas, ureidopenicilinas, cefalosporinas e Imipenem son lábiles al hidrólisis e inducen el gen del ampC, conllevando a la degradación del antibiótico. Por otro lado, la ceftazidima no induce dicho gen, pero si es un sustrato del AMPc, impactando en la transcripción de un gran número de genes en *Pseudomonas aeruginosa*, causando una mutagénesis inducida y reduciendo la toxicidad del ciprofloxacino. ⁽⁵³⁾.

En cuanto a las fluoroquinolonas, varias bombas de eflujo cromosómicamente codificadas son capaces de reconocerlas. Además, *Pseudomonas aeruginosa* responde transcripcionalmente, tanto a concentraciones inhibitorias como sub-inhibitorias de ciprofloxacino, induciendo o reprimiendo cientos de genes. Por ejemplo, las concentraciones inhibitorias de este crean una presión selectiva a favor de formas mutantes incrementando la expresión del gen de ampC, mientras que niveles inhibitorios de ciprofloxacino y ofloxacino incrementan la frecuencia de mutación para la resistencia de carbapenemas. Asimismo, se ha observado que, en presencia de concentraciones sub-inhibitorias de ciprofloxacino, tobramicina o tetraciclina, se incrementa la formación de biopelículas estáticas ⁽⁵³⁾.

El sistema de eflujo, en este caso el MexXY, también genera resistencia a los aminoglicósidos, tetraciclinas y cloranfenicol, el cual es inducido 20 por concentraciones sub-inhibitorias de estos, aunque, intrínsecamente, *P. aeruginosa* es resistente al cloranfenicol debido al sistema de eflujo MexAB-OprM. De igual manera, bajas concentraciones de macrólidos, como azitromicina, aunque muestran actividad bactericida contra biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*, acentúan las formas mutantes generando una sobreexpresión de la bomba de eflujo Mex-CD ⁽⁵³⁾.

OprJ y una producción de β -lactamasas. Tal como se ha descrito, la gran capacidad de respuesta de *Pseudomonas aeruginosa* hacia diversos antibióticos resulta en el desarrollo de resistencia ya sea a los mismos antibióticos a los que ha sido expuesto como a una resistencia cruzada. En Europa, un estudio realizado en el 2015 arrojó que el porcentaje promedio de cepas aisladas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a piperacilina/tazobactam, carbapenemas y fluoroquinolonas era cerca del 20%, mientras que las resistentes a ceftazidima y aminoglicósidos era 13%. Además, se encontró que su resistencia a piperacilina/tazobactam mostró una tendencia creciente entre el 2011 y el 2015 ⁽⁵⁴⁾.

Asimismo, el Reporte Anual sobre Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana en Europa del 2016 informa que, entre el 2013 y el 2016, el 33.9 % de las cepas aisladas de *P. aeruginosa* eran resistentes a al menos un grupo antimicrobiano. Además, se reportó que el porcentaje promedio más alto de resistencia reportado en el 2016 fue de 16.3 % para piperacilina/tazobactam, seguido por las fluoroquinolonas (15.0 %), carbapenemas (15.0 %), ceftazidima (13.0 %) y aminoglucósidos (10.0%)⁽⁵⁴⁾.

En Latinoamérica, se ha encontrado que la probabilidad de hallar cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a antibióticos como carbapenemas, piperacilina/tazobactam y ciprofloxacino se ha duplicado desde 1997 hasta el 2001; así también, el porcentaje de cepas MDR pasó de ser 4.1% en 1997 a 17.1% en el 2001 (9). De igual manera, un estudio realizado en Brasil realizado entre enero del 2010 y diciembre del 2015 reportó que las tasas más altas de resistencia de *P. aeruginosa* fueron de 54.3 % para ciprofloxacino, 53.1 % para

levofloxacino y 47 % para norfloxacino ⁽³⁹⁾ . Del mismo modo, en el 2011, un reporte del Programa Regional de Vigilancia de la Resistencia de Brasil indicó que las cepas recolectadas en 11 naciones de la región mostraban un alto porcentaje de resistencia a carbapenemas, siendo las tasas más elevadas las encontradas en Guatemala (75.8 %), Perú (62.5–68.8 %) y Ecuador (55.6 %) ⁽⁵²⁾.

En Argentina, se ha hallado que, hasta el 2011, el 20 % de los aislados de *Pseudomonas aeruginosa* recuperados presentaban resistencia elevada a aminoglucósidos debido a impermeabilidad. Además, en la mayoría de los países latinoamericanos, la resistencia de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* a fluoroquinolonas es muy alta debido a mutaciones de los genes que codifican los sistemas de eflujo, y la resistencia a ciprofloxacino sobrepasa el 70 % en algunos centros hospitalarios ⁽⁵⁶⁾.

2.2.2.4 Tratamiento, prevención y control

Encontrar un tratamiento para las infecciones causadas por *Pseudomona* puede llegar a ser dificultoso, ya que estas muestran resistencia a los antibióticos (al menos a la mayor parte de ellos), inclusive los que no son resistentes podrían no tener efecto con los antibióticos durante el proceso de medicación al estimular la creación de enzimas que inmovilizan la acción de los antibióticos como las β -lactamasas o las que transforman los genes que cifran las porinas de la membrana externa. Se precisa, en muchas ocasiones, una mezcla de antibióticos para que sea efectivo el tratamiento en infecciones graves, hasta se puede llegar a suministrar gammaglobulina hiper inmune y de transfusiones

de neutrófilos para incrementar el sistema inmune que disminuye en personas con estas infecciones ⁽³⁷⁾.

Los tratamientos eficientes para contrarrestar la infección deben basarse en no perder la esterilidad de los equipos principalmente los de la terapia respiratoria y las máquinas de diálisis, también se debe evitar a toda costa la contaminación cruzada entre las personas infectadas, esto es responsabilidad del personal encargado realizar del tratamiento. Otra cosa que se debe prevenir es el usar de manera equivocada los antibióticos, más aún los de amplio espectro, ya que el uso indebido afecta la flora microbiana lo cual deja que la bacteria crezca de manera abundante ⁽³⁷⁾.

2.2.2.5 Ceftazidima

Forma farmacéutica.

CEFTAZIDIMA ACCORD 500 mg polvo y disolvente para solución inyectable: su forma de presentación es en forma de vial que contiene 500 mg de ceftazidima (pentahidrato) tamponada con carbonato de sodio y 5 ml de agua para inyección ⁽⁵⁷⁾.

Polvo para solución para perfusión es la forma farmacéutica de las siguientes especialidades de Uso Hospitalario (H):

Nivel de distribución: exclusividad hospitalaria ⁽⁵⁷⁾.

Composición: 1 vial contiene 1 g de ceftazidima (base anhidra) ⁽⁵⁷⁾.

Farmacología: antibiótico de amplio espectro utilizado en procesos de medicaciones extensos de diversas infecciones. La ceftazidima a comparación de otros antibióticos, es

inalterable frente a las betalactamasas, es por esa razón pertenece al grupo de amplio espectro frente a las Gram Negativas, tomando en cuenta a productoras de penicilinas de N. Gonorrhoeae y un grupo considerable de Enterobacterias (entre ellas E. Coli, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Morganella, Proteus, Providencia y especies de Serratia). La Ceftazidima pertenece al grupo de las Cefalosporinas y tiene mayor actividad antibiótica con la Pseudomona Aeruginosa (57).

Mecanismo de acción: Bactericida, su actividad antibacteriana depende de su habilidad para lograr unirse a las proteínas que ligan penicilinas ubicadas en la membrana citoplasmática bacteriana, La ceftazidima impide que se realice la síntesis de la pared celular y del septo bacteriano, posiblemente por acilación de las transpeptidasas enlazadas a la membrana, también impide la división y el crecimiento celular y regularmente se genera la lisis y elongación de las bacterias sensibles; las más sensibles a la actividad antibacteriana de la Ceftazidima son las primeras en romperse (57).

Indicaciones

Tratamiento e Infección por Pseudomona aeruginosa: Su empleo es exclusivamente en el ámbito hospitalario. Se deben recolectar muestras para cultivos antes de iniciar la terapia, con la finalidad de identificar al microorganismo (Pseudomona aeruginosa) y determinar la susceptibilidad a la Ceftazidima (57).

➤ Septicemias: Meningitis y otras infecciones en el SNC (57).
Infecciones: tracto urinario, intraabdominal, articulaciones, ginecológicas y cutáneas. Espectro: (cefalosporina de Tercera Generación): infecciones causadas por Bacterias Gram (-): M. catarralis, H. influenzae, E. coli, Klebsiella sp,

Enterobacter sp, Serratia sp, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Providencia sp, Morganella sp, C. diversus, Citobacter sp, Aeromonas sp, Acinetobacter, *Pseudomonas aeruginosa*, B. (Ps) cepacia, H. ducreyi, puede ser resistente: N. gonorrhoeae, N. meningitidis, S. (X.)maltophilia, Y. enterocolitica. Bacterías Gram (+): Strep. grupo A, B, C, G, Strep. pneumoniae, Viridans strep, Staphylococcus aureus meticillin sensibles; pueden ser resistentes: Staphylococcus epidermidis. y otras Inf. causadas por: Clostridium (no difficile), Peptostreptococcus sp, P. melaninogenica⁽⁵⁷⁾.

- Infecciones graves; por ejemplo, septicemia, infecciones en pacientes inmunodeprimidos ⁽⁵⁷⁾.
- Infecciones de las vías respiratorias inferiores ⁽⁵⁷⁾.
- Infecciones de las vías urinarias ⁽⁵⁷⁾.
- Infecciones intraabdominales incluyendo peritonitis e infecciones del tracto biliar ⁽⁵⁷⁾.
- Infecciones ginecológicas ⁽⁵⁷⁾..
- Infecciones de la piel y tejidos blandos ⁽⁵⁷⁾.
- Infecciones óseas y de las articulaciones ⁽⁵⁷⁾.

Farmacocinética: distribución: La ceftazidima se reparte ampliamente por el organismo y llega a obtener concentraciones terapéuticas en la mayor parte de los líquidos excretados por el cuerpo, abarcando también el sinovial, pericardial, pleural y peritoneal, además de la bilis, saliva y orina. La ceftazidima de igual manera se extiende en los huesos, miocardio, vesícula, piel y tejidos blandos. La Ceftazidima es capaz de cruzar la placenta y se halla en la leche materna, en el líquido cefalorraquídeo llega a elevadas concentraciones cuando hay meninges inflamadas. La ceftazidima consigue los más altos grados en el medio acuoso. Las mayores concentraciones, aplicando mediante la

vía intramuscular se logra en el lapso de una hora, aplicada la inyección. En el caso de intravenosa de 0.5; 1 y 2 g de Ceftazidima, llegan a sus concentraciones en suero de 45, 90 y 170 µg/mL, a los cinco minutos de la aplicación. La Vida media de la Ceftazidima es de 1,8 a 2,2 horas, particularmente se extiende en personas con problemas renales y en recién nacidos. La ceftazidima esta de 10 a 17 % enlazada a proteínas plasmáticas. Se elimina por medio de los riñones. Aproximadamente del 80 al 90% es excretada completamente por la orina, dentro de las 24 horas⁽⁵⁷⁾.

Contraindicaciones: Reacciones anormales a la ceftazidima o cualquier componente de la familia de este. Antecedentes de hemorragias a causa de las Cefalosporinas ya que estas pueden ocasionar hipoprotrombinemia y hemorragias. Antecedentes de problemas gastrointestinales como Colitis ulcerativa o relacionada con el empleo de antibióticos y enteritis regional ⁽⁵⁷⁾.

Precauciones: No pueden ser medicados con ceftazidima personas con alergia comprobada o presumidas. Se puede administrar la ceftazidima en personas con antecedentes de anafilaxis a penicilinas con precaución, porque podría presentar un cuadro de anafilaxis después de suministrar el medicamento. En personas que padecen de problemas renales se deberán suministrar dosis menores a las normales. Las Cefalosporinas podrían llegar a producir colitis pseudomembranosa ⁽⁵⁷⁾.

Advertencias: No se puede suministrar con otro antibiótico en la misma jeringa ⁽⁵⁷⁾.

Interacciones: El efecto de la ceftazidima aumenta con los aminoglucósidos para combatir cepas sensibles y resistentes a *Pseudomonas aeruginosa*, *S. marcescens* y otras enterobacterias como *E. cloacae*, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. mirabilis* ⁽⁵⁷⁾.

Reacciones adversas: Suministrar Ceftazidima puede provocar alergias, especialmente anafilaxis, eritema multiforme, problemas renales, rash, dolencia en las articulaciones y elevación de la temperatura corporal. También podemos observar, con menor continuidad, calambres, dolor y distensión abdominal o estómago y diarrea, en ocasiones con sangre, incremento de la necesidad de tomar agua, náuseas, vómitos y fatiga ⁽⁵⁷⁾

Posología: Medida al principio del tratamiento en adultos y adolescentes: IM o IV, 500mg a 2 g c/8 a 12 h. Infecciones Urinarias (simples): 250mg IM o IV c/12h. Infecciones Urinarias (complicadas): 500mg IM o IV c/8 a 12h. Neumonía (no complejas) e infecciones de dérmicas: 500mg a 1 g IM o IV c/8h. Infecciones óseas y articulaciones: 2g IM o IV c/12h. Continuando con la medida de 1 g en adultos (también pacientes con problemas renales) podríamos hacer una disminución de las medidas posteriores: aclaramiento de la creatinina, medida (anhidra) >50: comprobar con medida normalmente usada en adultos y adolescentes. 31-50:1g c/12h. 16-30:1g c/24h. 6-15:500mg c/24h. <5:500mg c/48h. Personas con tto de Hemodiálisis: 1g posterior a la etapa de diálisis. Personas en D. Peritoneal: 500mg c/24h. medida habitual para niños: RN (< de 4 semanas): IM o IV, 30mg / kg, c/12h. De 1 mes a 12 años: IM o IV, 30 a 50 mg por kg, c/8h. La medida límite en lactantes y niños es de 6g por día ⁽⁵⁷⁾.

Preparación de la forma farmacéutica: Para preparar la dilución inicial para uso intramuscular, añadir 3 mL de agua para inyección al bulbo conteniendo 1 g de ceftazidima. Con respecto a la preparación de la ceftazidima de uso IM, se debe agregar al frasco de 1g la medida de 3mL de agua para inyección. Para la elaboración de ceftazidima de uso IV, se debe agregar al frasco de 1g la medida de 10mL de agua para inyección. Para uso IV directo, EL resultado de la preparación debe suministrarse en el periodo de 3 a 5 min. Posterior a la preparación del fármaco, esta conserva su efecto durante las 72 h (entre 2° a 8° C), EL color de la Ceftazidima ya reconstituido varía de amarillo claro a ámbar, de acuerdo a la concentración y el disolvente que se utilizó. Aunque algunas pueden oscurecer su color mientras que es almacenado y no se ve dañado su efecto ⁽⁵⁷⁾.

Las combinaciones intemporales de antibacterianos betalactámicos (penicilinas y Cefalosporinas) y aminoglucósidos podría originar una importante reducción total del efecto del medicamento. En caso de suministrarse juntos, no se debe aplicar en la misma zona. Tampoco se debe combinarlos en el mismo envase para suministrar vía IV. Sobredosis: el exceso de dosis se ha presentado con personas con I.R, mostrando encefalopatía y excitabilidad neuromuscular. Se debe usar una medicación de soporte. Para la eliminar la Ceftazidima se podría usar la hemodiálisis y la D. peritoneal ⁽⁵⁷⁾.

2.3 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

2.3.1 Hipótesis General

El extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) presenta efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

2.3.2 Hipótesis Específicas

- 1: Existen algunos metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* (Tara) responsables de la acción antibacteriana.

- 2: Si Existe una concentración específica del extracto hidroalcohólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en la que presenta mayor efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

- 3: El extracto hidroalcohólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* (Tara) presenta mayor efecto antibacteriano in vitro a la Ceftazidima en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

2.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES

2.4.1 Variables de estudio

Tabla N° 2: Variables de estudio

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
VI.	Estudio Fitoquímico	Identificación de metabolitos secundarios
Frutos de la <i>muestra de Caesalpinia spinosa</i> (TARA) del Distrito de Ayabaca de la Provincia de Ayabaca del Departamento de Piura según coordenadas -4.636944°, -79.723889° altitud 2715 m.s.n.m		Extracto en diferentes concentraciones 100%, 80%, 60% y 40 %
VD.	Estudio microbiológico	

Cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Medidas de los halos de inhibición
	Escala de Duraffourd

2.5 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICO

- **Maceración** es el contacto prolongado durante un periodo de tiempo de la planta con el solvente formando en conjunto homogéneamente mezclado en el cual el disolvente va actuar simultáneamente sobre todas las partes de la planta.
- **Actividad Antibacteriana:** es una actividad externa que va ejercer sobre el crecimiento bacteriano.
- **Metabolitos:** tenemos dos grandes grupos: metabolitos primarios y metabolitos secundarios. Sustancias que ayudan a las células a realizar sus diversas funciones.
- **Antimicrobiano:** moléculas naturales, sintéticas o semisintéticas, apto para producir la muerte o detener el crecimiento de diferentes microorganismos.
- **Cultivo microbiológico:** es proporcionar el ambiente adecuado para que puedan multiplicarse de forma controlada los microorganismos, ya sea en condición física, química y nutritiva.
- **Halo de inhibición:** Zona alrededor de un disco que contiene el extracto antibiótico colocado en un antibiograma en el cual no se produce el crecimiento antibacteriano.

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1 TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. Tipo de la Investigación

- Para este tipo de investigación **experimental** se manipula intencionalmente la variable independiente, para estudiar los resultados que se generan en la variable dependiente.
- Este estudio tiene como fin un enfoque cuantitativo, prospectivo donde presentamos los resultados en medidas numéricas, evidenciando así, las hipótesis planteadas en esta investigación.

El estudio experimental se basa, en manipular una variable en experimento sin ser comprobada, con un control riguroso, definiendo así el modo o causa porque tenemos como producto un resultado particular.

El que investiga va a experimentar una situación desconocida, provocando que una variable en estudio, sea manipulada y así pueda ser controlada, aumentando o disminuyendo esta variable. Y el resultado de su comportamiento observado.

El manejo del que investiga la variable experimental es deliberadamente para poder observar y obtener resultados controlados.

3.1.2. Nivel de la Investigación

- El nivel corresponde a un estudio Exploratorio
- En el proceso experimental se manipula una de las variables, y su principal propósito fue dar solución y explicación a un problema común como son las infecciones bacterianas.

- Investigación Cuantitativa ya que se busca dar respuestas objetivas y puntuales del objeto de estudio.
- Nivel experimental ya que se manipula la variable independiente y se mide su efecto o reacción sobre la variable dependiente, proceso experimental diseñado por el investigador fue de vital importancia el control de las variables intervinientes donde se produjo el efecto antibacteriano, ante todo lo mencionado se utilizó un método analítico, experimental, observacional, exploratorio y descriptivo.

3.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Diseño experimental, debido a que los investigadores diseñaron el procedimiento experimental y la distribución de los grupos control positivo, grupos experimentales para lograr una comparación en el efecto presentado por el extracto hidroalcohólico sobre las bacterias.

El diseño se basó en un grupo para el control y un grupo de investigación, de los cuales se cuantificaron, mediante fichas de observación para el registro de los hallazgos.

Fundamentalmente en este tipo de estudio, los sujetos son elegidos al azar de la población y se asignan al azar el grupo experimental y de control, autentificando la experimentación.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

3.3.1 Población

V.I: Fruto de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) del Distrito de Ayabaca de la Provincia de Ayabaca del departamento de Piura.

V.D: Efecto antibacteriano in vitro

3.3.2 Muestra

V.I: Frutos de *Caesalpinia Spinosa* (tara) del Distrito de Ayabaca de la Provincia de Ayabaca del departamento de Piura, según coordenadas -4.636944°, -79.723889°, altitud 2715m.s.n.m

V.D: cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.4.1 Técnica

Maceración

Es la acción mediante el cual se extrae los metabolitos secundarios de una planta, se lleva a cabo colocando la planta o parte de ella, en un envase cerrado, en cualquier medio oleoso, alcohólico, hidroalcohólico, acuoso, etc. Se debe mantener una temperatura continua por un periodo de días u horas, removiendo constantemente sin cambiar el contenido del envase. Este método no lleva al consumo de la droga, gracias a la repleción del líquido con que se extrae y la estabilidad entre dicho líquido para extraer y la célula ⁽³⁸⁾.

Marcha fitoquímica

En los residuos secos de muestras se han ensayado una serie de reacciones analíticas, con el objetivo de evidenciar de forma cualitativa la presencia de diferentes grupos fitoquímicos que caracterizan a cada extracto. Estos ensayos se realizan sobre el extracto seco una vez re disuelto en su respectivo disolvente ⁽³⁹⁾.

Es una técnica utilizada en farmacognosia que ayuda a determinar que metabolitos están presentes en los extractos de las plantas, utilizando en el procedimiento varios reactivos, cuyas reacciones precipitadas, cambios de color, etc. indican la presencia de flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, alcaloides etc ⁽³⁹⁾.

Los principios activos que usualmente se encuentran en las drogas vegetales están en concentraciones limitadas por lo mismo se debe realizar una perfecta extracción de los mismos. Ya que si esta es deficiente puede confundirse los resultados ⁽³⁹⁾.

Método de Kirby Bauer

La técnica de eficacia antibacteriana se realiza mediante el método de difusión en placa o método de Kirby Bauer el cual define la actividad in vitro de un antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana. Este método ha sido adaptado para evaluar la eficacia de una muestra vegetal con propiedades antimicrobianas frente a determinados microorganismos ⁽⁵⁷⁾.

3.4.2 Instrumentos

3.4.2.1 Ficha de recolección de datos:

Fue elaborada por los investigadores de acuerdo a las necesidades de los datos a recopilar según el proceso experimental realizado y para evidenciar su validez fue validada por los siguientes profesionales:

3.4.2.2 Resumen de Resultados Juicio de Expertos:

Tabla N° 3: Juicio de expertos

Juez experto	Resultados	Condición
Q.F Teresa Morales	50	Aplicable
Q.F Héctor Alexander Vilchez Cáceda	50	Aplicable
Q.F Pedro Jacinto Hervias	50	Aplicable

3.5 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

❖ Equipos

- Incubadora 35°C EQ-CCA-026 Labor LP-11 S: 69-6315/4
- Autoclave Vertical Digital EQ-CCA-054 Reles AL/D 50L S: 476-15
- Potenciómetro EQ-CCA-005 Inolab 730 S: 10380849
- Baño María EQ-CCA-009 Memmert WNE-10 S: L307.0363
- Balanza analítica EQ-CCA-037 AND HR 250 AZ S: GA7702480
- Estufa EQ-CCA-001 Memmert UN55 S: B215-2490
- Mechero Bunsen

❖ Materiales:

- Vernier digital Caliper Model: DC-515
- Placas Petri de vidrio 90mm de diámetro x 15mm de altura
- Asa de Drigalsky de vidrio
- Tubos 150mm con tapa rosca
- frascos de vidrio de 5mL de capacidad
- Tips para micropipeta de 20-200 μ L
- Tips para micropipeta de 0.5-5mL
- Micropipeta calibrada de 20-200 μ L
- Micropipeta calibrada de 0.5-5mL
- Frascos de vidrio de 500mL de capacidad con tapa rosca
- Frascos de vidrio de 200mL de capacidad con tapa rosca
- Viales de vidrio de 10mL de capacidad.
- Gradilla
- Espátulas
- Sacabocado con diámetro interno de 6mm
- Papel craft
- Asa bacteriológica
- Escala de Mac Farland
- Baguetas de vidrio
- Indicador multiparámetro de esterilización.
- Jeringa de 5mL
- Papel Kraft

- Matraz Erlenmeyer 250 y 500 mL
- Embudo de vidrio
- Papel filtro
- Tubos de ensayo
- Pipetas
- Fiolas de 50 mL
- Pera de bromo de 250 mL
- Estándar de Cafeína
- Pipeta de 25 mL
- Tubos de ensayo de 15 x 150
- Mechero

❖ Insumos

a) Medios de cultivo y reactivos

- Caldo Reactivo de Wagner Tripticasa Soya (TSB) marca Oxoid
- Agar digerido de caseína y soya (TSA) marca Oxoid
- Agar Mueller Hinton marca Merck
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Sonneschein
- Reactivo de Reineckato
- Reactivo de Shinoda (magnesio + ácido clorhídrico concentrado)
- Reactivo de Cloruro Férrico
- Reactivo de gelatina al 1%
- Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger)
- Reactivo de Ninhidrina
- Reactivo de Fehling A
- Reactivo de Fehling B
- Reactivo de Lugol
- Reactivo 2,4 DNPH
- Alcohol de 96°C
- Metanol
- Etanol

- Cloroformo
- Agua destilada
- Isopropanol
- Reactivo de Tricloruro de Aluminio al 2%
- Acetato de sodio 1 M
- Reactivo Metanol : Agua (25:75)
- Reactivo BAW (Butanol : Agua : AAG) (4:3:1)
- H₂SO₄ 2 N
- NAOH al 10%
- Agar Dextrosa Sabouraud (Merck)
- Solución salina fisiológica
- Caldo Tioglicolato
- Dimetil sulfoxido (DMSO)
- Control Positivo “Ceftazidima”

b) Inóculo

- Pseudomonas Aeruginosa ATCC 9027

c) Reactivos

- Agua destilada
- Cloruro de sodio grado bacteriológico marca Oxoid
- Alcohol 96°
- Ampolla de Ceftazidima 1g

3.6 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.6.1 Obtención del extracto hidroalcohólico de Tara (*Caesalpinia Spinosa*)

- **Recolección de la planta:**

Se recogió la Tara para este estudio, en el Distrito de Ayabaca, Provincia de Ayabaca, Departamento de Piura, a una temperatura entre 16 grados a 24 grados. Ubicación geográfica: Altitud 2715 msnm, Latitud Sur 4°38'23”, Longitud Oeste 79°42'53”.

La recolección fue, el 16 de octubre 2018 durante las horas de 10 am 12 pm. Manteniendo el mayor cuidado al seleccionar las vainas que hayan alcanzado la mejor maduración, conservándose en óptimas condiciones de almacenamiento, para su conservación hasta la realización de la extracción.

- **Recolección de la muestra:**

La recolección fue, el 16 de octubre del 2018, durante las horas de 10 am 12 pm. Manteniendo el mayor cuidado al seleccionar las vainas que hayan alcanzado la mejor maduración, conservándose en óptimas condiciones de almacenamiento, para su conservación hasta la realización de la extracción.

Limpieza: sacar de la muestra residuos que podrían contaminarla.

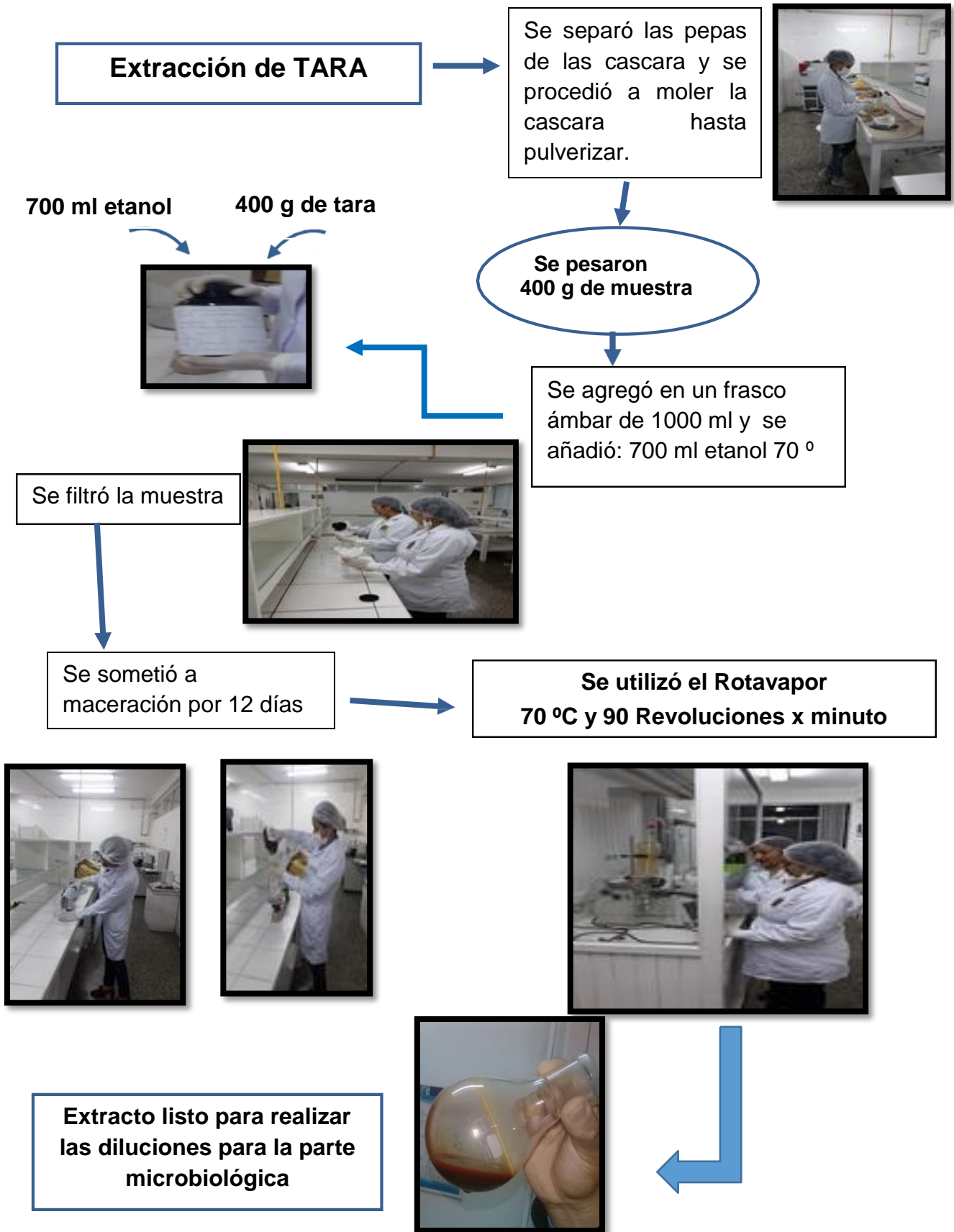
Secado: en temperatura Ambiente, bajo sombra.

Selección: las hojas deterioradas se deben eliminar.

Maceración: en el transcurso de 12 días.

Luego se procedió con el siguiente proceso: En el presente flujograma se muestra el tratamiento realizado a la muestra sólida del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinoza* (Tara)

Figura 9. Extracción de Tara



FUENTE: PROPIA

3.6.2 Marcha fitoquímica

Las pruebas para el screening fitoquímico comprenden reacciones de identificación (coloreadas, de precipitación, fluorescencia, microsublimación).

El procedimiento es poner de 2 a 5 mL del extracto hidroalcohólico *Caesalpinia spinosa* (Tara) en los tubos de ensayo para luego agregar de tres (03) a cinco (5) gotas del reactivo para identificar los metabolitos.

Se realizaron las siguientes pruebas:

Tabla N° 4: Tamizaje Fitoquímico

Nº	Metabolito	Reactivo de Reacción
1.	Carbohidratos	Fehling A y Fehling B
2.	Azucares	Mollish
3.	Alcaloides	Mayer
		Dragendorff
		Sonneschein
		Bertrand
4.	Compuestos fenólicos	FeCl ₃
5.	Taninos	Gelatina 1%
6.	Flavonoides	Shinoda
7.	Naftaquinonas, antraquinonas y antranonas	Bortranger (NaOH 5%)
8.	Cardenolidos	Baljet
9.	Esteroides	Lieberman Bouchardat

3.6.3 Análisis Microbiológico

3.6.3.1 Fase Pre analítica

- **Preparación de Materiales**
 - Las placas Petri se envolvieron en papel craft y se esterilizaron por calor seco en una estufa a 180°C por 2 horas.
 - Las puntas para las micropipetas, los viales de vidrio y los tubos con tapa rosca se esterilizaron con calor húmedo en autoclave a 121°C y 15 lb/pg2 durante 15 minutos.

- **Preparación de los Medios de Cultivo**
 - Se preparó 20mL de caldo TSB según las instrucciones del fabricante (30 gramos para 1 litro de agua destilada) en dos tubos de ensayo y se esterilizó en autoclave.
 - Se preparó 100mL de agar TSA según las instrucciones del fabricante (40 gramos para 1 litro de agua destilada) en un frasco de vidrio y se esterilizó en autoclave. El agar ya esterilizado se enfrió en baño María a 45-50°C y se vertió en placas Petri estériles.
 - Se preparó 200mL de agar Mueller Hinton en un frasco de vidrio de acuerdo a las instrucciones del fabricante (34 gramos para 1 litro de agua destilada). El agar se llevó a la autoclave a 121°C y 15 lb/pg2 en un tiempo de 15 minutos. Inmediatamente después de esto se llevó a Baño María a la temperatura entre 45 y 50°C. Una vez que se temperó, vertimos el

preparado fresco y tibio a placas Petri de vidrio, (estas deben estar estériles), hay que dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm, esta medida en ml corresponde a 25- 30 ml para placas de 90 mm de diámetro. El agar ya plaeado se dejó solidificar a temperatura ambiente. El agar Mueller Hinton debe tener un pH entre 7,0-7,6. Esta medición puede realizarse utilizando el bulbo del electrodo del potenciómetro en el agar antes de llevar a la autoclave.

- Se preparó 100mL de suero fisiológico estéril, para ello se pesó 900mg de cloruro de sodio grado bacteriológico y se completó con agua destilada hasta un volumen de 100mL, se esterilizó en autoclave. Luego se añadió volúmenes de 10mL a 2 tubos estériles.

- **Activación de la Cepa**
 - La cepa se encontraba refrigerada entre 4-8°C en una placa con agar TSA.

 - De la cepa se tomó una colonia con el asa bacteriológica y se sembró en un tubo con caldo TSB estéril y se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas.

 - La turbidez demostró el crecimiento de la cepa. Se sembró del caldo TSB a una placa con agar TSA. Se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas.

- **Preparación de la Muestra**

- La muestra se reconstituyó con agua destilada estéril, se pesó 4 gramos en un vial de vidrio y se añadió un volumen de 8mL de agua destilada. Esta es la solución madre, es la máxima concentración del extracto que permite tenerlo en forma líquida.
- El extracto ya reconstituido se trabajó a 4 concentraciones: 100%, 80%, 60% y 40%.

Para realizar las diluciones a partir del extracto se usó agua destilada y dichas diluciones se realizaron de la siguiente forma:

Tabla N° 5: Cuadro de concentraciones de la muestra

Concentración	Cantidad de extracto aplicado
100%:	Se colocó 2mL del extracto en un vial de vidrio
80%:	Se colocó 1.6mL del extracto en un vial de vidrio con 0.4mL de agua destilada estéril.
60%:	Se colocó 1.2mL del extracto en un vial de vidrio con 0.8mL de agua destilada estéril
40%:	Se colocó 0.8mL del extracto en un vial de vidrio con 1.2mL agua destilada estéril.

3.6.3.2 Fase Analítica

a. Preparación del Inóculo

- Tomándose cierta cantidad de colonias puras del microorganismo *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y se diluyó en un tubo de ensayo conteniendo 10mL de suero fisiológico estéril (cloruro de sodio 0.9%), la cantidad necesaria para que la solución resultante tenga una turbidez correspondiente al tubo N°1 de la

escala de MacFarland (escala turbidimétrica), el cual corresponde a una concentración de 3×10^8 ufc/mL.

- A partir de esta última solución se realizó una dilución de 1 en 3, para ello de esta solución preparada se tomó 3 mL y se diluyó a un volumen total de 9 mL con suero fisiológico en un tubo con tapa rosca, todos los materiales usados fueron estériles y también el área de trabajo. La solución resultante tuvo una concentración de 1×10^8 ufc/mL.

b. Inoculación de las Cápsulas Petri o placas petri

- Se agregó 100 uL del inóculo bacteriano preparado (1×10^8 ufc/mL) a las placas con agar Mueller Hinton y con la ayuda de una espátula de Drigalsky se esparció el inóculo por todas las placas de tal manera que se obtenga un crecimiento homogéneo, para lo cual se deslizó el asa en la placa en forma paralela y bien compacta abarcando toda la superficie de la misma. Luego se repitió el procedimiento rotando la placa 60° en dos oportunidades más.
- Deben extremarse los cuidados en sembrar las placas de borde a borde, porque de lo contrario puede haber problemas en la realización de las lecturas. Se dejó secar las placas 3 a 5 minutos antes de hacer los pocillos.

c. Formación de los pocillos

- Se esterilizó el sacabocados con alcohol y se flameó en el mechero, luego con mucho cuidado se hizo los pocillos, se hizo tres por cada placa.

- Los pocillos deben estar a más de 15 mm del borde de la placa y deben distribuirse de tal manera que no haya superposición de los halos de inhibición.

d. Sembrado de las muestras y controles

- Se usó 4 placas para las diluciones del extracto, una placa para cada dilución.
- Cada dilución se sembró por triplicado añadiendo 40uL en cada pocillo.
- Como control negativo o muestra blanco se usó agua destilada estéril. En 1 placa se sembró 40uL por triplicado.
- Como control positivo se usó una solución inyectable de Ceftazidima 1g. En 1 placa se sembró 40uL por triplicado.

e. Incubación

- Las placas de las diluciones de la muestra y los controles se llevaron a una incubadora a 37°C durante 24 horas.

3.6.3.3 Fase post Analítica

Transcurrido el tiempo de 24 horas de incubación, se examinaron las placas. Las zonas de inhibición resultantes deben ser uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento bacteriano. Los diámetros de la zona de inhibición completa se midieron en milímetros pasando por el centro de cada pocillo. La medición se realizó por triplicado para cada pocillo con un vernier digital que mide hasta centésima de milímetro. Los valores de las mediciones por

triplicado se promediaron y se redondearon para reportarlo como un número natural.

3.7 TÉCNICAS ESTADÍSTICAS DE ANÁLISIS DE DATOS

El estudio in vitro realizado de la especie bacteriana: de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 9027™) para medir la actividad antibacteriana del Extracto de *Caesalpinia Spinosa* (Tara), Se realizó en 6 grupos de estudio en los que está incluido el control positivo a la ceftazidima, control negativo al agua destilada, las diferentes concentraciones del extracto, cada una de ellas con 20 repeticiones por cada sustancia, se comprobó la sensibilidad de la bacteria mencionada a las 24 horas.

Los resultados obtenidos en estudio fueron agrupados en tablas y gráficos, para interpretar mejor los resultados que a continuación detallaremos. Se utilizó el diseño completamente aleatorio, debido a que este es un diseño de simple distribución, siendo útil para métodos y técnicas de laboratorio.

3.7.1 Procesamiento de datos

Se utilizó el programa MINITAB 19, este programa nos permitió obtener referencias y cálculos estadísticos, utilizando estadística paramétrica bajo pruebas de análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Intervalos de confianza de Bonferroni, para comparar el efecto de varias sustancias empleadas en el estudio a las 24 horas.

Evaluando la susceptibilidad de la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 por método de método de difusión en placa (método de Kirby Bauer) con pocillos de extracto de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) 40%, 60%, 80% y 100%, ceftazidima 1gr y agua destilada.

3.8 PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS ESTADÍSTICOS

DESCRIPTIVOS

El estudio realizado in vitro en la especie bacteriana: de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 9027™) de la actividad antibacteriana del Extracto de *Caesalpinia Spinosa* (Tara), en el cual se trabajaron 6 grupos de estudio en los que incluye como control positivo a la ceftazidima, como control negativo al agua destilada y las diferentes concentraciones del extracto 100%, 80%, 60% y 40%, cada una de ellas con 20 repeticiones por cada sustancia. Comprobándose sensibilidad de la bacteria mencionada.

Los resultados que se obtuvieron en las diferentes pruebas realizadas a la planta en estudio se agruparon en tablas y gráficos, para una mejor interpretación de los resultados utilizando un diseño completamente aleatorio, ya que este es un diseño de simple distribución, siendo útil para métodos y técnicas de laboratorio microbiológicos.

Los datos fueron procesados a través del programa estadístico MINITAB 19, mediante pruebas de análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Intervalos de confianza de Bonferroni y prueba no paramétrica de comparaciones de Tukey para comparar el efecto de varias sustancias empleadas en el estudio a las 24

Tabla N° 6: Estadísticas

Variable	Media	Desv.Est.	CoefVar	Mediana
GRUPO 1 (100%)	27.295	0.466	1.71	27.445
GRUPO 2 (80%)	25.217	2.503	9.92	26.540
GRUPO 3 (60%)	25.274	0.726	2.87	25.150
GRUPO 4 (40%)	17.486	0.839	4.80	17.670
GRUPO 5 (CEFTIZIDIMA (+))	41.321	0.666	1.61	41.560

Fuente: Elaboración propia, Software MINITAB 19

Observaciones:

- En términos generales se puede observar que las mediciones tomadas en cada repetición se comportan de manera homogénea. Sin embargo, se nota una dispersión más pronunciada en el grupo 2 con respecto a los demás grupos.
- Las mediciones en el grupo 2 se desvían de la media en 2.503 unidades aproximadamente, es la mayor desviación respecto de los otros grupos.

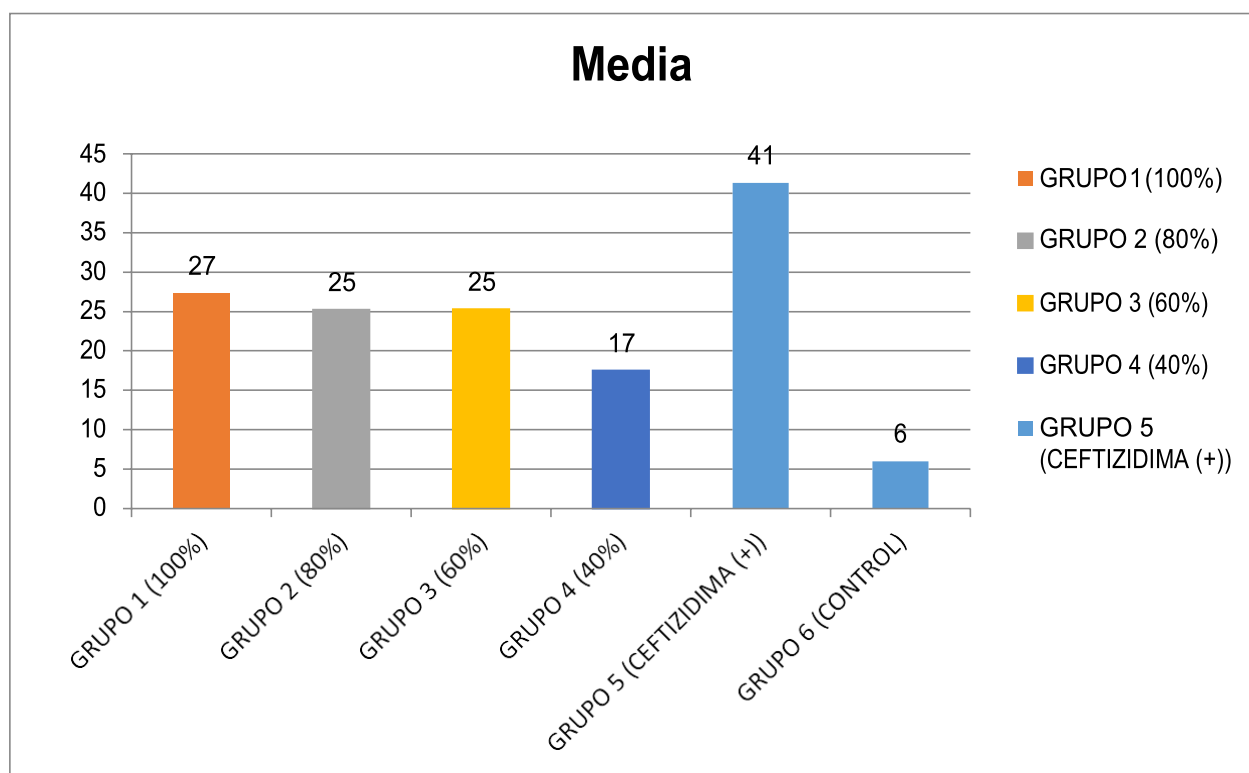


Gráfico N°1: Gráfico de barras de la media de las mediciones

Fuente: Elaboración propia, Software MS Excel

Prueba de igualdad de varianzas:

Planteamiento de hipótesis:

H0: Todas las varianzas son iguales

H1: Por lo menos una varianza es distinta

Nivel de significación de la prueba: 0.05

Resultados:

Tabla N° 7: Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

Muestra	N	Desv.Est.	IC
Grupo 1 (100%)	20	0.46611	(0.32709; 0.77662)
Grupo 2 (80%)	20	2.50263	(1.75622; 4.16983)
Grupo 3 (60%)	20	0.72595	(0.50944; 1.20957)
Grupo 4 (40%)	20	0.83900	(0.58877; 1.39794)
Grupo 5 (CEFTIZIDIMA (+))	20	0.66555	(0.46705; 1.10892)

Nivel de confianza individual = 99%

Fuente: Elaboración propia, Software MINITAB 19

Observaciones:

- Esta prueba confirma que la diferencia entre la varianza del segundo grupo es significativa con respecto a la varianza de los demás grupos.
- Otra observación importante es que en el grupo 1 la dispersión de las mediciones es mucho es significativamente menor que en el resto de grupos, las mediciones son más parejas.

Tabla N° 8: Pruebas

Método	Estadística de prueba	Valor p
Bartlett	73.38	0.000

Fuente: Elaboración propia, Software MINITAB 19

Observaciones:

- Ya que el valor p (0.000) es menor que el nivel de significación (0.05), se rechaza la H0, por esta razón llegamos a la conclusión de que al menos una de las varianzas es significativamente diferente al resto, por lo que las muestras no presentan homocedasticidad.

Resumen de estudio de datos:

Tabla N° 9: Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
1.27705	97.49%	97.39%	97.22%

Fuente: Elaboración propia, Software MINITAB 19

Observaciones:

- El coeficiente de determinación del estudio es del 0.9739, lo que indica que el 97.39 % de la variabilidad de las mediciones es explicada por la variación en las características de las muestras, esto también indica que la prueba ANOVA es un estudio adecuado para el experimento.

Análisis de Varianzas (ANOVA)

Formulación de hipótesis:

H0: Todas las medias son iguales

H1: Alguna de las medias es distinta

Nivel de significación: 0.05

Resultados:

Tabla N° 10: Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	6026.9	1506.74	923.89	0.000
Error	95	154.9	1.63		
Total	99	6181.9			

Fuente: Elaboración propia, Software MINITAB 19

Observaciones:

- El valor p del estudio es 0.000, menor al nivel de significación de la prueba 0.05 por lo tanto se debe rechazar la hipótesis nula. La conclusión a la que nos lleva este estudio es que al menos uno de los grupos tiene una media significativamente diferente a la media de los demás grupos.
- Se requiere de la prueba de Tukey para determinar cuál o cuáles de los grupos tienen medias significativamente distintas al resto de grupos.

Prueba de comparaciones de Tukey

Tabla N° 11: Método de Tukey para ordenar medias

Factor	N	Media	Agrupación
Grupo 5 (CEFTIZIDIMA (+))	20	41.321	A
Grupo 1 (100%)	20	27.295	B
Grupo 3 (60%)	20	25.274	C
Grupo 2 (80%)	20	25.217	C
Grupo 4 (40%)	20	17.486	D

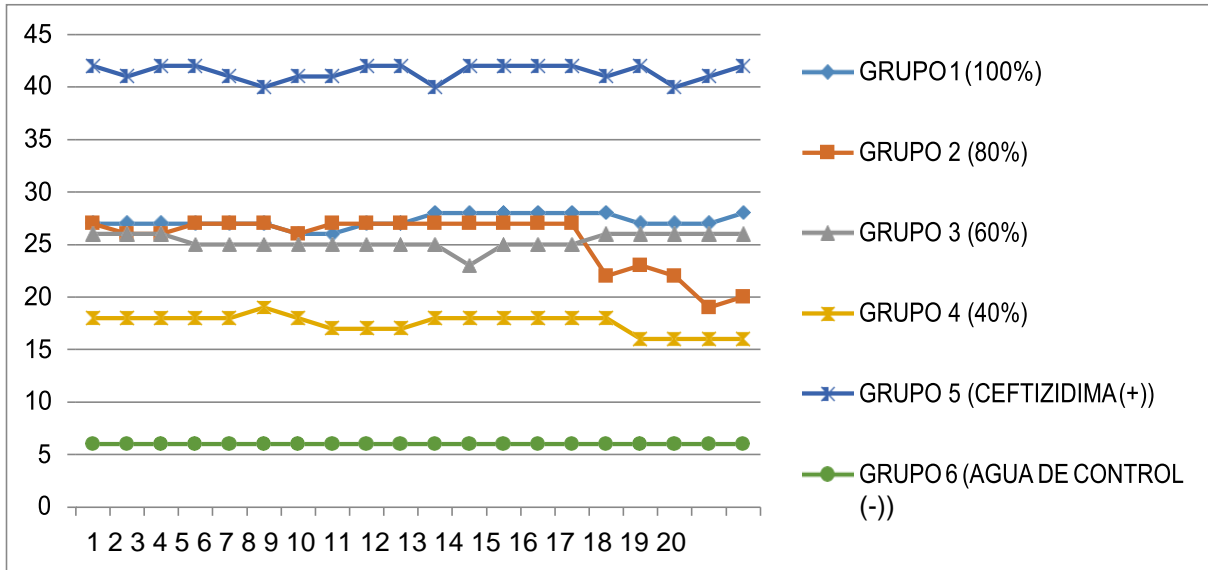
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Fuente: Elaboración propia, Software MINITAB 19

Observaciones:

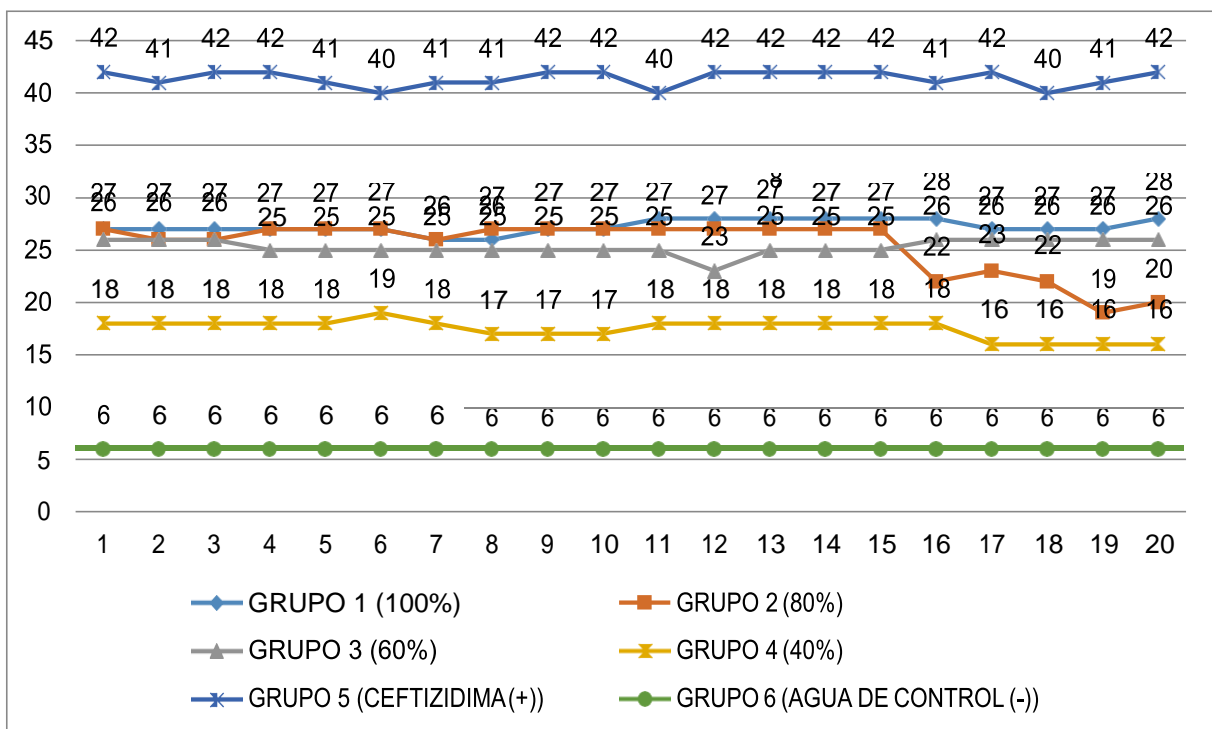
- Según esta prueba el grupo con las mediciones significativamente más altas es el grupo 5, seguido del grupo 1, mientras que el grupo 2 y 3 tienen medias significativamente iguales, las mediciones significativamente más bajas se registran en el grupo 4.

GRAFICO 2: Medidas tomadas por grupo



Fuente: Elaboración propia, Software MS Excel

GRAFICO 3: Medidas tomadas por grupo



Fuente: Elaboración propia, Software MS Excel

3.9 Contrastación de Hipótesis

3.9.1 Existen algunos metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) responsables de la acción antibacteriana.

H₀: No existen algunos metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) responsables de la acción antibacteriana.

H₁: Si existen algunos metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) responsables de la acción antibacteriana.

Para ello se realizó la prueba de la marcha fotoquímica con los reactivos: FeCl₃, Gelatina 1% y Shinoda, donde se observa 3 cruces demostrando la existencia de los metabolitos secundarios: compuestos fenólicos, taninos y flavonoides (flavonoles).

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis del investigador, diciendo que si existen metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) responsables de la acción antibacteriana.

3.9.2 Si Existe una *concentración específica del extracto hidroalcohólico de Caesalpinia Spinosa* (Tara) en la que presenta mayor efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

H₀: No existe una concentración específica del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) en la que presenta

mayor efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

H₁: Si Existe una concentración específica del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) en la que presenta mayor efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Para ello se realizó la prueba microbiológica sembrados de posillos con el método de Kirby Bauer y 24 horas después de realizada la siembra se midieron los halos de inhibición, el cual se obtuvo como resultado 27mm.

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis del investigador diciendo que si existe una concentración específica la cual es al 100% del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) en la que presenta mayor efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

3.9.3 El extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) presenta mayor efecto antibacteriano in vitro a la Ceftazidima en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

H₀: No presenta el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) mayor efecto antibacteriano in vitro a la Ceftazidima en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

H₁: Si presenta el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) mayor efecto antibacteriano in vitro a la Ceftazidima en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Para ello se realizó la prueba microbiológica sembrados de posillos con el método de Kirby Bauer y 24 horas después de realizada la siembra se midieron los halos de inhibición, el cual se obtuvo como resultado 28mm para extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) y 42 mm para la ceftazidima.

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis del investigador y se acepta la hipótesis nula, diciendo que no presenta el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) mayor efecto *antibacteriano in vitro* a la *Ceftazidima* en cepas de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 9027.

CAPITULO IV RESULTADOS

4.1 RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Tabla N°.12: Resultados de la marcha fotoquímica

Concentración (mg/mL) del extracto:				
Nº	Metabolito	Reactivo de Reacción	Reacción Positiva	Resultado
1.	CARBOHIDRATOS	Fehling A y Fehling B	Precipitado anaranjado ladrillo	+
2.	AZUCARES	Mollish	Anillo azulado	+
3.	ALCALOIDES	Mayer	Precipitado blanco	++
		Dragendorff	Precipitado rojo o naranja	++
		Sonneschein	Precipitado naranja	-
		Bertrand	Coloración rosa	-
4.	COMPUESTOS FENÓLICOS	FeCl ₃	Coloración verde	+++
5.	TANINOS	Gelatina 1%	Precipitado denso blanco	+++
6.	FLAVONOIDES	Shinoda	Flavanoles: Rojo a magenta	+++
7.	NAFTAQUINONAS, ANTRAQUINONAS Y ANTRANONAS	Bortranger (NaOH 5%)	Coloración roja	+
8.	CARDENOLIDOS	Baljet	-	-
9.	ESTEROIDES	Lieberman Bouchardat	-	-

Leyenda:

(-) : La coloración o precipitado no se evidencia.

(++) : La coloración o precipitado es moderada.

(+) : La coloración o precipitado es leve.

(+++): La coloración o precipitado es total

Figura N°10: Resultados De Coloración De La Marcha Fitoquímica

Tabla N° 13: Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara)

N°	Solventes	Identificación	Resultado
1.	Cloroformo	Soluble o insoluble	-
2.	Isopropanol	Soluble o insoluble	+
3.	Etanol 96°	Soluble o insoluble	+++
4.	Metanol	Soluble o insoluble	++
5.	Agua	Soluble o insoluble	+

Leyenda:	
(-) : Insoluble.	(++) : Moderadamente Soluble.
(+) : Poco Soluble.	(+++): Totalmente Soluble.

Tabla N° 14: Halos de Inhibición de Extracto *al 100 % en Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

Microorganismo	Grupo control negativo	Grupo experimental Extracto <i>al 100 %</i>	Grupo control positivo Ceftazidima
Lectura # 1	6 mm	27	42
Lectura # 2	6 mm	27	41
Lectura# 3	6 mm	27	42

Lectura#4	6 mm	27	42
Lectura# 5	6 mm	27	41
Lectura# 6	6 mm	27	40
Lectura# 7	6 mm	26	41
Lectura# 8	6 mm	26	41
Lectura# 9	6 mm	27	42
Lectura# 10	6 mm	27	42
Lectura# 11	6 mm	28	40
Lectura# 12	6 mm	28	42
Lectura# 13	6 mm	28	42
Lectura# 14	6 mm	28	42
Lectura# 15	6 mm	28	42
Lectura# 16	6 mm	28	41
Lectura# 17	6 mm	27	42
Lectura# 18	6 mm	27	40
Lectura# 19	6 mm	27	41
Lectura# 20	6 mm	28	42

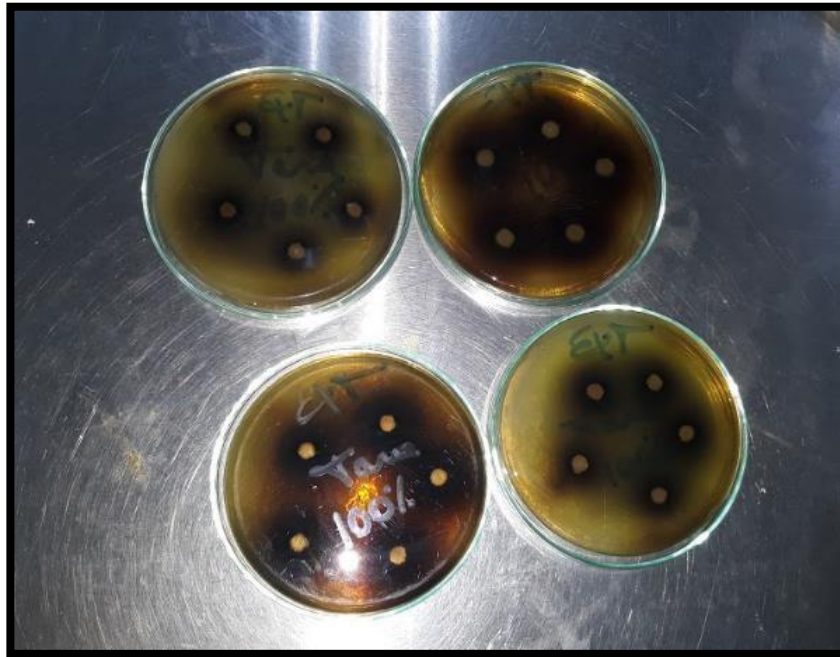


Figura N°11: Resultados del extracto al 100%

Tabla N°15: Halos de Inhibición de Extracto *al 80 %* en *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 9027

Microorganismo	Grupo control negativo	Grupo experimental Extracto <i>al 80 %</i>	Grupo control positivo Cefotaxidima
Lectura# 1	6 mm	27	42
Lectura# 2	6 mm	26	41
Lectura# 3	6 mm	26	42
Lectura# 4	6 mm	27	42
Lectura# 5	6 mm	27	41
Lectura# 6	6 mm	27	40
Lectura# 7	6 mm	26	41
Lectura# 8	6 mm	27	41

Lectura# 9	6 mm	27	42
Lectura# 10	6 mm	27	42
Lectura# 11	6 mm	27	40
Lectura# 12	6 mm	27	42
Lectura# 13	6 mm	27	42
Lectura# 14	6 mm	27	42
Lectura# 15	6 mm	27	42
Lectura# 16	6 mm	22	41
Lectura# 17	6 mm	23	42
Lectura# 18	6 mm	22	40
Lectura# 19	6 mm	19	41
Lectura# 20	6 mm	20	42

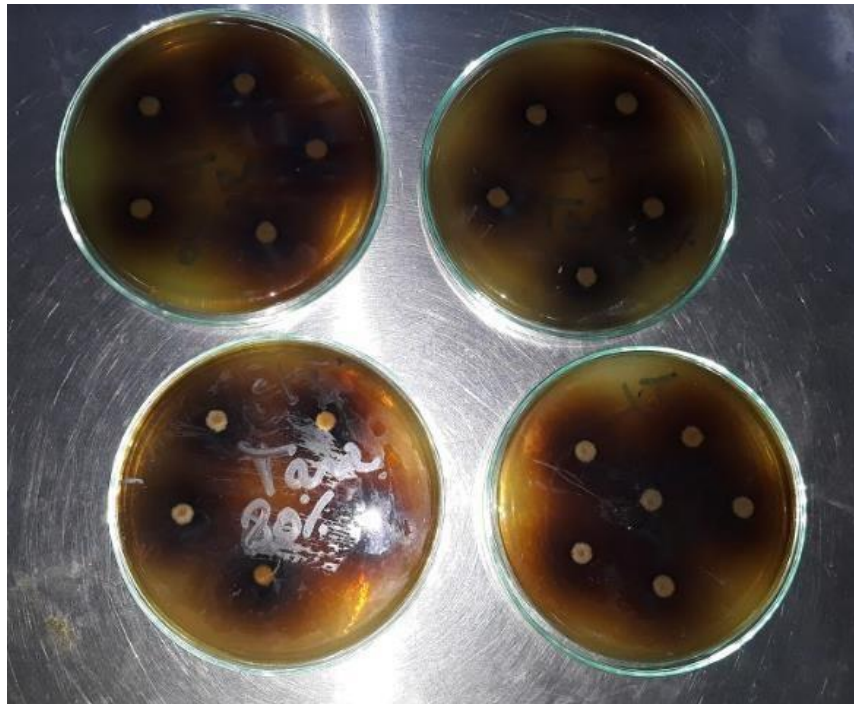


Figura N°12: Resultados del extracto Hidroalcohólico al 80%

Tabla N°16: Halos de Inhibición de Extracto *al 60 % en Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

Microorganismo	Grupo control negativo	Grupo experimental Extracto <i>al 60 %</i>	Grupo control positivo Cefotaxidima
Lectura# 1	6 mm	26	42
Lectura# 2	6 mm	26	41
Lectura# 3	6 mm	26	42
Lectura# 4	6 mm	25	42
Lectura# 5	6 mm	25	41
Lectura# 6	6 mm	25	40
Lectura# 7	6 mm	25	41
Lectura# 8	6 mm	25	41
Lectura# 9	6 mm	25	42
Lectura# 10	6 mm	25	42
Lectura# 11	6 mm	25	40
Lectura# 12	6 mm	23	42
Lectura# 13	6 mm	25	42
Lectura# 14	6 mm	25	42
Lectura# 15	6 mm	25	42

Lectura# 16	6 mm	26	41
Lectura# 17	6 mm	26	42
Lectura# 18	6 mm	26	40
Lectura# 19	6 mm	26	41
Lectura# 20	6 mm	26	42



Figura N°13: resultados del extracto al 60%

Tabla N°17: Halos de Inhibición de Extracto al 40 % en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

Microorganismo	Grupo control negativo	Grupo experimental Extracto al 40 %	Grupo control positivo Ceftazidima
Lectura# 1	6 mm	18	42
Lectura# 2	6 mm	18	41
Lectura# 3	6 mm	18	42

Lectura# 4	6 mm	18	42
Lectura# 5	6 mm	18	41
Lectura# 6	6 mm	19	40
Lectura# 7	6 mm	18	41
Lectura# 8	6 mm	17	41
Lectura# 9	6 mm	17	42
Lectura# 10	6 mm	17	42
Lectura# 11	6 mm	18	40
Lectura# 12	6 mm	18	42
Lectura# 13	6 mm	18	42
Lectura# 14	6 mm	18	42
Lectura# 15	6 mm	18	42
Lectura# 16	6 mm	18	41
Lectura# 17	6 mm	16	42
Lectura# 18	6 mm	16	40
Lectura# 19	6 mm	16	41
Lectura# 20	6 mm	16	42



Figura N°14: Resultados del extracto Hidroalcohólico al 40%

4.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La tara (*Caesalpinia Spinosa*) ha sido y sigue siendo utilizada por el alto contenido de taninos para tratamientos con fines antibacterianos, y en respaldo a este se evidencias en los estudios que hoy en día podemos usar como antecedentes, la finalidad de este estudio, es demostrar si el extracto antibacteriano, in vitro, hidroalcohólico de *Caesalpinia Spinosa*, tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *Pseudomonas Aeruginosa*.

Al realizar el ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia Spinosa*, determinamos que es muy soluble en etanol (solventes polares) y poco soluble en agua e insolubles en cloroformo. Lo que nos muestra que existe mayor contenido de compuestos polares en su composición.

En el screening fitoquímico, el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa*, nos determina la existencia de compuestos fenólicos, taninos y flavonoides, lo que les da la propiedad antibacteriana.

En el estudio microbiológico podemos observar que a medida que se aumenta la concentración del hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa*, el halo de inhibición aumenta, por tanto, es mayor la actividad antibacteriana; este resultado coincide con los estudios previos enlazados en la tesis como antecedentes, donde sostienen que el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia Spinosa* tiene actividad antibacteriana frente a diversas bacterias Gram Negativas.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- En el estudio realizado, in vitro, llegamos a la conclusión que el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara), sí tiene metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027; demostrado con la capacidad para inhibir el crecimiento de esta bacteria.

- También se demostró que la concentración del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100%, tiene mayor actividad antimicrobiana en comparación de las demás concentraciones; concluyendo así que esta concentración es la más *específica por presentar mayor efecto antibacteriano in vitro en cepas de Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

- Concluyendo finalmente que el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) presenta menor efecto antibacteriano in vitro en comparación a la Ceftazidima en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

5.2 RECOMENDACIONES

- Complementar estudios de investigación del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara), en diferentes regiones del Perú para determinar la actividad antibacteriana frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027; por ser de gran interés clínico a nivel nacional e internacional.

- Realizar nuevos trabajos de investigación en animales, sobre el aprovechamiento de las vainas *Caesalpinia Spinosa* (Tara), como uso externo en heridas, teniendo como base este estudio, ya que tiene una alta actividad antibacteriana de origen natural.

- En estudios in vitro, realizar medidas a los halos de inhibición en diferentes tiempos (24horas, 48 horas y 72 horas), para poder evidenciar cambios significativos en su actividad antibacteriana de acuerdo a la dosis en el campo farmacéutico.

BIBLIOGRAFIA

1. Joachim K, et al. Antibacterial activities of the methanol extracts of *Canarium schweinfurthii* and four other Cameroonian dietary plants against multi-drug resistant Gram-negative bacteria, *Saudi Journal of Biological Sciences*. 17 June 2015.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4992100/pdf/main.pdf>.
2. Romero I. *Boletín Producción y comercio de la Tara en el Perú*, Dirección General de Políticas Agrarias. Lima. Abril 2019.
3. Joachim K, et al. Antibacterial activities of the methanol extracts of *Canarium schweinfurthii* and four other Cameroonian dietary plants against multi-drug resistant Gram-negative bacteria, *Saudi Journal of Biological Sciences*. 17 June 2015
4. Maguiña C. Infecciones Nosocomiales. *Acta Med Perú*. 2016; 33(3):175-7.
5. <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v33n3/a01v33n3.pdf>
6. Munayco E. Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcoholico de *allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal [tesis] 2011 Perú.
7. http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2829/Munayco_pe.pdf?sequence=1&isAllowed=y
8. Rodriguez C, Zarate A, Sánchez L. Actividad Antimicrobiana De Cuatro Variedades De Plantas Frente A Patógenos De Importancia Clínica En Colombia. *Nova*. 2017;15(27):119-129.
9. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v15n27/1794-2470-nova-15-27-00119.pdf>
10. OMS. *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023*. Ginebra.2013. 76 p.
11. Perú biodiverso, Chávez M. *La cadena de valor de la tara en la región Cajamarca: Análisis y lineamientos estratégicos para su desarrollo*. 1ra ed; 2013.
12. Brako L, Zarucchi, J. *Catalogue of the Flowering Plants and Gymnosperms of Peru*. *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard*. 199345: i–xl, 1–1286

13. Ulibarri, E. A. Sinopsis de Caesalpinia y Hoffmannseggia (Leguminosae - Caesalpinioideae) de Sudamérica. Darwiniana 199634:329.
14. Barrios López. Características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de las infecciones por Staphylococcus aureus adquirido en la comunidad en pediatría [tesis] Madrid 2012
15. Cabello I. Desarrollo DE Monografías Para Cinco Cultivos Del Proyecto Perú Biodiverso. 30 de junio del 2010.
16. Bazán L, Floríndez L. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos acuoso e hidroalcohólico de la Caesalpinia spinosa (taya) sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) Universidad privada Antonio Guillermo Urrelo Cajamarca-Perú marzo – 2011
17. Cárdenas M, Quintana P. Efecto sinérgico antibacteriano in vitro del extracto acuoso de Caesalpinia spinosa (tara) y del extracto hidroalcohólico de los rizomas de polypodium picnocarpum c. (calaguala) en cepas Escherichia coli Perú2017
18. Cortez K, Mego L. 2017 Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las vainas de Caesalpinia spinosa “Taya”, frente a Streptococcus mutans [tesis] Perú 2017
19. Nuñez J, et al. Actividad antioxidante y antienzimática in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcohólico de caesalpinia spinosa “tara” [tesis] UNMS 2016
20. Montenegro A. Ramos D antibacteriana de Caesalpinia spinosa (tara) sobre Porphyromonas gingivalis UNMS [tesis] Perú 2016
21. Abanto M. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de caesalpinia spinosa (tara) sobre streptococcus mutans ATCC 25175 Universidad Nacional de Trujillo [tesis] Perú 2016
22. Zárate M. Efecto in vitro antibacteriano del extracto acuoso de Caesalpinia spinosa “Tara” sobre cepas de Streptococcus pyogenes y escherichia coli aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo [tesis] Perú 2014

23. Rojas N. Tratamiento de quemaduras con películas obtenidas por radiación gamma que contienen extracto hidroalcohólico de tara (*Caesalpinia spinosa*) en animales de experimentación Instituto de Patología. Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos [tesis] Perú. 2011
24. Durán L, Mateo David. Evaluación in vitro de la capacidad inhibitoria de taninos presentes en la tara (*Caesalpinia spinosa*) frente a *Fusarium* sp. Universidad politécnica salesiana [tesis] Ecuador (2018)
25. Guillen R, Haro A. “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” Universidad Central de Ecuador [tesis] 2015
26. Aguilar A. “Potencial de tara (*Caesalpinia spinosa*), galotaninos e hidrolizados como compuestos antibacterianos naturales” Los Galotaninos obtenidos de extractos de tara pod (EE)
27. Añanca E. “Efecto Antibacteriano in vitro del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia Spinosa* (tara) en cepas de *staphylococcus aureus* y *streptococcus pyogenes*” 2009
28. Pro Found. Estudio de Mercado TARA CAESALPINIA SPINOSA. In: SIPPO, 2008. 48
29. Cabello I. Tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. Proyecto Perú biodiverso. 2010:48 p
30. Pro Found. Estudio de Mercado TARA CAESALPINIA SPINOSA. In: SIPPO, 2008. 48
31. Reynel C, Marcelo J. Árboles De Los Ecosistemas Forestales Andinos. Manual De Identificación De Especies. Serie De Investigación Y Sistematización N°9 Programa Regional ECOBONA – INTERCOOPERACIÓN. 2009 – Lima.
32. De la Cruz P. Aprovechamiento integral y racional de la tara *Caesalpinia spinosa* - *Caesalpinia tinctoria*. Fac Ing Geo Min Met Geog. 2004; 7(14):10.

33. Fernández A. Estudio de las propiedades antioxidante de un extracto supercrítico de la vaina de la tara (*Caesalpinia spinosa*) para su uso potencial como aditivo alimentario [tesis] Chile: Universidad de Chile; 2008.
34. Carrillo F. E. Las leguminosas del valle del Rimac (Sub-Familias: Mimosoideae y Caesalpinoideae). Bol. Soc. Peruana Bot. 7(1/2): 40–68.(1974)
35. Rojas, J. Estudio Clínico Experimental del Tratamiento de la Gingivitis Crónica con *Caesalpinia spinosa* “tara”. Tesis Facultad de Odontología. USMP. Lima 1999.
36. Palleroni N. The *Pseudomonas* Story. Environ Microbiol. 2010; 12(6):1377–83
37. Filiatrault M, et al. Identification of *Pseudomonas aeruginosa* Genes Involved in Virulence and Anaerobic Growth. Infect Immun. 2006;74(7):4237–45
38. Rasamiravaka T, et al. The Formation of Biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*: A Review of the Natural and Synthetic Compounds Interfering with Control Mechanisms. Biomed Res Int. 2015;2015:1–17
39. Engelkirk P, Duben J. Microbiology for the Health Sciences. 10^a Edition. Lippincott Williams & Wilkins. 2015.
40. García Martos P.: Microbiología Clínica Aplicada, 3^a Edición. Ediciones Díaz de Santos S.A. Madrid, 1997
41. Bagué A, Alvarez N. TECNOLOGIA FARMACÉUTICA. Editorial Club Universitario. España, 2012.
42. López E. Estudio Fitoquímico y aproximación Genética en especies de la sección Plinthine del genero *Arenaria*. Universidad de Granda Departamento de Botánica [Tesis] 2007 España
43. Rodríguez, L. ALNICOLSA. [En línea] 2010 Available at: <http://taninos.tripod.com/index.htm>
44. Doona M, Walsh JB Use of chloranfenicol as topycal eye medication 1995
45. Gold Estandar Inc 2007 www. Clinical pharmacology. Com Mdconsult

46. Guerra V., et al "Actividad antimicrobiana y toxicidad de un extracto acuoso de *Boerhaavia erecta*". Revista Cubana de Plantas Medicinales 2004.
47. Alvarez C, Lock O. Taninos. Revista de Química. Vol. VI. N°1. Junio de 1992.
48. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M. Los Flavonoides: Propiedades y Acciones Antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. 2002, 17 (6) 271-278.
49. Lehninger L. "Bioquímica".1999
50. Bruneton J. "Farmacognosia, Fitoquímica plantas medicinales". España. 2001
51. Sausseureau E, Debarbieux L. Bacteriophages in the experimental treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections in mice. Adv Virus Res. 2012; 83:123-41.
52. Morita Y. et al. Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. Front Microbiol. 2014; 4:1-4
53. Pires D. et al. Phage Therapy: a Step Forward in the Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections. Goff SP, editor. J Virol. 2015;89(15):7449–56
54. Ruiz P, Cantón R. Epidemiology of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Implications for empiric and definitive therapy. Rev Esp Quimioter. 2017;30(Suppl. 1):8–12
55. Hirsch EB, Tam VH. Impact o multidrug - resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. Expert Rev Pharmacoecon Outomes Res. 2010; 10 (4):441–51.
56. Krylov VN. Bacteriophages of *Pseudomonas aeruginosa*. Adv Virus Res. 2014; 88:227-78
57. Apac CG. Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. Acta Med Per. 2012; 29(2):99-103

58. Morita Y, Tomida J, Kawamura Y. Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. *Front Microbiol.* 2014; 4:1-4
59. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2016. ECDPC. Disponible en: <https://ecdc.europa.eu/en/publicationsdata/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2016>.
60. Jones R. et al. Susceptibility rates in Latin American nations: report from a regional resistance surveillance program. *Braz J Infect Dis.* 2013;17(6):672–81
61. Casellas J. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Rev Soc Bol Ped.* 2012; 51(2):109-24.
62. Nordarse, Rafael y col. Determinación del poder bactericida de la crema de vancomicina al 0,5 % frente a *Staphylococcus aureus*. *Revista Cubana de Medicina Militar.* [Internet] 2009 [citado 27 enero 2017]; 38(3-4)73-78. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v38n3-4/mil083-409.pdf>
<http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Ceftazidima.pdf>

ANEXOS

Anexo N°1: Matriz de Consistencia de *Caesalpinia Spinosa* (Tara).

"ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DEL FRUTO DE CAESALPINIA SPINOSA (TARA) EN CEPAS DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA ATCC 9027"						
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		METODOLOGÍA	INTRUMENTOS
			VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES	TIPO	Técnica: Maceración Prueba de solubilidad Marcha fotoquímica METODO MICROBIOLÓGICO Instrumentos: Ficha de recolección de datos Ficha de observación ad-hoc Prueba de solubilidad Guía de procedimiento microbiológico UNMS
¿El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Caesalpinia Spinosa</i> (Tara) tendrá efecto antibacteriano in vitro en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027?	Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.	El extracto hidroalcohólico de <i>Caesalpinia Spinosa</i> (Tara) presenta efecto antibacteriano in vitro en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.	Frutos de la muestra de <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) según coordenadas - 4.636944°, - 79.723889° altitud 2715 m.s.n.m)	- Grado de concentración al 40 % - Grado de concentración al 60% - Grado de concentración al 80% - Grado de concentración al 100%	Experimental Analítico	
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPOTESIS ESPECÍFICOS	VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADORES	NIVEL	POBLACIÓN Fruto de <i>Caesalpinia Spinosa</i> (Tara) del Distrito de Ayabaca de la Provincia de Ayabaca del departamento de Piura. MUESTRA Cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027
1.- ¿Existen metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Caesalpinia Spinosa</i> (Tara)?	1.- Determinar los metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)	1.- Existen algunos metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) responsables de la acción antibacteriana.	Cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i> - ATCC 9027.	EXPERIMENTAL	
2.- ¿Existe una concentración del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) con mayor efecto antibacteriano in vitro en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027?	2.- Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) que presente mayor efecto antibacteriano in vitro en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	2.- Si Existe una concentración específica del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) en la que presenta mayor efecto antibacteriano in vitro en cepas de <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> ATCC 9027.			CUANTITATIVO	
3.- ¿El extracto hidroalcohólico del fruto de extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) presenta efecto bacteriano in vitro comparado con Ceftazidima en cepas de <i>Pseudomana aeruginosa</i> ATCC 9027?	3.- Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) con Ceftazidima en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	3.- El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) presenta mayor efecto antibacteriano in vitro a la Ceftazidima en cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027			EXPLORATIVO	
					DISEÑO	
					Experimental	

Activar Wi
Ir a Configuración

Anexo N°2: Constancia emitida por el Herbario Hamilton Beltrán

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com


CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "TARA" proporcionado por la Srta. KATHERINE SÁNCHEZ, ha sido estudiada científicamente y determinada como Caesalpinia spinosa y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rosidae
Orden: Fabales
Familia: Fabaceae
Género: Caesalpinia
Especie: Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze

Se expide la presente certificación a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Lima, 30 noviembre 2018



Blgo. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilmer Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
CBP. 2719

Anexo N°3: Certificado de análisis de la cepa Pseudomona Aeruginosa – ATCC9027



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Pseudomonas aeruginosa Catalog Number: 0484 Lot Number: 484-972** Reference Number: ATCC® 9027™ Purity: Pure Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2020/5/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Release Date: 2018/6/5
--	---

Performance	
Macroscopic Features: Large, flat, circular to irregular shaped, gray with silver sheen. A second colony type may also be present as small, round, shiny colonies. Microscopic Features: Straight or slightly curved gram negative rod.	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): positive (1) Motility B Medium: positive Pseudomonas P Agar: positive (blue-green color diffusing into the agar) Growth at 42 C: positive <div style="text-align: right;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>

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

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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



Anexo 4: Certificado de calidad de los medios de cultivo Agar

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

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

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Sample Name: Pseudomonas aeruginosa
 Sample Description: 0484
 Sample ID: 484-972
 Sample Creation Date/Time: 2018-05-25T09:04:48.053 MB
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
B3 (+++)(A)	484-972	Pseudomonas aeruginosa	2.32

Comments:

N/A

Anexo N°5: Validación del Instrumento



Certificate of Analysis

1.05437.0500 MUELLER-HINTON agar for testing the sensitivity of clinically important pathogens
 Batch VM844637

	Spec. Values	Batch Values
Appearance (clearness)	clear to opalescent	clear
Appearance (color)	yellowish-brown	yellowish-brown
pH-value (25 °C)	7.2 - 7.8	7.4
Solidification behaviour (2 hrs., 40 °C)	liquid	liquid

	Spec. Values	Batch Values
Inhibition zone diameter/Ampicillin 10 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	16 - 22 mm	16 mm
Inhibition zone diameter/Tetracyclin 30 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	18 - 25 mm	20 mm
Inhibition zone diameter/Gentamicin 10 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	19 - 26 mm	23 mm
Inhibition zone diameter/Polymyxin B 300 U/IE (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	12 - 17 mm	13 mm
Inhibition zone diameter/SXT 1.25 µg + 23.75 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	24 - 32 mm	24 mm
Inhibition zone diameter/Ampicillin 10 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	27 - 35 mm	35 mm
Inhibition zone diameter/Tetracyclin 30 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	19 - 28 mm	25 mm
Inhibition zone diameter/Gentamicin 10 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	19 - 27 mm	22 mm
Inhibition zone diameter/Polymyxin B 300 U/IE (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	7 - 13 mm	8 mm
Inhibition zone diameter/SXT 1.25 µg + 23.75 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	24 - 32 mm	29 mm
Inhibition zone diameter/Gentamicin 10 µg (Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (WDCM 00025))	16 - 23 mm	23 mm
Inhibition zone diameter/SXT 1.25 µg + 23.75 µg (Enterococcus faecalis ATCC 33186)	≥ 20 mm	21 mm

Incubation: 24 hrs.; 35 °C; aerobic.



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA
VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

1. DATOS GENERALES

- 1.1.- Apellido y nombres del experto:.....
 1.2.- Cargo e institución donde labora:.....
 1.3.- Título profesional: registro colegio profesional... 03742
 1.4.- Grado académico: DOCTOR EN mención... CIENCIAS FARMACEUTICAS
 1.5.- Nombre de instrumento:..... FICHA DE RECOLECCION DE DATOS.....
 1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación.
 Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.-Muy poco	2.-Poco	3.-Regular	4.-Aceptable	5.-Muy aceptable
-------------	---------	------------	--------------	------------------

INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACIÓN				
		1	2	3	4	5
1.- Claridad	El instrumento está formulado con un lenguaje apropiado.					✓
2.- Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					✓
3.- Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y tecnológicos.					✓
4.- Organización	El instrumento tiene una organización lógica.					✓
5.- Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento.					✓
6.- Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las variables en mención.					✓
7.- Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la Farmacognosia y Microbiología					✓
8.- Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y las variables.					✓
9.- Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación					✓
10.- Pertinencia	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.					✓
	Total parcial					
	Total					50

II. OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aceptado

III. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 50

Puntuación

11-20	No válido, reformular
21-30	No válido, modificar
31-40	Válido, mejorar
41-50	Válido, aplicar

Firma del Experto

DRA Q.F TERESA MORALES Q.



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA
VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

1. DATOS GENERALES

- 1.1.- Apellido y nombres del experto: JACINTO HERDIAS Pedro
 1.2.- Cargo e institución donde labora: Docente Ho-po. Pared
 1.3.- Título profesional: Químico Farmacéutico registro colegio profesional: 17191
 1.4.- Grado académico: MAESTR mención: Toxicología
 1.5.- Nombre de instrumento: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.-Muy poco	2.-Poco	3.-Regular	4.-Aceptable	5.-Muy aceptable
-------------	---------	------------	--------------	------------------

INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACIÓN				
		1	2	3	4	5
1.- Claridad	El instrumento está formulado con un lenguaje apropiado.					/
2.- Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					/
3.- Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y tecnológicos.					/
4.-Organización	El instrumento tiene una organización lógica.					/
5.- Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento.					/
6.- Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las variables en mención.					/
7.- Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la Farmacognosia y Microbiología					/
8.- Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y las variables.					/
9.- Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación					/
10.- Pertinencia	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.					/
	Total parcial					50
	Total					50

II. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

III. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 50


Firma del Experto

Puntuación

11-20	No válido, reformular
21-30	No válido, modificar
31-40	Válido, mejorar
41-50	Válido, aplicar



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA
VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

1. DATOS GENERALES

- 1.1.- Apellido y nombres del experto: Hector Alexander Vilchez Paada
 1.2.- Cargo e institución donde labora: Secretario Académico
 1.3.- Título profesional: Químico Farmacéutico registro colegio profesional 08970
 1.4.- Grado académico: Doctor mención Investigación
 1.5.- Nombre de instrumento: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.-Muy poco	2.-Poco	3.-Regular	4.-Aceptable	5.-Muy aceptable
-------------	---------	------------	--------------	------------------

INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACIÓN				
		1	2	3	4	5
1.- Claridad	El instrumento está formulado con un lenguaje apropiado.					✓
2.- Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					✓
3.- Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y tecnológicos.					✓
4.-Organización	El instrumento tiene una organización lógica.					✓
5.- Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento.					✓
6.- Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las variables en mención.					✓
7.- Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la Farmacognosia y Microbiología					✓
8.- Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y las variables.					✓
9.- Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación					✓
10.- Pertinencia	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.					✓
	Total parcial					50
	Total					50

II. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

III. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 50

Puntuación

11-20	No válido, reformular
21-30	No válido, modificar
31-40	Válido, mejorar
41-50	Válido, aplicar

Firma del Experto

08970

Anexo N°6: Materia Prima

Figura N° 15 Árbol, hojas y frutos de *Caesalpinia Spinosa*



Figura N° 16: Recolección y limpieza

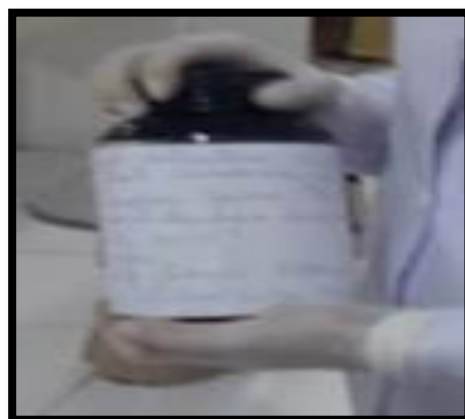


Vainas de Tara



Limpieza de Tara

Figura N° 17: Secado y maceración de Caesalpinia Spinosa



Macerado de Tara

Figura N° 18: Tamizaje fitoquímico del extracto de Caesalpinia Spinosa



Reactivos para Screening fitoquímico

Figura N°19: Metabolitos Secundarios del extracto de Caesalpinia Spinosa

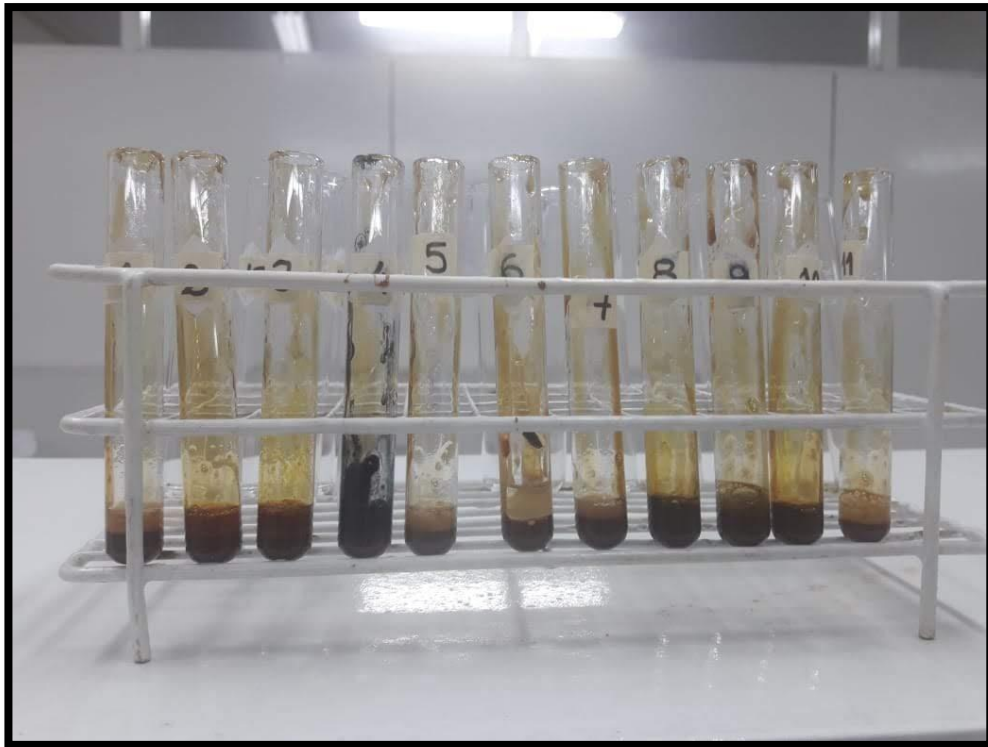


Figura N°20: Prueba de Solubilidad del Caesalpinia Spinosa



Reactivos para prueba de solubilidad



Resultados de la prueba de solubilidad

Figura N° 21: Obteniendo el extracto de Caesalpinia Spinosa (Tara)



Separación de semillas



Colado



Filtrado del macerado de Tara



Colocando el macerado en el
matraz de decantación

Figura N°22: Evaluación del efecto antibacteriano del extracto de Caesalpinia Spinosa



Colocando el matraz de destilación



Extracto de Tara



Autoclave



Preparando el Agar



Pesando la muestra



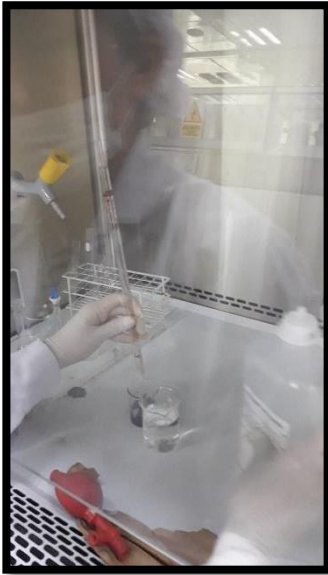
Esterilizando los materiales



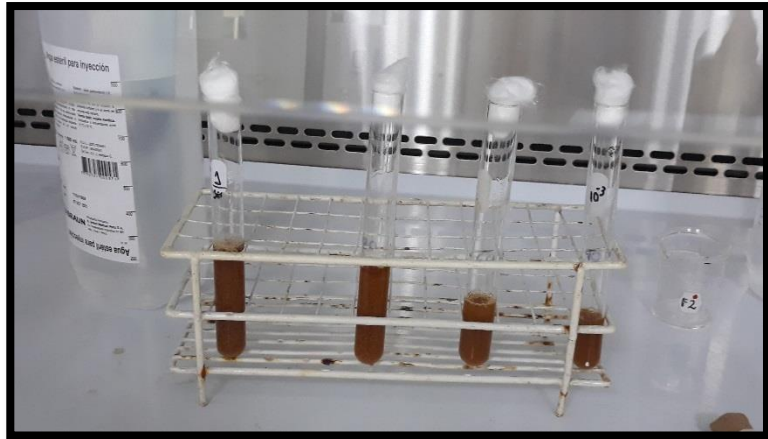
Llenado de las placas con agar



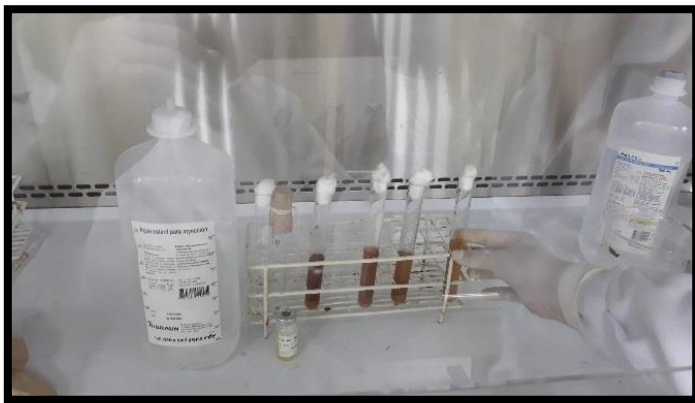
Preparando los materiales y reactivos en la cámara de flujo laminar



Preparando las disoluciones de la muestra



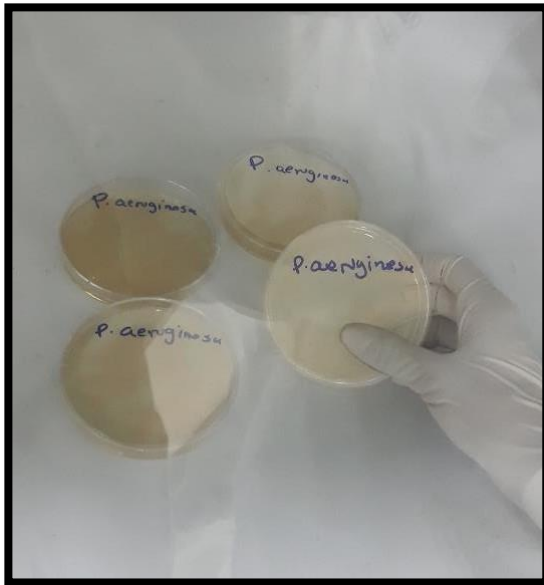
Muestra a 100%, 80%, 60% y 40 %



Muestras (100,80,60 y40%), Agua (Control Negativo) y Ceftazidima (Antibiótico – Control positivo)



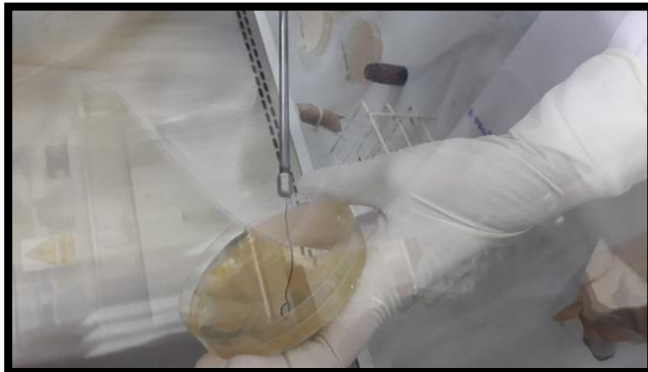
Preparando la Escala de MacFarland



Extrayendo la bacteria para activarla



Comparando con la escala de McFarland



Cepa Inactiva de Pseudomona Aeruginosa



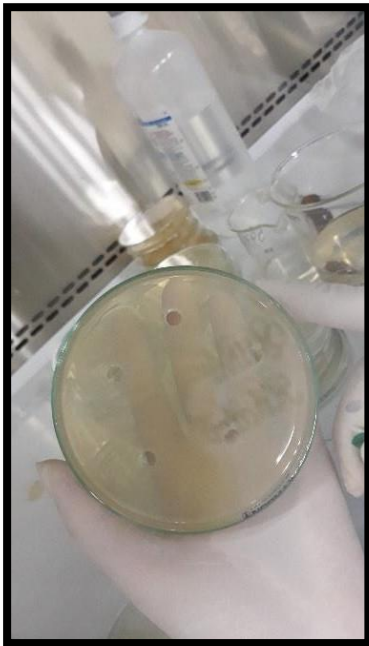
Preparando el medio para la activación la bacteria Pseudomona Aeruginosa



Haciendo la siembra de la bacteria



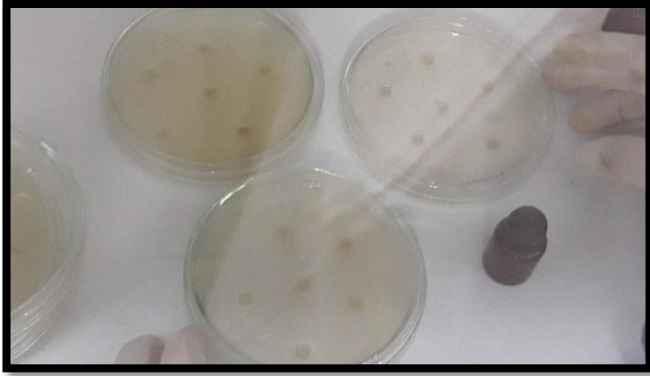
Haciendo los pocillos en la placa



Placa lista para la siembra de la muestra



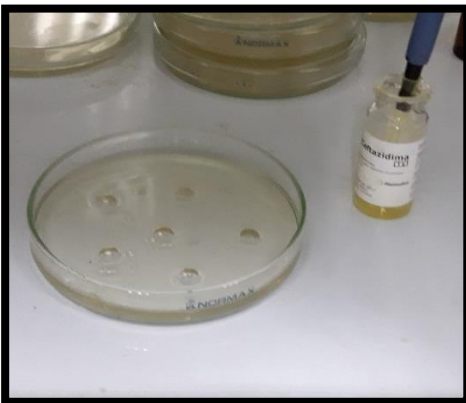
Haciendo la siembra de la muestra



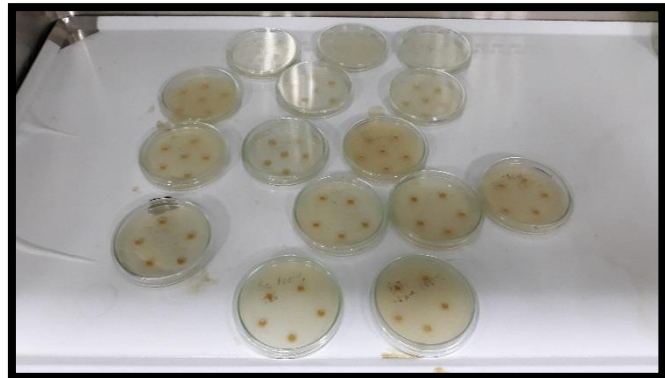
Sembrando la muestra



Sembrando el control negativo



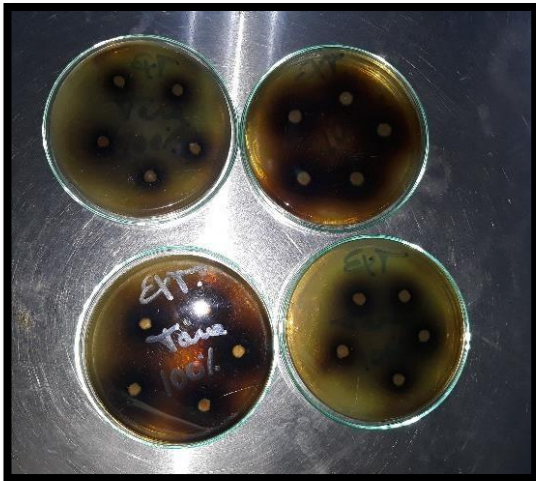
Sembrando el antibiótico o control positivo



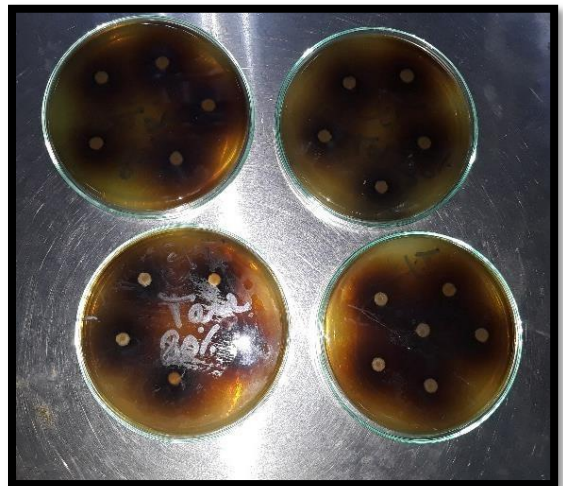
Placas sembradas



Se llevaron las placas a la estufa a una temperatura de 37°



Placas a 100%



Placas a 80%



Placas a 60%



Placas a 40%



Midiendo los halos de inhibición